

En premier lieu et avant tout nous tenons à remercier DIEU le tous puissant qui nous a donné le courage, la patience et la force de terminer ce travail.

Nous remercions d'une façon toute particulière Mme Aoues .K MCA à la faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'Université de blida 1 d'avoir bien voulu diriger ce travail et pour tous ses conseils fructueux et ses encouragements et sa disponibilité,.

Nous remercions Mme Rebzani .f MCB , à la faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'Université de blida 1 pour l'honneur qu'elle nous a fait pour assurer la présidence du jury.

Nous exprimons notre reconnaissance à Mr Louni . S MAA à la faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'Université de blida 1 d'avoir bien voulu accepté de juger ce travail,

Nous tenons à dire un merci bien spécial à Mr Ramdane .S MCA, de nous avoir donné la chance de réaliser notre projet de poursuivre des études en master. Sans ses encouragements, le projet n'aurait jamais pu s'acheminer.

-A toute l'équipe du laboratoire d'hygiène de la wilaya de blida, ainsi que son chef de service, Mr Teffahi de nous avoir soutenu et encouragé.

-Le travail n'aurait jamais pu être complété sans l'utilisation du GC/MS du Centre de recherche physicochimie (CRABC) de Bousmail, dont nous remercions toute l'équipe ;

-Nous tenons également à remercier le professeur Beutoumi y, au département de génie des procédés à l'université de Blida 1 pour son aide précieuse.

Nous adressons nos sincères remerciements à toute l'équipe des laboratoires pédagogique de chimie de faculté des sciences et de microbiologie de faculté SNV de l'université de blida 1

Au terme de ce travail, il nous est agréable de remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

RESUME

L'objectif assigné à notre travail consiste à caractériser la fraction aromatique de la lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.), et la possibilité de son application comme un bioconservateur dans une matrice alimentaire qui est la sardine (*Sardina pilchardus*).

Nous avons extrait l'HE de *Lavandula stoechas* à partir des feuilles et des fleurs par hydrodistillation (Type Clevenger). Sa composition chimique a été déterminée par CG-SM, et son activité antimicrobienne a été évaluée par diffusion en milieu gélosé sur sept germes microbiens et l'activité antioxydante par le test DPPH. Ensuite, nous avons étudié l'activité antibactérienne d'HE de feuille sur la sardine en suivant la cinétique de pH et la croissance bactérienne pendant sept jours à 4 °C.

Notre étude sur les huiles essentielles (HE) de *Lavandula stoechas* extraites des feuilles et des fleurs a révélé les points suivants : Un rendement estimé de 0,67% pour les fleurs et 1,24% pour les feuilles. Un pH relativement plus acide pour l'HE des feuilles (5) par rapport aux fleurs (6). La présence de 58 composés chimiques dans les feuilles et 49 dans les fleurs : La fenchone est le composé majoritaire avec des taux de 33,24% (feuilles) et 39,33% (fleurs), suivie du camphre et du 1,8-cinéol. Ainsi qu'une activité antioxydante moyenne avec des EC50 de 2,7 mg/mL (Fleurs) et 1,2 mg/mL (Feuille). L'HE des fleurs a présenté une activité antibactérienne plus prononcée contre *Staphylococcus aureus* (DZI=35 mm) et *Candida albicans* (DZI=22 mm), tandis que l'HE des feuilles s'est montrée plus efficace contre *Bacillus subtilis* (DZI=17 mm) et *Listeria monocytogenes* (DZI=74 mm). En revanche les bactéries à Gram négatives à savoir *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella abony* ont manifesté une résistance à l'égard de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* (feuille et fleurs). Les résultats de l'essai conservateur ont montré que l'application de 50 µl d'huile essentielle de feuille de *Lavandula stoechas* a considérablement réduit la croissance de *S. aureus*. Ces résultats suggèrent des perspectives prometteuses pour l'utilisation de l'huile essentielle de lavande comme agent de conservation alimentaire.

Mots-clés : *Lavandula stoechas* L.; Huile essentielle, feuille, fleur,,rendement, CG-SM, activité antibactérienne, activité antioxydante, pH, *Sardina pilchardus*.

ABSTRACT

The objective of our work was to characterize the aromatic fraction of *Lavandula stoechas* L. (butterfly lavender) and explore its potential application as a natural food preservative in the context of sardine (*Sardina pilchardus*) matrix. We extracted the essential oil (EO) from *Lavandula stoechas* leaves and flowers using hydrodistillation (Clevenger-type apparatus). The chemical composition was determined by GC-MS, and the antimicrobial activity was evaluated using agar diffusion method against seven microbial strains. The antioxidant activity was assessed using the DPPH assay. Furthermore, we investigated the antibacterial activity of the leaf EO on sardine, monitoring pH kinetics and bacterial growth over a period of seven days at 4 °C.

Our study on the essential oils extracted from *Lavandula stoechas* leaves and flowers revealed the following: estimated yields of 0.67% for flowers and 1.24% for leaves; a relatively more acidic pH of 5 for leaf EO compared to 6 for flower EO; the presence of 58 chemical compounds in leaves and 49 in flowers, with fenchone as the major compound at rates of 33.24% (leaves) and 39.33% (flowers), followed by camphor and 1,8-cineole. The EO exhibited average antioxidant activity with EC50 values of 2.7 mg/mL (flowers) and 1.2 mg/mL (leaves). The flower EO showed stronger antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (IZD=35 mm) and *Candida albicans* (IZD=22 mm), while the leaf EO demonstrated higher efficacy against *Bacillus subtilis* (IZD=17 mm) and *Listeria monocytogenes* (IZD=74 mm). However, Gram-negative bacteria including *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella abony* showed resistance to both leaf and flower EO. The preservative test results indicated that the application of 50 µl of leaf EO significantly reduced the growth of *S. aureus*, suggesting promising prospects for the use of lavender essential oil as a natural food preservative.

Keywords: *Lavandula stoechas* L.; Essential oil; Leaf; Flower; Yield; GC-MS; Antibacterial activity; Antioxidant activity; pH; *Sardina pilchardus*.

ملخص

كان الهدف من عملنا هو تمييز الجزء العطري من *Lavandula stoechas* L. فراشة الخزامى (واستكشاف تطبيقاتها المحتملة كمادة حافظة طبيعية للأغذية في سياق السردين) سردينا (*pichardus*) (مصفوفة .استخرجنا الزيت العطري (EO) من *Lavandula* الأوراق والزهور باستخدام التقطير المائي) جهاز من نوع (Clevenger) تم تحديد التركيب الكيميائي بواسطة GC-MS ، وتم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة انتشار الأجار ضد سبع سلالات ميكروبية .تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام مقايصة DPPH. علاوة على ذلك ، قمنا بفحص النشاط المضاد للبكتيريا لأوراق EO على السردين ، ومراقبة حركية الأس الهيدروجيني ونمو البكتيريا على مدى سبعة أيام عند 4 درجات مئوية.

دراستنا عن الزيوت الأساسية المستخرجة من *Lavandula* أوضحت أوراق وأزهار نباتات الزهور ما يلي :محصول تقديري بنسبة 0.67% للزهور و1.24% للأوراق .درجة حموضة أكثر حمضية نسبيًا قدرها 5 للأوراق EO مقارنة بـ 6 لزهرة EO ؛ وجود 58 مركب كيميائي في الأوراق و 49 في الأزهار ، مع فنشون كمركب رئيسي بنسب 33.24% (أوراق) و 39.33% (أزهار) ، يليه الكافور و 1 ، cineole - 8 أظهر EO نشاطًا مضادًا للأكسدة متوسطًا بقيم EC50 تبلغ 2.7 مجم / مل) زهور (و 1.2 مجم / مل) الأوراق .(أظهرت زهرة EO نشاطًا مضادًا للبكتيريا أقوى ضد المكورات العنقودية الذهبية (IZD = 35) مم (والمبيضات البيضاء (IZD = 22) مم) ، بينما أظهرت ورقة EO فعالية أعلى ضد *Bacillus subtilis* (IZD = 17) مم (والليستيريا المستوحدة (IZD = 74) مم .(ومع ذلك ، أظهرت البكتيريا سالبة الجرام بما في ذلك *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Salmonella abony* مقاومة لكل من الأوراق والزهرة EO. أشارت نتائج اختبار المواد الحافظة إلى أن استخدام 50 ميكرو لتر من EO الورقي قل بشكل كبير من نمو *S. aureus* ، مما يشير إلى آفاق واعدة لاستخدام زيت اللافندر الأساسي كمادة حافظة طبيعية للغذاء.

الكلمات الرئيسية: *Lavandula stoechas* L. زيت اساسي؛ ورقة؛ ورد؛ أنمَر؛ GC-MS ؛ نشاط مضاد للجراثيم؛ النشاط المضاد للأكسدة؛ الرقم الهيدروجيني .سردينا بيلشاردوس.

Liste des figures

Figure 01	Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes.	02
Figure 02	Le mécanisme antibactérien des HEs sur les bactéries	07
Figure03	<i>lavandula stoechas</i> du Maroc	10
Figure 04	Répartition géographique de <i>lavandula stoechas</i>	10
Figure 05:	Feuilles de <i>lavandula stoechas .L</i>	20
Figure06 :	Fleurs de <i>lavandula stoechas .L</i>	20
Figure 07:	Appareillage utilisé pour l'extraction, type Clevenger	21
Figure 08 :	La gamme de couleur selon le pH.	22
Figure 09:	Spectrophotomètre en mode ATR	23
Figure 10 :	Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse CG-SM	23
Figure 11:	Evaluation de l'activité microbienne par diffusion sur gélose	24
Figure 12:	préparation des dilutions d'huile essentielle pour l'activité antioxydante par DPPH	26
Figure 13:	<i>sardina pilchardus</i>	27
Figure 14 :	Sardine fraiche après nettoyage	27

Figure 15:	suspension primaire 10^{-1}	28
Figure 16 :	préparation des suspensions 10^{-2} et 10^{-3}	28
Figure 17 :	dénombrement de <i>staphylococcus aureus</i>	29
Figure 18:	pH mètre	29
Figure 19 :	HE de <i>lavandula.stoechas</i>	31
Figure 20 :	pH des HEs des fleurs et des feuilles de <i>lavandula stoechas</i> .L	32
Figure21:	Spectres IRTF des HEs des feuilles (en rouge) et des fleurs (en bleu) de la lavande.	33
Figure22 :	Spectres IRTF caractéristiques des HEs des feuilles (en rouge) et des fleurs (en bleu) de la lavande dans la région empreinte 1800-700 cm^{-1} .	34
Figure 23 :	Résultat de la recherche spectrale appliquée sur une région réduite du spectre d'HE extraite des feuilles de <i>lavandula stoechas</i> (couleur rouge).	35
Figure 24 :	Profil chromatographique d'huile essentielle des feuilles de <i>Lavandula stoechas</i>	36
Figure 25 :	Profil chromatographique d'huile essentielle des fleurs de <i>Lavandula stoechas</i>	36
Figure 26 :	Zone d'inhibition d'HE des feuilles sur <i>listeria monocytogene</i>	40

Figure 27 :	Zone d'inhibition d'HE des fleurs sur <i>listeria monocytogene</i>	40
Figure 28 :	Zone d'inhibition d'HE des fleurs sur <i>staphylococcus aureus</i>	41
Figure29 :	Zone d'inhibition d'HE des feuilles sur <i>staphylococcus aureus</i>	41
Figure 30 :	Zone d'inhibition d'HE des fleurs sur <i>candida albicans</i>	41
Figure 31 :	Zone d'inhibition d'HE des feuilles sur <i>candida albicans</i>	41
Figure 32:	Activité antioxydante des hes des fleurs et des feuilles de <i>lavandula stoechas</i> en fonction de concentration de ces huiles	43
Figure33 :	changement de coloration de l'activité antioxydante en fonction de la concentration d'HE des fleurs de <i>lavandula stoechas</i>	44
Figure 34:	culture à staphylococcus aureus à J3 de stockage (Sardine non traitée)	46
Figure 35:	culture à staphylococcus aureus à J3 (A) et J7 (B) de stockage Témoin (Sardine inoculée de <i>S.aureus</i>)	47
Figure 36:	culture à staphylococcus aureus à J3 de stockage (Sardine inoculée de <i>S.aureus</i> et 20 µl (A) et 50 µl (B) d'HE de feuille)	47
Figure 37:	résultat de pH de la sardine traite par <i>s. aureus</i> et l' HE de feuille de <i>l stoechas</i> en fonction de durée de stockage à 4 °C	49

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Composition nutritionnelle moyenne de 100g de sardine	15
Tableau 2 :	Les propriétés organoleptiques des HEs des feuilles et fleurs de la lavande	31
Tableau 3 :	Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de <i>Lavandula stoechas</i> .Lpar CG-SM.	37
Tableau 4 :	Composition chimique de l'huile essentielle des fleurs de <i>Lavandula stoechas</i> par CG-SM.	37
Tableau 5 :	les zones d'inhibitions antimicrobien des feuilles et fleurs de <i>lavandula stoechas</i>	40
Tableau 6 :	Résultats de la recherche et /ou dénombrement <i>S.aureus</i> à partir de la sardine	46
Tableau 7 :	les composés d'HE de feuille de <i>l.stoechas</i> en fonction de tr et de %	Annexe 1
Tableau 8 :	les composés d'HE de fleur de <i>l.stoechas</i> en fonction de tr et de %	Annexe 2
Tableau 9:	pH de la sardine au cours du stockage	Annexe 2

Partie I Synthèse bibliographique

Introduction

Chapitre I : huile essentielle

I.1.-Définition d'huile essentielle	01
I.2.- localisation d'HE dans la plante	01
I.3.- Propriétés physiques des huiles essentielles	02
I.4.- Composition chimique des huiles essentielles	02
I.4.1.- Les terpènes	03
I.4.2. Les hydrocarbures	03
I.5.-Méthodes d'extraction des huiles essentielles	04
I.6.-Méthodes d'analyse chimique des HEs	05
I.7.-Activités biologiques des huiles essentielles	05
I.7.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles	05
I.7.1.1.- Mode d'action antibactérien des huiles essentielles	06
I.7.1.2.-Mode d'action antifongique des huiles essentielles	07
I.7.2-Activité antioxydante des huiles essentielles	09
I-8.-Huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	09
I.8.1.- Taxonomie	09
I.8.2.- Classification botanique	11
I.8.3.- Huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	11
I.8.4.- Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	12
I.8.5.- Activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	12

CHAPITRE II LA SARDINE

(*Sardina pilchardus*).

II.1.- <i>Sardina pilchardus</i>	14
II.2.-Valeur nutritionnelle de <i>Sardina pilchardus</i>	15

II.3.-Altérations de la sardine	16
II.3.1.Altérations sensoriels	16
II.3.2.Alterations microbiologiques	16
II.3.3.Alterations microbiologiques	17
Partie II Matériels et Methodes	
I. Extraction des huiles essentielles	20
I.1. Le matériel végétale	20
I.2.- Mode d'extraction	21
II.Caractérisation physico-chimique des huiles essentielles	21
II.1.- Caractérisation organoleptiques des huiles essentielles	21
II.2.- pH d'huile essentielle	22
II.3- Analyse par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)	22
II.4. Analyses chimique par chromatographie en phase gazeuse couplé à spectromètre demasse GC/MS	23
III.- Détermination des activités biologiques des huiles essentielles	24
III.1.- Activité antimicrobienne des huiles essentielles	24
III.1.1.- Micro-organismes et milieux de culture	24
III.1.2.- Méthode de diffusion en gélose (méthode des disques.)	24
III.2. -Activité antioxydante des huiles essentielles	25
III.2.1.- Activité de piégeage du radicalDPPH	25
IV.- Application d'effet bio-conservateur des huiles essentielles sur la sardine	26
IV.1.-Echantillonnage	27
IV.2- Inoculation des souches et des huiles essentielles dans la sardine	28
IV.3- Dénombrement de <i>S. aureus</i>	28
IV.4- pH	29
Partie III : Résultats et Discussions	
III.1.-Rendement d'extraction	31
III.2.-Caractérisation physico-chimique des huiles essentielles	31
III.2.1.- Caractérisation organoleptiques des huiles essentielles	31

III.2.2- pH d'huile essentielle	32
III.2.3- Résultat d'analyse par spectrométrie IRTF	32
III.2.4. Résultat d'analyses chimique par GC/MSIII.	35
3.- Activités Biologique	39
III.3.1- Activité antimicrobienne	39
III.3.2.-Activité antioxydant d'huile essentielle	43
III.4.- Résultat de l'application d'effet bio-conservateur des huiles essentielles sur la sardine	45
III.4.1.- Résultats de dénombrement de staphylococcus aureus	45
III.4.2.- Résultats de pH	49
Reference bibliographique	
Annexe 01	
Annexe 02	

Introduction

Introduction

La plupart des denrées alimentaires sont de natures périssables et requièrent une protection contre l'oxydation lipidique et la détérioration microbienne durant la préparation, le stockage et la distribution, afin de prolonger leur durée de vie. Cette détérioration surtout par les microorganismes pathogènes où l'altération est devenue une préoccupation prioritaire pour la santé publique (**Cherrat, 2013**).

La tendance actuelle des consommateurs à chercher une alimentation plus naturelle, a incité les scientifiques à trouver et à appliquer de nouveaux produits naturels ayant des activités antimicrobiennes et anti oxydantes dans le but de les utiliser comme alternatives aux conservateurs synthétiques dans le domaine des industries agroalimentaires (**Bouguerra, 2012**).

Depuis longtemps, l'homme a développé une relation étroite avec les plantes, les utilisant à la fois pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Les plantes aromatiques jouent un rôle important dans notre vie quotidienne et trouvent des applications dans divers domaines tels que l'agroalimentaire, la parfumerie, la cosmétique et la médecine. Cela est largement dû à leur contenu en substances biologiquement actives, principalement les huiles essentielles et les composés phénoliques, qui sont des produits du métabolisme secondaire des plantes.

(Dufaut et Véronique, 2001)

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles continuent d'être soutenues par la science en raison de leurs multiples vertus. Elles possèdent diverses propriétés pharmacologiques, notamment des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. (**Kezzouna, 2015 et Essawi 2000**).

Plusieurs travaux de recherche ont démontré les propriétés antifongiques et antibactériennes des huiles essentielles, il existe un grand intérêt pour trouver de nouvelles méthodes de conservation des aliments à l'aide de composés naturels. À cette fin, les huiles essentielles sont de bons candidats comme additifs antibactériens. Plusieurs études *in vitro* ont montré une grande efficacité des huiles essentielles contre les agents pathogènes d'origine alimentaire et les bactéries d'altération. Elles sont connues à la fois pour leurs propriétés aromatisantes et antimicrobiennes et leur faible toxicité comparée à celle des additifs alimentaires synthétiques (**Bassolé et al., 2010**).

L'Algérie est célèbre pour sa riche diversité en plantes médicinales et aromatiques. Parmi celles-ci, on retrouve la *Lavandula stoechas L*, une plante vivace qui pousse dans de nombreuses régions du monde, en particulier dans le bassin méditerranéen. Appartenant à la

famille des Lamiacées, et largement appréciée pour ses propriétés antiseptiques, bactéricides, désinfectantes et apaisantes. (Mohammedi, 2012 et Sahraoui 2010)

Dans ce sens, L'objectif principal de cette étude est d'analyser les caractéristiques organoleptiques, le potentiel antioxydant (en utilisant le test de DPPH) et l'effet antimicrobien de deux huiles essentielles extraites des fleurs et des feuilles de la plante médicinale *Lavandula stoechas* de la région de Blida. De plus, l'étude vise à évaluer l'effet de ces huiles essentielles sur la préservation de la sardine, un aliment facilement altérable, En prenant en compte les définitions de l'ANSES en 2015 et de la FAO en 2016, il est établi que la sardine est un aliment hautement périssable qui se dégrade rapidement après sa capture, ce qui entraîne des risques pour la santé en raison de la croissance des micro-organismes et des modifications chimiques qui surviennent

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties. La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en deux chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude des généralités sur les plantes aromatiques notamment *Lavandula stoechas*, les procédés d'extraction des huiles essentielles et leurs activités physicochimique et biologiques, et un deuxième chapitre traite de la sardine (*Sardina pilchardus*), un aliment rapidement périssable

Dans la seconde partie pratique, nous avons détaillé les équipements et les méthodes utilisés pour extraire les huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *Lavandula stoechas*, déterminer leur composition chimique, leur activité antioxydante et antimicrobienne, et l'appliquer sur une matrice alimentaire (sardine).

Les résultats obtenus sont ensuite discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion générale.

Chapitre I : huile essentielle

Chapitre I : huile essentielle

I.1.-Définition d'huile essentielle

Le mot huile est attribué à son caractère hydrophobe et à ses propriétés solubles dans les graisses tandis que le mot essentiel est dérivé du mot essence car il porte l'odeur ou l'essence distinctive émise par la plante productrice. En raison de leur volatilité, les huiles essentielles (HEs) sont généralement appelées huiles volatiles (**Bouyahya et al., 2017a ; Riabov et al., 2020**).

Les Huiles essentielles sont des métabolites secondaires naturellement présents dans toutes les parties des plantes, y compris les graines, les fleurs, les écorces, les tiges, les bourgeons, les rameaux, les racines, les fruits et les plantes entières. Ces plantes sont caractérisées par la présence de structures histologiques spécialisées dans la synthèse et la sécrétion des HEs. Ces structures comprennent : des poils, des cavités, des sacs sécrétoires, des canaux sécrétoires, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires (**Bouyahya et al., 2017; Tariq et al., 2019**).

I.2.- localisation d'HE dans la plante

Selon **Teuscher (2005)** les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors soit stockées dans une cellule transformée en cellule à essence, dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices, ou des canaux sécréteurs. Elles peuvent être transportées dans l'espace intercellulaire lorsque les poches à essence sont localisées dans les tissus internes.

Les familles les plus riches en l'huile essentielle sont : les lamiacées (lavande, thymus), les apiacées (Anis, Fenouil), les Myrtacées (Eucalyptus), les lauracées (camomilles), les Abiacées (Pins), et les Poacées (Citronnellesetc).

Toutefois, selon **Ghestem et al (2001)** tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles en particulier : les fleurs (bergamotier), les feuilles (menthe poivrée), mais aussi dans des écorces (cannelier de Ceylan), des bois (santal), des racines (angélique), des rhizomes (gingembre), des fruits (badiane), ou encore des graines (muscade). (**Deschepper ,2017**)



Figure 01: Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes. (Deschepper.,2017)

I.3.- Propriétés physiques des huiles essentielles

En raison de leur nature hydrophobe et de leur densité souvent inférieure à celle de l'eau, les HEs sont généralement lipophiles, solubles dans les solvants organiques tels que l'éther, l'alcool et les huiles fixes, non miscibles à l'eau. Ces huiles volatiles sont généralement liquides incolores et se distinguent par leur odeur distinctive. Elles peuvent être caractérisés par un indice de réfraction et une activité optique très élevée (Sharma *et al.*, 2021). Leurs rendements d'extraction restent cependant très faible (généralement de 1 à 3 % du poids de la plante), ce qui en fait des substances rares de grande valeur (Řebíčková *et al.*, 2020).

I.4.- Composition chimique des huiles essentielles

Étant des mélanges naturels très complexes, les HEs peuvent être caractérisées par deux ou trois composants majeurs, qui présentent des concentrations relativement plus élevées (20-70%) que d'autres composants présents à l'état de traces (Bektašević *et al.*, 2021 ; Peixoto *et al.*, 2017). Les principales molécules de ces liquides aromatiques sont les monoterpénoïdes (ils ont 10 atomes de carbone) et sesquiterpénoïdes (ils ont 15 atomes de carbone) contenant un large éventail de fonctions organiques comme des alcools, des éthers, des aldéhydes, des cétones ou des esters. Certaines HEs contiennent une autre classe de molécules qui sont les

phénylpropanoïdes et leurs dérivés. En fonction de leur composition chimique, les HEs peuvent être divisées en terpènes et en hydrocarbures (**Sharma et al., 2021**).

I.4.1.- Les terpènes

Les terpènes sont composés d'un nombre différent d'unités isoprènes (C_5H_8). La biosynthèse des terpènes comprend trois étapes importantes : dans la première, le précurseur de l'isopentényl diphosphate (IPP) est synthétisé ; dans la deuxième, le nombre d'IPP pour former le précurseur du prényl-diphosphate des différents types de terpènes et dans la troisième étape, les synthétases spécifique du précurseur du terpène, le prényl-diphosphate allylique, subissent une légère modification pour former le squelette du terpène ; dans la dernière étape, il subit des réactions d'oxydoréduction pour des modifications enzymatiques secondaires du squelette pour attribuer des propriétés fonctionnelles aux différents terpènes.

Les monoterpènes (C_5H_8)₂ et les sesquiterpènes (C_5H_8)₃ sont les principaux types de terpènes et, à part cela, les autres types sont les hémiterpènes (C_5H_8), les diterpènes (C_5H_8)₄, les triterpènes (C_5H_8)₆, et les tétraterpènes (C_5H_8)₈. (**Sharma et al., 2021**). Les monoterpènes agissent comme des composés majeurs (90%) des HEs (**Falleh et al., 2020**). Ils peuvent également être divisés en groupes tels que les acycliques et les cycliques. Le terpénoïde est un autre type, qui contient de l'oxygène attaché à son squelette (**Sharma et al., 2021**). La structure chimique des terpènes les plus courants est présentée dans la **Figure 1**.

I.4.2. Les hydrocarbures

En fonction de leur structure, les hydrocarbures sont classés en hydrocarbures aliphatiques, alcanes et aromatiques. Les hydrocarbures aliphatiques sont des aldéhydes composés de 8 à 10 atomes de carbone reliés linéairement et ne possèdent pas de cycle aromatique. Il est bien connu que ces molécules contribuent à l'odeur acide de l'huile d'agrumes. De même, les composés aliphatiques à six atomes de carbone confèrent aux huiles florales une odeur de feuille verte, tandis que les aldéhydes octanals sont responsables de l'odeur de l'huile d'orange. Habituellement, les composés aliphatiques sont présents dans les HEs à l'état de traces et sont responsables de l'odeur en raison de la présence de groupes fonctionnels oxygénés.

D'autre part, les alcanes sont composés d'atomes de carbone liés entre eux par des liaisons simples tandis que les alcynes comprennent des liaisons covalentes triples carbone-carbone. La troisième catégorie d'hydrocarbures est constituée de composés aromatiques; ils possèdent généralement un cycle benzénique dans leur structure et sont responsables de l'odeur agréable (**Sharma et al., 2021**).

I.5.-Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les HEs sont obtenues à partir des plantes par plusieurs méthodes d'extraction. Ces méthodes peuvent être classées en deux catégories : les méthodes conventionnelles et les méthodes innovantes (**Pateiro et al., 2018 ; Sharma et al., 2021**). Les méthodes conventionnelles (distillation à la vapeur, hydrodistillation, extraction par solvant et hydrodiffusion) sont basées sur la distillation de l'eau par chauffage pour récupérer les HEs à partir de la matrice végétale.

En outre, la dégradation de certains composés volatils en raison des températures relativement élevées est parmi les inconvénients des techniques conventionnelles. La qualité des HEs extraites est donc extrêmement endommagée, surtout si le temps d'extraction est long. Par conséquent, le choix de la méthode d'extraction appropriée fait partie des considérations importantes pour maintenir la composition chimique des HEs et produire des HEs présentant des caractéristiques souhaitables (**Pateiro et al., 2018**).

L'étude des nouvelles technologies (ultrasons, micro-ondes) au cours des dernières décennies a conduit à l'émergence de nouveaux procédés d'extraction innovants et plus efficaces. Ces nouvelles techniques d'extraction sont simplement une combinaison du chauffage par micro-ondes/ultrasons et d'une méthode d'extraction conventionnelle. Cependant, l'utilisation des techniques innovants est considérée comme une bonne alternative car elle permet de réduire le temps d'extraction, la consommation d'énergie et l'utilisation de solvants, par conséquent, elle permet d'augmenter le rendement d'extraction, améliorer la qualité de l'extrait et/ou les conditions du protocole d'extraction (**Bendjersi et al., 2016 ; Pateiro et al., 2018**).

I.6.-Méthodes d'analyse chimique des HEs

L'examen de la composition chimique des HEs est important pour une meilleure compréhension de son activité biologique, l'avancement de l'application et pour la compréhension des effets secondaires possibles (**Bektašević et al., 2021**). Par conséquent, différentes méthodes ont été utilisées pour contrôler et analyser les HEs (**Kivrak et al., 2017**).

La chromatographie en phase gazeuse (CG), avec détection par ionisation de flamme ou par spectrométrie de masse (SM), est une technique puissante utilisée pour l'analyse des composants volatils, car elle fournit des données qualitatives et quantitatives pour des mélanges complexes tels que ceux habituellement présents dans les HEs. Bien que la détection par ionisation de flamme ait été traditionnellement utilisée en raison de sa plus grande plage linéaire

de réponse instrumentale, la détection par MS est aujourd'hui très populaire grâce à sa plage de réponse instrumentale appropriée et aux précieux spectres de masse fournis, comparables à ceux des normes et des bibliothèques spectrales (**Carrasco et al., 2015**).

I.7.-Activités biologiques des huiles essentielles

I.7.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles

Les tendances actuelles dans le domaine de l'alimentation, motivées par les préoccupations des consommateurs concernant l'utilisation d'additifs alimentaires synthétiques, ont stimulé la recherche de composés naturels capables de préserver la qualité et la sécurité des produits alimentaires (**Göksen et al., 2020**). C'est pourquoi un nombre considérable d'HEs ont commencé à être utilisées dans l'industrie alimentaire, ce qui représente une nouvelle barrière pour garantir l'élimination des agents pathogènes d'une matrice alimentaire spécifique (**Falleh et al., 2020**).

L'efficacité antibactérienne des HEs a été bien établie depuis l'antiquité. Les effets antibactériens des HEs se manifestent de deux manières : soit en inhibant la croissance bactérienne (bactériostatique), soit en tuant les cellules bactériennes (bactéricide) (**Falleh et al., 2020 ; Tariq et al., 2019**).

En ce qui concerne ce dernier point, de nombreuses études dans des systèmes modèles en bouillon, ainsi que dans des aliments réels, ont révélé l'activité antibactérienne des HEs sur les bactéries pathogènes et d'altération, mais toutes n'ont pas la même activité (**Pateiro et al., 2020**). Ainsi, l'origan, *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Myrtus communis* et *Rosmarinus Officinalis* sont parmi les plus efficaces contre les bactéries pathogènes d'origine alimentaire (**Göksen et al., 2020 ; Falleh et al., 2019 ; Oliveira Ribeiro et al., 2020**).

I.7.1.1.- Mode d'action antibactérien des huiles essentielles

Aucun mécanisme unique n'a été proposé pour expliquer les propriétés antibactériennes des HEs car il existe une variété de composés qui agissent dans différentes zones des cellules bactériennes ; il s'agit très probablement d'une combinaison d'effets (**Ed-Dra et al., 2020 ; Pateiro et al., 2020**). Cependant, les HEs traversent la membrane cellulaire bactérienne, l'endommageant et, éventuellement, perturbant l'arrangement des acides gras dissemblables, des bicouches de phospholipides et des molécules de polysaccharides (**Tariq et al., 2019**).

La perturbation de la membrane cellulaire par les HEs est facilitée par leur hydrophobie qui conduit à des altérations de la perméabilité de la cellule bactérienne qui entraînent

l'épuisement de l'ATP, la fuite de composants cellulaires et la perte d'ions, l'effondrement de la pompe à protons, la fragilisation de la membrane cellulaire et enfin une perte de macromolécules. Cette altération de l'organisation cellulaire peut provoquer un effet en cascade, entraînant des dommages aux processus essentiels des cellules et finalement la lyse cellulaire (Falleh et al., 2020 ; Tariq et al., 2019).

Les HEs peuvent également coaguler le cytoplasme et endommager plusieurs systèmes enzymatiques (Falleh et al., 2020) et les protéines cellulaires intégrées dans la membrane cytoplasmique (Vilela et al., 2016). Des enzymes telles que les ATPases sont connues pour être situées dans la membrane cytoplasmique et qu'elles sont bordées par des molécules lipidiques. Les molécules des HEs lipophiles peuvent s'accumuler dans la bicouche lipidique et déformer l'interaction lipide-protéine ; Alternativement, l'interaction directe des composés lipophiles avec les parties hydrophobes des protéines est possible (Burt, 2004). La figure 2 illustre le mécanisme antibactérien des HEs sur les bactéries.

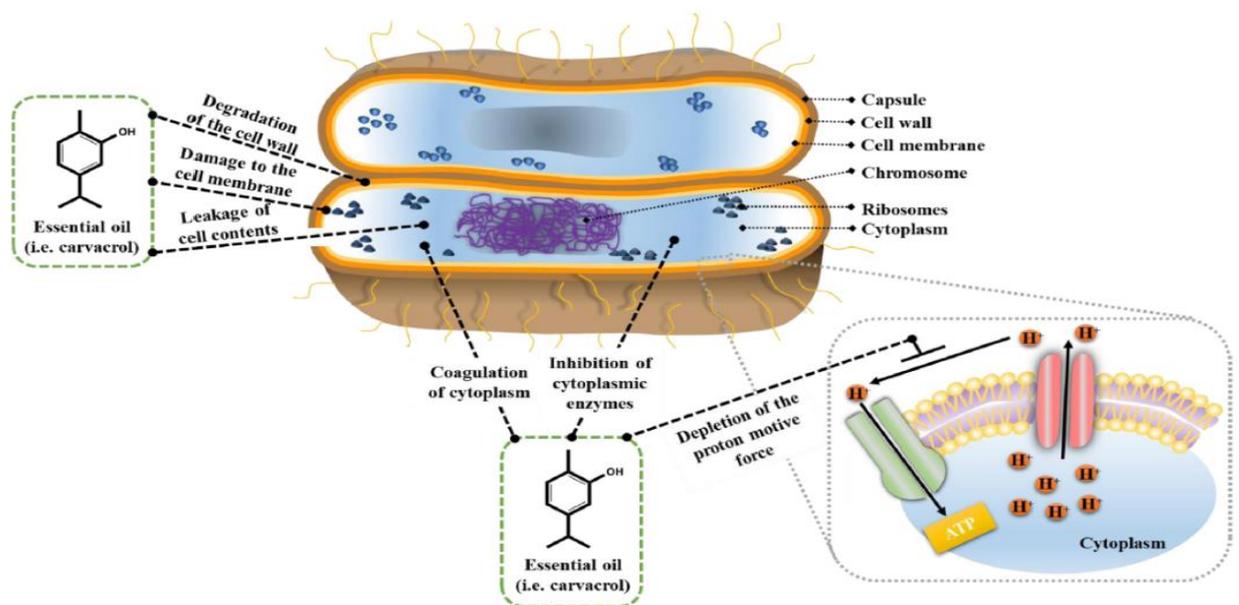


Figure 2 : Le mécanisme antibactérien des HEs sur les bactéries (Falleh et al., 2020).

L'activité antibactérienne des HEs, semblable à tous les extraits naturels, dépend de leur composition chimique. Elle est fortement associée à la présence de certains composés particuliers, principalement des terpénoïdes et phénylpropènes, les plus actifs étant les phénols (Vieira et al., 2017), tandis que les hydrocarbures sont pour la plupart inactifs (Abdelli et al., 2016).

I.7.1.2.-Mode d'action antifongique des huiles essentielles

Les champignons sont considérés comme l'une des principales préoccupations en matière de stockage des aliments. *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* sont les principaux champignons responsables de la pourriture post-récolte, notamment dans les céréales (**Hossain et al., 2016**). La croissance fongique sur les aliments crus et transformés peut entraîner des modifications texturales et sensorielles, le développement d'une mauvaise saveur et l'émission d'odeurs, la pourriture et la réduction de la valeur nutritionnelle de ces aliments, ainsi que l'apparition d'intoxications par des mycotoxines (**Hossain et al., 2016 ; Zuzarte et al., 2013**).

Les espèces de *S. cerevisiae* sont les principaux agents de la fermentation alcoolique dans l'industrie du vin, de la bière et de la boulangerie, mais ils peuvent également être impliqués dans la détérioration des aliments. Les propriétés antifongiques de nombreuses HEs ont été évaluées (**Petretto et al., 2014 ; Zuzarte et al., 2013**).

Les actions antifongiques des HEs sont similaires à celles des mécanismes antibactériens par contact direct avec le champignon (**Peixoto et al., 2017 ; Tariq et al., 2019**), mais les HEs ont également une activité antifongique en phase vapeur, cet effet concerne principalement les moisissures (**Laranjo et al., 2017 ; Reyes-Jurado et al., 2019**).

Par contact, les HEs ont le pouvoir de pénétrer et de perturber la paroi cellulaire fongique et les membranes du protoplasme par un processus de perméabilisation, ce qui aboutit à un écoulement excessif du protoplasme et son action (**Peixoto et al., 2017 ; Tariq et al., 2019**). La phase vapeur générée par les HEs attaque le cycle de vie de certaines moisissures au stade de la germination, affectant la croissance des hyphes et la sporulation. L'inactivation des conidies par les HEs est le processus clé de l'inhibition, car les conidies sont stables à la chaleur, à la lumière et aux composés chimiques, et sont difficiles à éliminer (**Laranjo et al., 2017**).

L'utilisation des vapeurs d'Huile essentielle a un effet plus important que leur ajout direct (par contact direct dans des solutions aqueuses ou sur des gélules solides). En outre, les HEs en phase vapeur permet aux aliments d'arriver chez le consommateur avec leurs propriétés organoleptiques originales avec une dose effective réduite et une sécurité accrue, contrairement aux HE sous forme liquide (**Reyes-Jurado et al., 2019**).

1.7.2-Activité antioxydante des huiles essentielles

La peroxydation des lipides, l'une des causes les plus importantes de la dégradation des aliments, est un processus complexe qui reflète l'interaction entre l'oxygène moléculaire et les acides gras polyinsaturés. Ce mécanisme entraîne des changements indésirables liés à la qualité des aliments, à leurs caractéristiques organoleptiques, la sécurité et la valeur nutritionnelle par le biais de radicaux. Les antioxydants agissent comme des capteurs de radicaux, inhibant la peroxydation lipidique (**Cherrat et al., 2014**).

Les consommateurs et les industries agroalimentaires s'intéressent actuellement aux HEs en tant qu'antioxydants naturels en raison des rapports sur la cancérogénicité présumée de certains antioxydants synthétiques, à savoir l'hydroxytoluène butylé (BHT) et l'hydroxyanisole butylé (BHA), dans le système mammifère (**Cherrat et al., 2014 ; Prakash et al., 2015**). Différentes HEs ont souvent été signalées comme possédant un fort potentiel antioxydant. L'étude de leurs activité antioxydante dans des systèmes alimentaires réels a montré qu'elles peuvent prolonger la durée de conservation des produits alimentaires (**Baj et al., 2018 ; Prakash et al., 2015**). Ceci est particulièrement le cas des HEs d'ail (**Khan et al., 2017**), de romarin (**Estévez et Cava, 2006**), d'origan et de sauge (**Fasseas et al., 2008**).

1-8.-Huile essentielle de *Lavandula stoechas*

1.8.1.- Taxonomie :

Lavandula est un genre important de la famille des Lamiaceae qui comprend plus de 39 espèces reconnues et plus de 450 hybrides produits officiellement enregistrés. *Lavandula stoechas*, connue localement sous le nom de "El Halhal" ou lavande sauvage, est l'une des plantes qui ont des fleurs vivace avec des feuilles aromatiques et de belles bractées au sommet des fleurs (**Boukhatem et al., 2021**). Elle pousse généralement jusqu'à un mètre de haut avec des fleurs violettes en épi (**Carrasco et al., 2015**).



Figure 03 : *lavandula Stoechas* du Maroc (Ez Zoubi et al., 2020)

L. stoechas est réparti sur trois continents (Afrique, Europe et Asie). Il se développe autour du bassin méditerranéen, notamment au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Espagne, en Grèce, en France, en Italie et en Turquie. On le trouve également en Arabie Saoudite et en Iran.(figure 04)

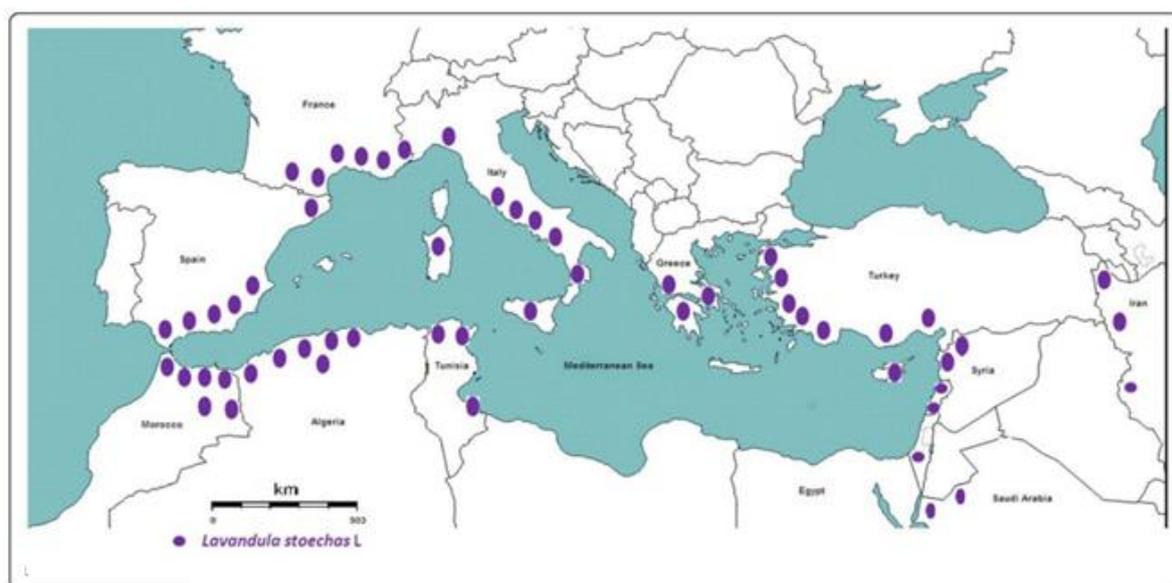


Figure 04 : Répartition géographique de *lavandula stoechas* (Ez Zoubi et al., 2020)

Au Maroc, cette plante pousse généralement à haute altitude sur des sols calcaires, en particulier dans le nord du Maroc, dans les montagnes du moyen et haut Atlas et du Rif. En Tunisie, il est réparti dans les régions du nord, du nord-est et du Cap Bon à des altitudes de 400 à 1000 m. Selon Mohd et al. (2016), *L. stoechas* se trouve également au Bihar et au Bengale en Inde. Il a été introduit dans toute l'Europe et dans les régions tempérées /subtempérées des Amériques, d'Asie et d'Australie. (Ez Zoubi et al., 2020)

1.8.2.- Classification botanique

La classification botanique de l'espèce *L. stoechas* est la suivante (Upson et al ,2004)

- Règne : Plante
- Sous classe : Dialypétales
- Sous règne : Plantes vasculaires
- Ordre: Lamiales
- Embranchement : Spermaphytes
- Famille: Lamiaceae
- Sous embranchement : Angiospermes
- Sous famille: Nepetoideae
- Classe :Décotylédones
- Genre: Lavandula
- Espèce: *Lavandula stoechas*

1.8.3.- Huile essentielle de *Lavandula stoechas*

L'hydrodistillation conventionnelle des parties aériennes fleuries de l'HE de *L. stoechas* a donné des HEs de couleur jaune clair à jaune foncé (Benabdelkader et al., 2011), avec des rendements allant de 0,3 à 1,63% (Benabdelkader et al., 2011 ; Carrasco et al., 2015).

La composition de l'HE de *L. stoechas* a été étudiée à partir de plantes sauvages et cultivées collectées dans plusieurs pays méditerranéens. Environ 60 constituants chimiques ont été décrits. Il s'agit principalement de monoterpènes et sesquiterpènes (Benabdelkader et al., 2011). L'étude de la composition chimique de son HE a montré la variabilité des quantités de fenchone, de camphre, de 1,8-cinéole et d'acétate de bornyle selon l'origine géographique, la partie de la plante extraite, la période de récolte et la méthode d'extraction, le chémotype fenchone/camphre étant le plus souvent identifié (Angioni et al., 2006 ; Carrasco et al., 2015 ; Zuzarte et al., 2013), bien qu'un chémotype fenchone/1,8-cinéole et un chémotype pulégone aient également été rapportés (Benabdelkader et al., 2011).

1.8.4. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*

Les HEs de *L. stoechas* ont fait l'objet de nombreuses recherches pour leurs utilisations potentielles comme agent antimicrobien dans les aliments, en combattant les agents pathogènes d'origine alimentaire. Elles présentent une activité antibactérienne équivalente ou supérieure à celle des antibiotiques commerciaux, tels que la gentamycine, l'ofloxacine (Baali et al., 2019; Falleh et al., 2019), l'erythromycine et le chloramphénicol (Bouyahya et al., 2017a).

L'HE de *L. stoechas* a un effet antibactérien plus fort contre les bactéries gram positives, telles que *Staphylococcus aureus* (Baali et al., 2019 ; Falleh et al., 2019), *B. subtilis* (Baali et al., 2019), *Enterococcus faecalis*, *L. monocytogenes*, *Enterococcus aerogenes*, et *Bacillus licheniformis* (Cherrat et al., 2014b ; Falleh et al., 2019), que contre les bactéries gram négatives, telles que *Escherichia coli* et *P. aeruginosa* (Falleh et al., 2019), notamment comme bactéricide (Baali et al., 2019 ; Bouyahya et al., 2017 ; Cherrat et al., 2014).

Par ailleurs, l'HE de *L. stoechas* a montré des effets antifongiques efficaces contre *Aspergillus niger* (Benabdelkader et al., 2011), *Fusarium oxysporum* (Angioni et al., 2006 ; Benabdelkader et al., 2011), *Candida albicans* (Benabdelkader et al., 2011 ; Zuzarte et al., 2013), *Rhizoctonia solani* (Angioni et al., 2006), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* et les souches de dermatophytes (*Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton verrucosum*) (Zuzarte et al., 2013).

L'HE de *L. stoechas* est plus efficace en combinaison avec la chaleur inactivant *E. coli* et *L. monocytogene* (Cherrat et al., 2014). L'effet conservateur de l'HE de *L. stoechas* (individuellement ou dans une combinaison de deux, trois ou quatre avec HE de *M. communis*, *S. aromaticum* et *C. zeylanicum*) a été estimé dans Lait UHT demi-écrémé contaminés par *E. coli* (Falleh et al., 2019).

I.8.5. Activité antioxydante de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*

L'HE de *L. stoechas* a été proposé comme substitut potentiel d'antioxydants synthétiques pour la préservation des aliments en raison de leur capacité à réduire la formation de radicaux libres et à réduire les ions ferriques, d'une manière supérieure à l'acide ascorbique et au Trolox (Bouyahya et al., 2017). En revanche, Sebai et al (2013) ont évalué l'activité antioxydante en utilisant l'activité de piégeage des radicaux DPPH, ce qui a révélé que les composés volatils de *L. stoechas* sont caractérisés par une capacité antioxydante élevée, bien que cela soit inférieur à celui de l'acide ascorbique.

CHAPITRE II LA SARDINE (*Sardina pilchardus*).

II.1.- *Sardina pilchardus*

La sardine commune (*Sardina pilchardus*) est un poisson pélagique qui vit entre la surface et le fond dans les eaux côtières jusqu'à 120 m de profondeur. La sardine vit en bancs parfois importants, près de la surface la nuit et plus en profondeur le jour. Sa taille moyenne est de 10–20 cm, avec une taille maximale de 25 cm. Les périodes de pontes varient selon la répartition géographique ; les sardines adultes se nourrissent de crustacées planctoniques, des larves de crabes. Elle est consommée fraîche, salée, parfois fumée, mais principalement en conserves (Eymard,2003).

- Les produits de la mer sont des denrées très vulnérables à l'action d'oxydation lipidique et à l'altération autolytique (enzymatique et microbienne).
- La rapidité de la prolifération bactérienne est favorisée par les mauvaises manutentions infligées au poisson notamment par le non respect des bonnes pratiques d'hygiène (hygiène du personnel, conditions de manipulations des poissons lors de l'éviscération, de la qualité microbiologique des eaux de lavage, et de la glace utilisée et le non respect des températures de conservation au cours du stockage et du transport).

De part sa richesse en acides gras polyinsaturés, le poisson est sensible aux réactions d'oxydation lipidique. Ces dernières sont accélérées par plusieurs paramètres comme la présence de radicaux libres oxygénés (RLO), la température élevée, la lumière solaire et les métaux de transition. Ces réactions d'oxydation conduisent à des produits de dégradation qui sont responsables des modifications de goût, d'odeur et de couleur au cours du processus de fabrication et de stockage. (Hellal,2011)

Afin de limiter ces altérations, on a recours à la conservation par le froid ou à l'utilisation de divers conservateurs de synthèse tels que: BHA (3-tertiobutyl-4- hydroxyanisole), BHT (3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène), TBHQ (tertiobutyl- hydroxyquinone) et le PG (gallate de propyle). L'usage extensif d'agents antioxydants et d'agents antimicrobiens dans les produits alimentaires et dans la médication humaine et animale conduit à la sélection des souches bactériennes multi résistantes, et ils sont suspectés d'avoir des effets négatifs sur la santé du consommateur.(Djenane ,2015)

Au cours de ces dernières années, l'augmentation de la demande du consommateur pour des produits « naturels » sans conservateurs a conduit l'industrie alimentaire à envisager l'incorporation de substances considérées «non chimiques».

Ainsi, de nombreux composés phytochimiques y compris les H.Es commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme antioxydants,

II.2.-Valeur nutritionnelle de *Sardina pilchardus*

La sardine est l'un des poissons les plus riches en protéines (20%), ces dernières ont une très bonne valeur nutritionnelle (Tableau 1). Avec toutes ses qualités, la sardine est un aliment hypocalorique (~170 kcal pour 100 g) pouvant être intégrée dans la plupart des régimes alimentaires. Elle a ainsi été classée parmi les espèces de poissons possédant les meilleures recommandations nutritionnelles (Sidhu, 2003).

Tableau 1 : Composition nutritionnelle moyenne de 100g de sardine (Ciquel, 2012).

Énergie	163 Kcal	% des AJR*
Protéines	23 g	46%
Lipides	13,7 g	20 %
Acides gras saturés	5,8 g	-
Acides monoinsaturés	2,4 g	-
Acides polyinsaturés	2,6 g	-
Cholestérol	100 mg	-
Minéraux		
Phosphore	270 mg	33%
Magnésium	28 mg	9%
Calcium	85 mg	10%
Sodium	400 mg	17%
Fer	1,4 mg	10%
Vitamines		
Vitamine A	16 µg	2%

Vitamine D	11µg	220%
Vitamine B2	0,25 mg	15%
Vitamine PP	8,2 mg	45%
Vitamine B12	6 µg	600%

AJR* : Apport Journalier Recommandé.

II.3.-Altérations de la sardine

L'altération peut être définie comme un changement dans le produit, ce qui le rend moins acceptable, inacceptable ou dangereux pour la consommation humaine. Les produits de la mer sont connus pour leur grande susceptibilité à la dégradation étant hautement périssable et leur durée de conservation est relativement courte. Les causes de cette dégradation rapide sont principalement dues à plusieurs caractéristiques qui font intervenir des changements biochimiques, microbiologiques et sensoriels qui affectent largement la qualité des produits (**Dib, 2014**).

II.3.1.Altérations sensoriels

Les caractéristiques de sardine altérée par rapport à la sardine fraîche sont les suivantes (**Berkel et al., 2005**) :

- Une odeur forte.
- Des branchies rouges foncées et visqueuses, au lieu de branchies rouges vifs.
- Une chair molle avec des traces de sang de couleur brune, au lieu de chair ferme avec un sang rouge.
- Des pupilles rouges laiteuses, au lieu de pupilles claires.

La détérioration de la sardine commence par des changements de couleur. Une odeur de pourriture se développe ensuite.

II.3.2.Alterations microbiologiques

Le but des examens microbiologiques des produits de la pêche est d'évaluer la présence possible de bactéries ou d'organismes pouvant avoir des conséquences sur la santé publique (**Leduc, 2011**).

La flore microbienne des sardines est associée aux branchies, à la peau et aux intestins après la mort. La flore saprophyte commencera à envahir la surface de la chair. La contamination restera, à la surface du filet de sardine, sauf en cas d'écartement ou de séparation des blocs musculaires qui

peuvent devenir un foyer de contamination en profondeur., ce qui entraîne une perte de la qualité du produit (**Fernandes., 2009**).

Les espèces bactériennes peuplant les poissons sont bien adaptées aux facteurs de sélection qui, sont la teneur de l'eau en NaCl (espèces halophiles) et à la température ambiante (espèces psychrophiles et psychrotrophes).

Les bactéries d'altération sont des bactéries en général naturellement présentes et qui vont, suite à leur développement favoriser l'altération des poissons. (**Mejlholm & Dalgaard, 2002**).

Le niveau de contamination des poissons au moment de la capture dépend de l'environnement et de la qualité bactériologique de l'eau dans laquelle ils ont été pêchés. Beaucoup de facteurs influent sur la microflore des poissons ; les plus importants sont la température, la teneur en sel, la proximité des régions de pêche avec les habitations humaines, la quantité et l'origine de la nourriture consommée par les poissons, ainsi que les méthodes de pêche. (**Eymard, 2003**).

Les produits de la mer peuvent être contaminés par les staphylocoques soit par l'intermédiaire de manipulateurs infectés, soit par l'environnement. Lorsqu'il se multiplie dans les aliments, *S. aureus* produit un certain nombre d'entérotoxines. Ces toxines sont très résistantes aux enzymes protéolytiques et à la chaleur (la chaleur appliquée à domicile ne suffit pas à détruire la toxine) (**Vincenot et al., 2008**). De bonnes pratiques sanitaires, ainsi le contrôle de la température sont nécessaires pour éviter la contamination, la prolifération et la production de toxines, notamment dans le cas des produits de la mer précuits. (**Pokorny et al., 2001**).

II.3.3. Alterations biochimiques

Après la mort, la rigidité cadavérique ou *rigor mortis* est la première modification visible de la chair de sardine observée, le tissu musculaire va subir différents changements biochimiques liés à l'action autolytique ; La rupture de l'approvisionnement en dioxygène conduit à la fin de la régénération des molécules d'ATP par le cycle de *Krebs*. En anaérobiose, La décomposition du pyruvate suivie de la production de lactate provoque une acidification des tissus en abaissant le pH musculaire à des valeurs comprises entre 5,4 et 6,1. Ces modifications ont un effet direct sur la qualité nutritionnelle et microbiologique de la sardine (**Dehaut, 2014**).

En plus d'une activité protéolytique susceptible d'amollir rapidement les tissus, des enzymes telles que les lipases et les phospholipases restent remarquablement actives au froid et dégradent les lipides. Les modifications *post-mortem* des muscles se traduisent par une baisse de solubilité des protéines, une fragilisation des cellules, et la libération d'acides gras. (**Pokorny *et al.*, 2001**).

- L'hydrolyse des lipides est principalement le fait d'enzymes lipolytiques tissulaires. Il s'agit des lipases et des phospholipases A₂ et B. Ces réactions de lipolyse induisent une dégradation de la qualité du produit, de plus les AGL provenant de l'activité de ces enzymes interagissent avec les protéines favorisant leur dénaturation et conduisent à l'altération du produit (**Refsgaard *et al.*, 2000**).

Les antioxydants naturels (les oligo-éléments, enzymes, et vitamines) protègent les phospholipides membranaires contre les dommages oxydatifs. Toutefois, les antioxydants sont souvent éliminés pendant la manutention, la transformation, ou lors de l'entreposage de l'aliment. Ce qui nécessite en outre, la supplémentation en antioxydant (**Genot *et al.*, 2003**).

Partie II :

Matériel et Méthode

L'objectif de cette étude consiste à examiner une plante médicinale (*lavandula stoechas.L*) en comparant la composition chimique, l'effet antimicrobien et l'activité conservatrice des huiles essentielles extraites séparément des fleurs et des feuilles de cette plante. Cette étude a été réalisée dans les laboratoires pédagogiques de la faculté des sciences et de la faculté SNV de l'université de Blida 1, ainsi que dans le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.

I. Extraction des huiles essentielles

I.1. Le matériel végétal

En moi de mai 2023, une récolte manuelle de *lavandula stoechas.L* a été effectuée dans la région du Chrifia, située dans la wilaya de Blida. Cette collecte a été entreprise dans le cadre d'une étude menée par le département de science alimentaire de l'université de Blida, en collaboration avec le département de pharmacie de la même université qui s'est chargé de l'identification de la plante.

Une fois récoltée, la plante a été soigneusement traitée pour séparer les fleurs (figure 05) des feuilles (figure 06). Cette étape de séparation permet d'obtenir des échantillons distincts pour analyser les composés constitutifs de chaque partie de la plante.

Afin de préserver la qualité des composés présents dans la *lavandula stoechas.L*, les échantillons ont été séchés dans une étuve à une température de 40°C. Ce processus de séchage contrôlé permet de limiter la dégradation des composés et de préserver leur intégrité pour les analyses ultérieures.



Figure (originale) 05: Feuilles de *l. stoechas .L*



Figure (originale) 06 : Fleurs de *l. stoechas .L*

I.3.- Mode d'extraction

Afin d'obtenir les HEs, les feuilles et les fleurs ont été soumises séparément à une hydro-distillation à l'aide d'un appareil de type **Clevenger** pendant 2 h 30 min (Figure 07).

Le procédé consiste à immerger une masse de matière végétale (100 g de la partie à extraire de la plante) dans un bain d'eau distillé (1600 ml). L'ensemble est ensuite porté à ébullition. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotrope, qu'il est ensuite refroidi et condensé dans un vase florentin et se sépare en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. (**Boutmek 2011**).

Le rendement en HE (%) a été calculé sur la base du poids sec de chaque plante, soit:

Rendement de l'HE (%) = $\frac{\text{masse d'HE obtenue (g)}}{\text{masse de matière sèche (g)}} \times 100$



Figure (originale) 07: Appareillage utilisé pour l'extraction, type Clevenger

II. Caractérisation physico-chimique des huiles essentielles

II.1.- Caractérisation organoleptiques des huiles essentielles

L'évaluation de l'odeur, de la couleur et de l'aspect d'une huile essentielle (HE) est essentielle pour évaluer sa qualité organoleptique et prévoir ses utilisations potentielles, tant

d'un point de vue scientifique que pratique. Ces critères permettent de déterminer les caractéristiques sensorielles de l'HE, ce qui est important pour évaluer son attrait, son potentiel thérapeutique et ses applications dans divers domaines tels que la parfumerie, la cosmétique et l'industrie alimentaire.

II.2.- pH d'huile essentielle

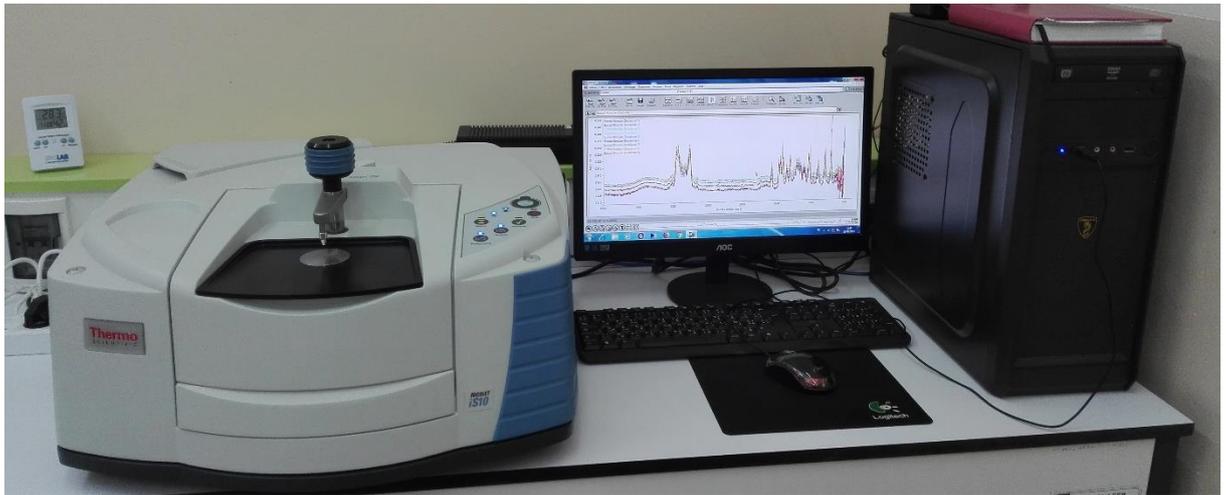
Le pH est un coefficient qui indique le degré d'acidité ou de basicité d'une solution. Cette grandeur permet d'évaluer la concentration de l'ion hydrogène d'une solution aqueuse. Nous mesurons le pH de l'HE de *lavandula stoechas* à l'aide d'un papier pH (figure 08) au lieu d'un pH- mètre en raison de l'insuffisance d'huile essentielle disponible.



Figure (originale) 08: La gamme de couleur selon le pH.

II.3- Analyse par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier en mode ATR de marque Nicolet iS10 thermo scientifique (figure 09) est muni d'un détecteur standard pyroélectrique DiaTGS (Deuterated lanthanum α -alanine-doped triglycine sulphate) a été utilisé. L'analyse a été réalisée en mode de réflexion totale atténuée (ATR) en utilisant un accessoire Smart ITR et une fenêtre/cristal diamant . Le spectre ATR-IRTF est enregistré dans la gamme spectrale comprise entre 4000 et 525 cm^{-1} et chaque spectre cumule 32 scans avec une résolution de 4cm^{-1} . Pour le contrôle des mesures et l'acquisition des données, le logiciel OMNIC (version 9.8) a été considéré sur un système d'exploitation Microsoft Windows 7.



Figure(originale) 09: Spectrophotomètre en mode ATR

II.4. Analyses chimique par chromatographie en phase gazeuse couplé à spectromètre de masse GC/MS

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC) des deux HEs a été réalisée en utilisant un chromatographe en phase gazeuse de marque Agilent technologie GC 17A équipé d'une colonne capillaire (5 % de phényl 95 % de diméthylpolysiloxane) HP 5MS (30 m de longueur \times 0,25 mm de diamètre \times 0,25 μ m d'épaisseur du film). La température du four a été programmée à 60 °C pendant 8 min, puis à une vitesse de 2 °C/min jusqu'à 250 °C, suivie de 10 min en conditions isothermes. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit constant de 0,6 ml/min.



Figure (originale) 10 : Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse CG-SM

La CG-SM a été réalisée au moyen d'un appareil Hewlett Packard modèle HP 5973 équipé directement d'un spectromètre de masse quadripolaire (figure 10), avec une colonne capillaire identique à la précédente. Les conditions de fonctionnement sont identiques

à celles de la GC, tandis que les conditions d'analyse de la MS sont les suivantes : Les spectres de masse ont été enregistrés avec une énergie d'ionisation de 70 eV sur une plage de masse de balayage de 30 à 550 unités de masse atomique et chaque HE diluée dans n-hexane (0.2 µl) a été injecté dans le Split 80:1. L'identification des composés a été basée sur la comparaison de leurs indices de rétention relatifs (IR) et de leurs spectres de masse avec ceux des composés de référence des bibliothèques NIST 02.L et WILEY 7n.1 et avec les spectres de masse de la littérature

III.- Détermination des activités biologiques des huiles essentielles

III.1.- Activité antimicrobienne des huiles essentielles

III.1.1.- Micro-organismes et milieux de culture

Pour cette étude, six bactéries ont été utilisées dans cette expérience. Parmi elles, des bactéries Gram positif (*Bacillus subtilis* ATCC6051, *Staphylococcus aureus* ATCC44300, *Listeria monocytogenes* ATCC13932,), des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella abony* ATCC14028. Toutes les souches ont été cultivées sur MHA (Mueller Hinton Agar) et une souche fongique (*Candida albicans* ATCC24433) qui a été cultivé sur milieu Sabouraud Dextrose Agar.

III.1.2.- Méthode de diffusion en gélose (méthode des disques.)

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antimicrobien

Des boites de Pétri contenant du milieu Sabouraud Dextrose Agar ou Mueller Hinton agar sontensemencées aseptiquement par une suspension de 10^6 cellules/ml qui provient d'une culture jeune de levures ou de bactéries. L'ensemencement se fait par écouvillonnage. A la surface de chaque boite on dépose un disque de papier filtre (Whatman n° 5) stériles de 6 mm de diamètre imbibés par 20 µl d'huile essentielle. Les boites sont incubées dans une étuve à 30°C pendant 48h pour les levures, et à 37°C pendant 24h pour les bactéries.

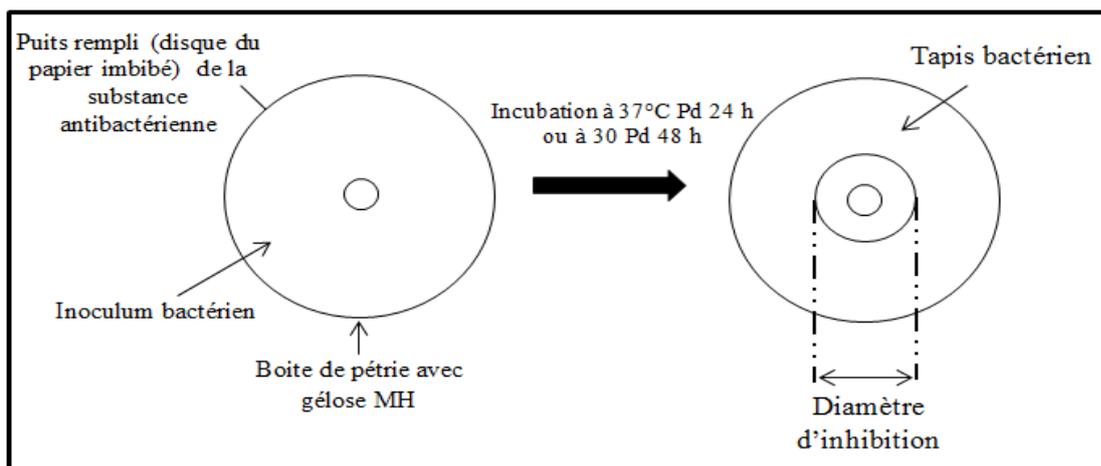


Figure 11 : Evaluation de l'activité microbienne par diffusion sur gélose

Après incubation, on procède à l'observation visuelle pour détecter les zones d'inhibition (figure 11) et mesurer le diamètre de la zone d'inhibition (DZI) de chaque puits à l'aide d'un pied à coulisse. Les valeurs des DZI ont été classées en fonction de la largeur, exprimée en mm, selon les critères d'**Ambrosio et al. 2017**. Ainsi, les DZI sont distingués comme suit : pour les diamètres égaux ou inférieurs à 8.0 mm, les bactéries ont été classées comme insensibles (-) à l'action des HEs ; pour les diamètres compris entre 8.0-14.0 mm, comme modérément sensibles (+) ; pour ceux ayant les diamètres de 14.0-20.0 mm, comme sensibles (++) ; et pour les diamètres supérieurs à 20.0 mm, comme des bactéries extrêmement sensibles.

III.2. -Activité antioxydante des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante, dont la plupart sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude, nous avons opté pour la méthode de l'effet scavenger sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Cette méthode permet de mesurer la capacité d'une substance à neutraliser les radicaux libres en observant les changements de couleur résultant de la réaction avec le DPPH.

III.2.1.- Activité de piégeage du radical DPPH

La méthode utilisée dans cette étude repose sur l'utilisation du radical libre stable en solution, le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Des travaux ultérieurs, tels que ceux de **Mohammedi et Atik 2011**, ont également utilisé cette méthode. Lorsqu'elle est exposée à des composés antiradicalaires, la couleur violette du DPPH se transforme en une couleur jaune, indiquant la réduction du radical.

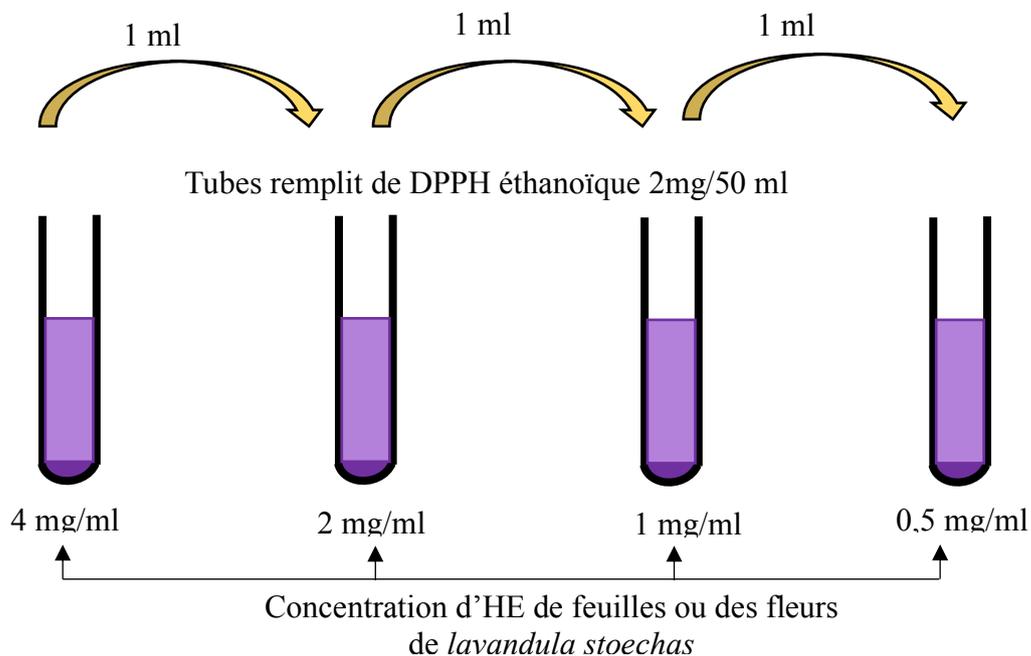


Figure 12 : préparation des dilutions d'huile essentielle pour l'activité antioxydante par DPPH

L'absorbance lue est ensuite transformé en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin. Quatre concentrations (4mg, 2 mg, 1 mg et 05 mg) pour chaque des deux huiles ont été ajoutées à 1 ml de solution méthanolique du DPPH (2mg/50ml).(figure 12)

Après une incubation à l'obscurité pendant 30 min, la lecture de l'absorbance est mesurer à 517 nm à l'aide d'un appareil UV-Visible (RAYLEIGH UV-2601) contre un contrôle négatif.

L'activité anti oxydante est estimée selon l'équation ci-dessous

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{[\text{Abs}_0 - \text{Abs}_1]}{\text{Abs}_0} \times 100$$

Où Abs_0 est l'absorbance du contrôle

Abs_1 est l'absorbance en présence de l'huile à différentes concentrations.

La concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH a également été déterminée (CI_{50}) en utilisant les courbes dose-effet par régression linéaire.

IV.- Application d'effet bio-conservateur des huiles essentielles sur la sardine

Un essai a été conduit au sein des laboratoires de microbiologie de Blida pour étudier l'effet bio-conservateur des huiles essentielles sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Le protocole expérimental a été élaboré en se référant aux travaux antérieurs réalisés par **Djanane Djamel** en **2015**.L'objectif de l'étude était d'examiner l'efficacité des huiles essentielles comme agents

de conservation naturels pour la sardine. Pour ce faire, la souche de *Staphylococcus aureus* ATCC44300 a été choisie comme microorganisme d'intérêt, car il est couramment associé à la détérioration des produits alimentaires.

Le protocole expérimental comprenait l'application des huiles essentielles sur les échantillons de sardine, suivie d'une évaluation de leur effet bio-conservateur. Des mesures de croissance bactérienne, et d'altération sensorielle ont été réalisées pour déterminer l'efficacité des huiles essentielles dans la préservation de la sardine.

IV.1.-Echantillonnage

500 g de sardine fraîche (poids moyen de 15 g et longueur moyenne de 11 cm/pièce) (Figure 13).ont été achetées de la pêcherie de poissons de la ville d'Ouled Yaïch.



Figure(originale) 13: sardina

Les sardines ont été soigneusement, emballées dans une glacière et transportés à la maison, dans les 30minutes qui suivent. À la maison (cuisine), les échantillons ont été relavés soigneusement à l'eau potable, écaillés, décapités, éviscérés, filetés, relavés immédiatement et égouttés (figure14)



Figure(originale) 14 : Sardine fraiche après nettoyage

IV.2- Inoculation des souches et des huiles essentielles dans la sardine

Pour évaluer l'activité antibactérienne de nos huiles essentielles dans un système piscicole, des échantillons de 50 g de sardine fraîche ont été utilisés. Ces échantillons ont été inoculés avec 50 μL de *S. aureus* à une concentration de 10^6 ufc/g. Par la suite, deux groupes d'échantillons ont été préparés : l'un a été traité avec un volume de 20 μL d'huile essentielle extraite des feuilles de la lavande sauvage, tandis que l'autre a été traité avec un volume de 50 μL de la même huile essentielle. Un échantillon de contrôle non traité ainsi qu'un échantillon de sardine témoin ont également été préparés.

Les échantillons ont été stockés au réfrigérateur à 4°C pendant 7 jours. L'analyse de pH ainsi un dénombrement microbiologique des échantillons ont été effectués au 3^{ème} jour et 7^{ème} jour du stockage.

IV.3- Dénombrement de *S. aureus*

Dans le but d'évaluer l'effet des huiles essentielles extraites des feuilles de *Lavandula stoechas* sur la sardine inoculée avec la bactérie *Staphylococcus aureus*, des analyses microbiologiques ont été réalisées pour suivre la croissance bactérienne en présence des huiles essentielles à deux volumes différents (20 μL et 50 μL). Les échantillons ont été prélevés aux jours 3 et 7 de l'expérience. Pour cela, 10 g de sardine ont été prélevés de chaque échantillon et placés dans 90 ml de milieu TSE, puis soigneusement mélangés. Des dilutions décimales ont été préparées à partir de la solution mère en effectuant des dilutions de 1 ml dans 9 ml de milieu TSE : 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} . Les résultats sont présentés dans les figures 15 et 16.

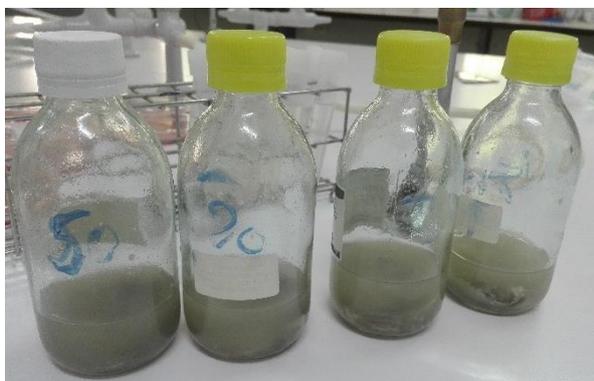


Figure 15 : suspension primaire 10^{-1}



Figure 16: préparation des suspensions 10^{-2} et 10^{-3}

L'ensemencement de 1ml de la solution mère et ses dilutions est effectué dans des boites de Pétri contenant environ 15 ml de gélose sélective (Chapman). Incubation à 37°C pendant 24 heures. (figure 17) On fait la lecture après 24 heures.

1 ml de l'une des solutions 10^{-1} 10^{-2} ou 10^{-3}

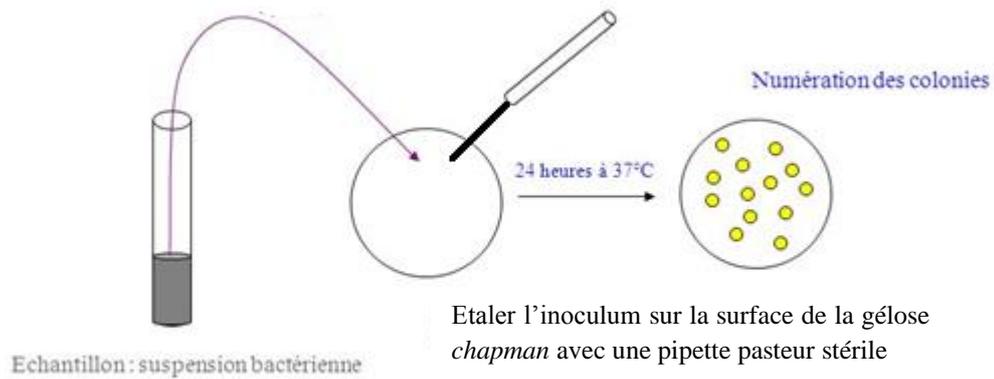


Figure 17 : dénombrement de *staphylococcus aureus*

La lecture est réalisée par comptage direct des colonies caractéristiques pour l'espèce et le dénombrement est exprimé en log UFC/g.

IV.4- pH

La détermination du pH est faite à l'aide d'un pH-mètre (OHAUS) présenté dans la figure 18. La mesure s'effectue en introduisant l'électrode dans une solution contenant 10g de chaque échantillon homogénéisés avec 10 mL d'eau distillée pendant 5 min par l'utilisation d'un agitateur afin de former une bouillie épaisse (AOAC, 2000).



Figure (originale) 18 : pH mètre

Partie III : Résultats et Discussion

Dans ce dernier chapitre, nous présenterons les résultats des expérimentations que nous avons menées lors de notre étude comparative entre deux huiles essentielles extraites des feuilles et des fleurs de *Lavandula stoechas* par hydrodistillation type clevenger et analysées par différentes méthodes physicochimiques et biologiques pour déterminer leurs compositions chimiques ainsi que sur leurs activité antimicrobiennes. Ces résultats y seront également discutés et comparés avec ceux de la littérature.

III.1.-Rendement d'extraction

Les taux de rendement des huiles essentielles extraites des fleurs et des feuilles de *Lavandula stoechas* sont respectivement de 0,67 % et 1,24 %. Ces rendements sont comparables à ceux signalés dans d'autres études portant sur *Lavandula stoechas*. En **2012**, **Benabdelkader** a observé des rendements d'huiles essentielles allant de 0,34 % à 1,63 % pour 11 populations sauvages de *Lavandula stoechas* dans la région nord de l'Algérie, obtenus par hydrodistillation. De plus, les travaux de **Barhouchi** en **2019** ont révélé des rendements d'huiles essentielles de 0,75 % pour les feuilles et de 0,6 % pour les fleurs de cette même espèce. Par ailleurs, **Inan et al.**, en **2013** en Turquie ont obtenu un rendement de 3,6 % en utilisant l'appareil de Clevenger pour extraire l'huile essentielle des parties aériennes de *Lavandula stoechas*.

III.2.-Caractérisation physico-chimique des huiles essentielles

III.2.1.- Caractérisation organoleptiques des huiles essentielles

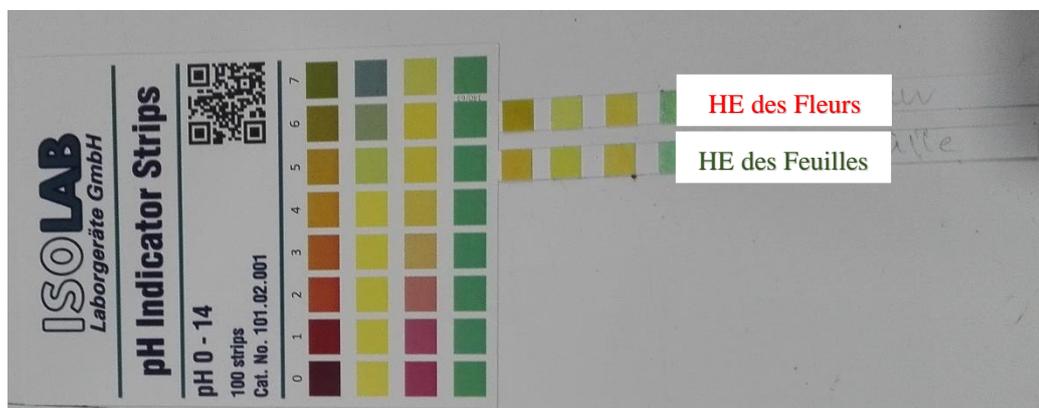
La détermination des propriétés organoleptiques est une étape nécessaire de vérification et de contrôle de la qualité d'huile essentielle. Les propriétés organoleptiques de nos échantillons sont colligées dans le Tableau 2. Ces paramètres sont en accord avec le travail d'**Amara et al.**, **2017** et qui sont en accord avec celles énumérées par la norme **AFNOR (2000)**

Tableau 2. Les propriétés organoleptiques des HEs des feuilles et fleurs de la lavande

Paramètre	HE des fleurs	HE des feuilles	 <p>Fig(original) 19: HE de <i>lavandula.stoechas</i></p>
Aspect	liquide limpide.	liquide limpide.	
Couleur	jaune pâle.	jaune pâle.	
Odeur	une odeur âcre	une odeur âcre	

III.2.2- pH d'huile essentielle

Les huiles essentielles des fleurs et des feuilles de *Lavandula stoechas* ont des valeurs de pH relativement acides. L'huile essentielle des fleurs a un pH de 6, tandis que celle des feuilles a un pH de 5. (figure 20)



Figure(originale) 20 : pH des HEs des fleurs et des feuilles de *lavandula stoechas* .L

Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant dans les réactions chimiques et biochimiques et il peut influencer sur les propriétés de stabilisation d'une huile essentielle (effets antioxydant et antimicrobien). Par conséquent, ce résultat peut conduire à conclure que nos huiles ont un bon caractère stabilisateur contre les microorganismes (**Mahboub et al ., 2019**), cela permettra éventuellement d'utiliser ces HEs en qualité de conservateurs dans les produits alimentaires.

III.2.3- Résultat d'analyse par spectrométrie IRTF

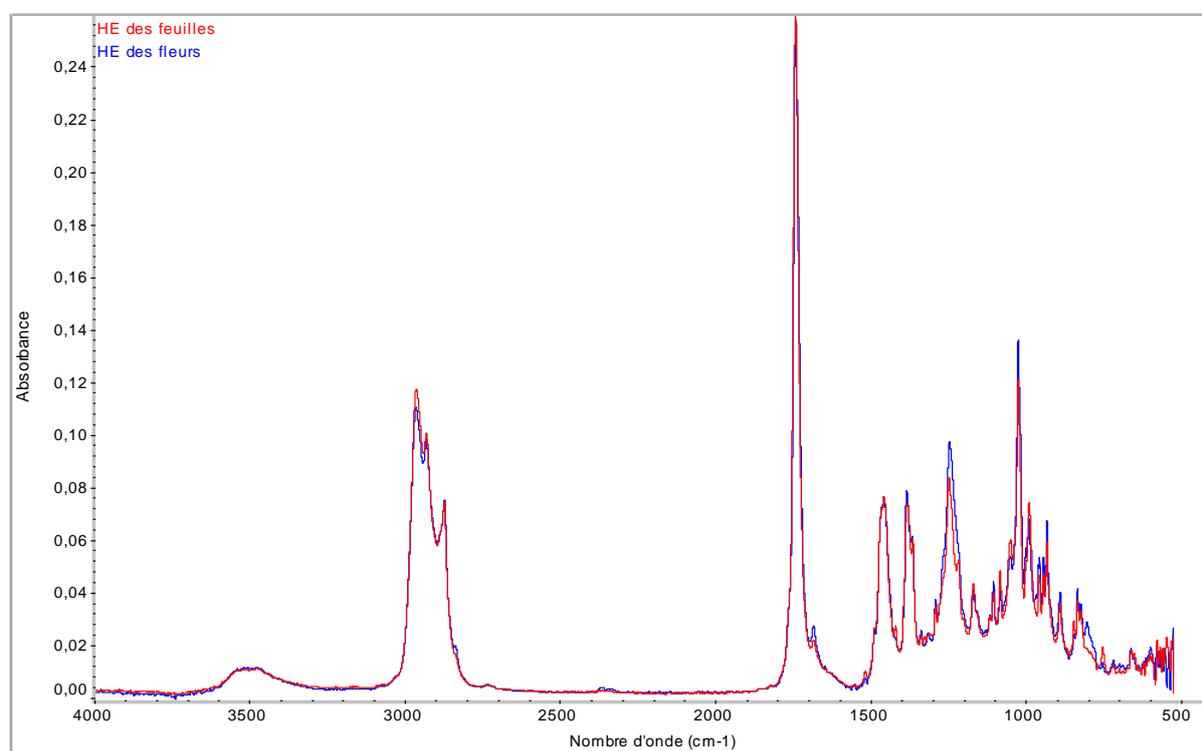
Pour mettre en évidence les différents groupements fonctionnels présents dans les huiles essentielles extraites des parties aériennes de la lavande *stoechas*, à savoir les feuilles et les fleurs, nous avons utilisé la spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF). Cette méthode d'analyse est reconnue pour sa rapidité, sa simplicité et sa précision.

Le spectre infrarouge obtenu présente une série de fines bandes d'absorption, dont la largeur peut varier. En analysant ces bandes d'absorption, nous pouvons déduire la présence de différents groupement chimique tell que des alcènes, alcynes, alcanes, groupes hydroxyle (alcool), cétones, aldéhydes, esters, éthers, acides carboxyliques, amines, et bien d'autres encore. La position et l'intensité des bandes d'absorption dans le spectre infrarouge fournissent des informations précieuses sur la composition chimique des huiles essentielles. ([Mendham](#) et [Toullec 2015](#))

L'étude de trois grands domaines du spectre permet de repérer les groupements fonctionnels importants suivants :

- La région $4000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ contient les bandes de vibration longitudinale des principaux groupements C-H, O-H, C=O, N-H. Pour O-H et N-H, on observe souvent des bandes plus ou moins larges en raison de l'existence de liaison hydrogène.
- La région $1500 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ contient entre autre, la bande d'étirement longitudinal de la liaison C-O. C'est par ailleurs, une zone appelée « empreinte digitale » car on y trouve de nombreuses absorptions correspondant aux déformations angulaires de la molécule.
- La région $1000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ correspond aux déformations angulaires des liaisons C-H des composés éthyléniques et des cycles aromatiques.

Les spectres des huiles essentielles des fleurs et des feuilles de *Lavandula stoechas L.* sont quasiment superposés (figure 21).



Figure(originale) 21. Spectres IRTF des HEs des feuilles (en rouge) et des fleurs (en bleu) de la lavande.

La large bande d'absorption comprise entre $3600 - 3400 \text{ cm}^{-1}$ correspond aux vibrations d'élongation des groupes hydroxyles O-H (carboxyles, phénols ou alcools).

Entre 2961 et 2860 cm^{-1} les bandes intenses des vibrations d'élongation qui correspondent aux vibrations de C-H asymétriques et symétriques des chaînes alkyles latérales.

Les pics intenses à environ 1739 cm^{-1} dans les deux spectres d'HE des fleurs et des feuilles de la lavande indiquent la présence de la fonction ester.(figure 22).

Entre 1456 et 1377 cm^{-1} une bande intense des vibrations d'élongation qui correspondent aux vibrations d'étirage C–C ce qui indique l'augmentation de l'aromaticité des carbones (cycle aromatiques benzénique), alors qu'une bande faible est constatée à 1680 cm^{-1} traduit probablement la présence des alcènes de terpènes.

L'apparition des bandes vers 1243 cm^{-1} sont attribuée aux vibrations d'élongation des groupes C=O des cétones, aldéhydes, lactones ou des groupes carboxyliques. Les bandes comprises entre 1380 et 1020 cm^{-1} sont assignées aux vibrations des liaisons C–O.

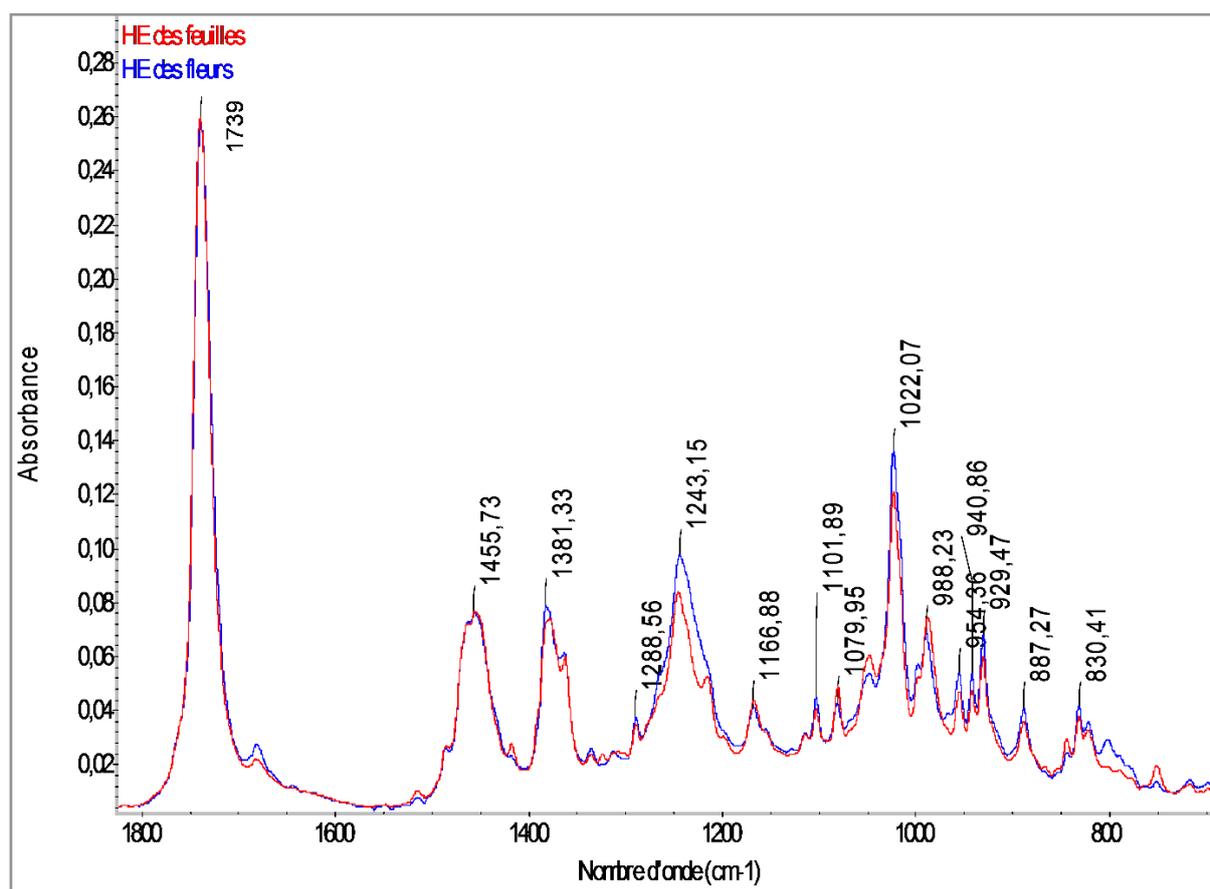


Figure (originale) 22. Spectres IRTF caractéristiques des HEs des feuilles (en rouge) et des fleurs (en bleu) de la lavande dans la région empreinte $1800\text{-}700\text{ cm}^{-1}$.

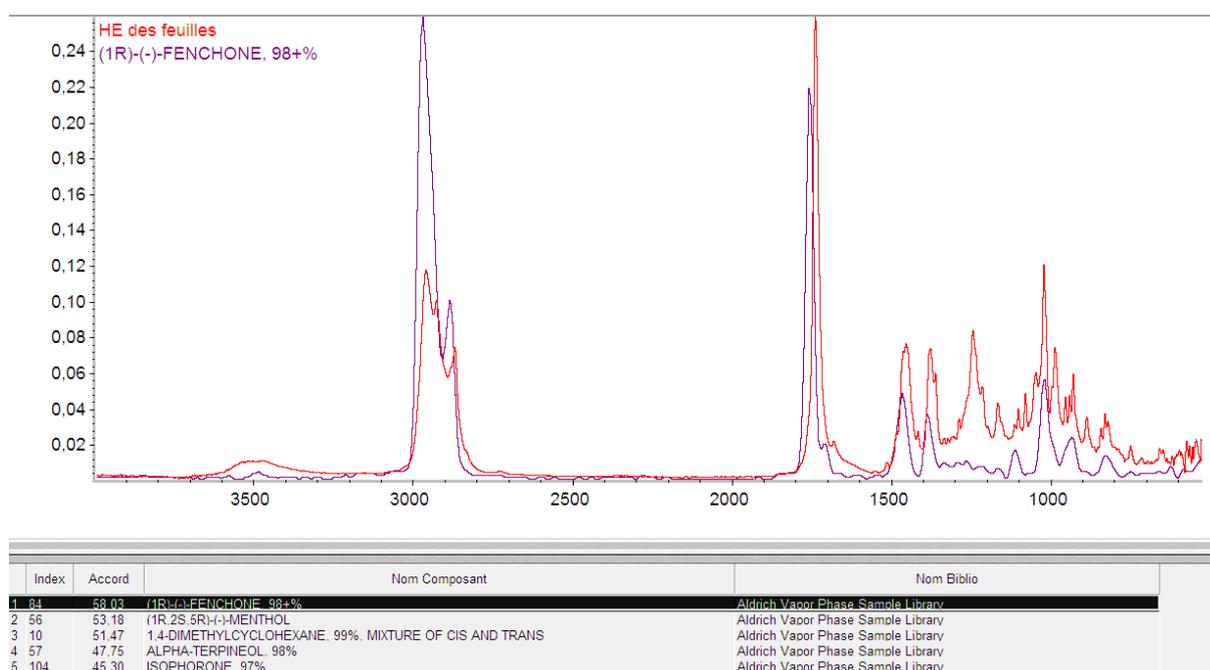


Figure (originale) 23. Résultat de la recherche spectrale appliquée sur une région réduite du spectre d'HE extraite des feuilles de *lavandula stoechas* (couleur rouge).

L'utilisation de la recherche spectrale sur le logiciel OMNIC permet d'identifier les spectres des composés inconnus en les comparant aux spectres inclus dans les bibliothèques du logiciel, comme illustré dans la figure 23. Lors de l'analyse du spectre de l'huile essentielle extraite des feuilles de *lavandula stoechas*, une corrélation de 58% a été observée avec le spectre de (1R)-(-)-Fenchone, qui est répertorié dans la bibliothèque "Aldrich vapor phase sample library". Par conséquent, on peut considérer que le (1R)-(-)-Fenchone est le constituant principal de l'huile essentielle de cette plante.

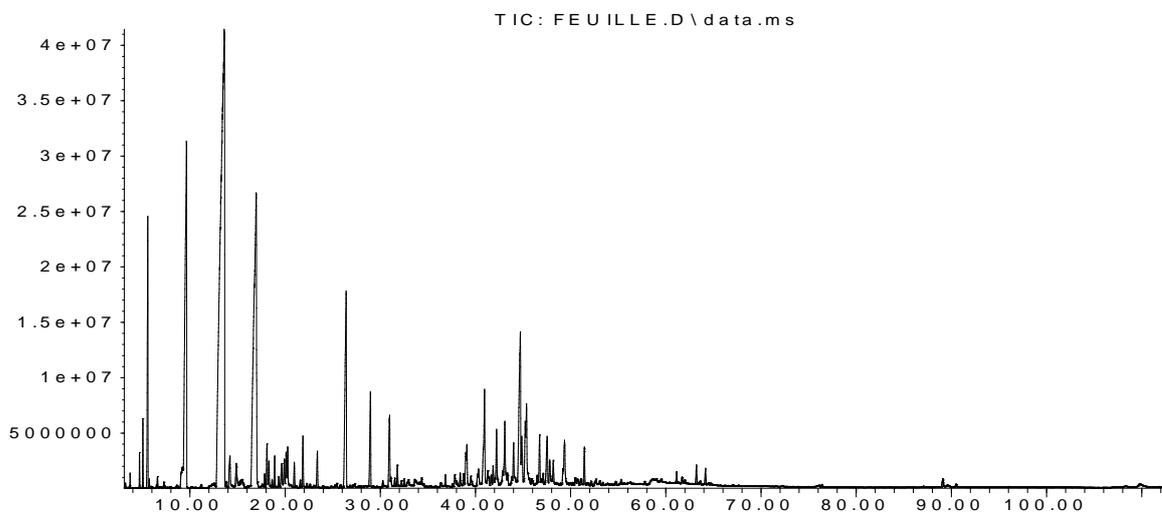
III.2.4. Résultat d'analyses chimique par GC/MS

Les résultats de l'analyse chromatographique par CG/SM de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*, permettant de déterminer sa composition chimique en fonction du temps de rétention et de la teneur en composés volatils, sont présentés dans le spectre illustré sur la figure 24 pour l'huile essentielle extraite des feuilles et sur la figure 25 pour celle extraite des fleurs. Les tableaux 3 et 4 répertorient les composés présents dans les deux huiles essentielles respectivement, avec une teneur supérieure à 1%, classés selon l'ordre décroissant de leur concentration, mettant en évidence les composés majoritaires.

Ces tableaux fournissent les principaux composés présents dans chaque huile essentielle, qui contribuent le plus à leur composition chimique globale.

Il est important de souligner que la composition des huiles essentielles peut varier entre l'extraction des feuilles et celle des fleurs, ce qui se reflète dans les différences observées tant au niveau des profils chromatographiques que des tableaux de composition.

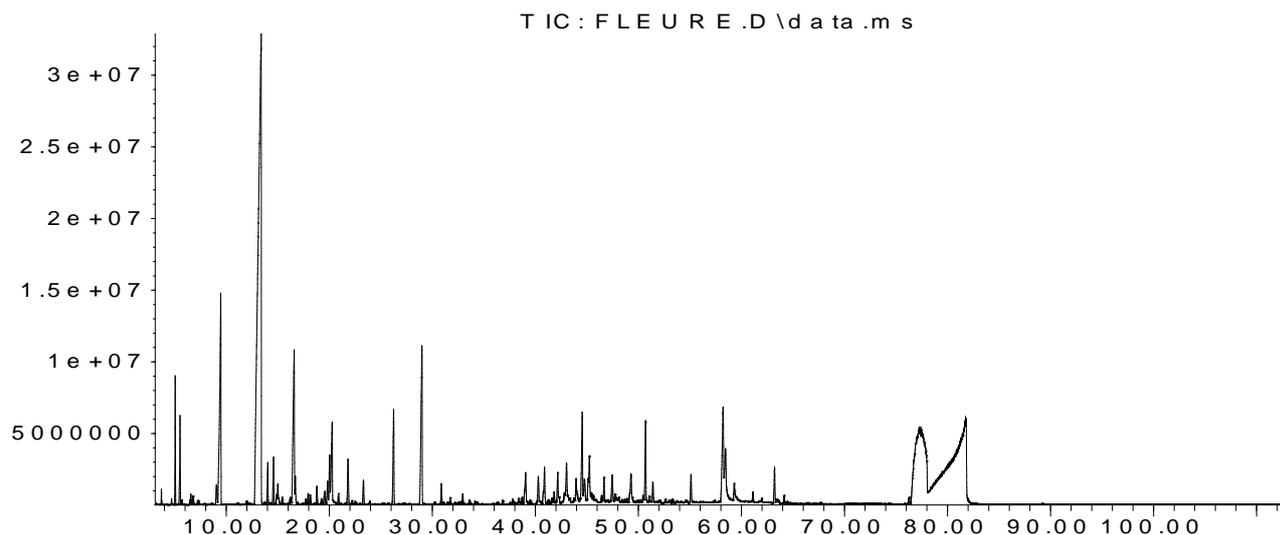
Abundance



Time-->

Figure (originale) 24. Profil chromatographique d'huile essentielle des feuilles de *Lavandula stoechas*

Abundance



Time-->

Figure (originale) 25. Profil chromatographique d'huile essentielle des fleurs de *Lavandula stoechas*

Tableau 3. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Lavandula stoechas*. Lpar CG-SM.

N	Composant d'HE des feuilles de lavandula stoechas	Pourcentage
16/58		
1	L-Fenchone	33.24
2	Camphre	14.56
3	1,8-Cineole	10.63
4	Viridiflorol	5.33
5	Camphene	2.92
6	γ -Muuroolene	2.85
7	β -Cadinene	2.24
8	(cis)- α -Copaene-8-ol	2.08
9	Myrtenol	1.67
10	p-Cymene	1.59
11	Eugenol	1.52
12	4-Diethyl-7,7-dimethyl-1,3,5-cycloheptatriene	1.48
13	Germacrene D	1.42
14	τ -Muurolol	1.19
15	Oxyde de caryophyllene	1.15
16	Borneol	1.04

Tableau 4. Composition chimique de l'huile essentielle des fleurs de *Lavandula stoechas* par CG-SM.

N	Composé Fleur de <i>lavandula stoechas</i>	Pourcentage
18/49		
1	D-(+)-Fenchone	39.33
2	1,8-Cineole	7.22
3	(-)-Camphre	6.36
4	p-Cymene	5.22
5	Myrtenol	4.62
6	Veridiflorol	3.82
7	α -Pinene	2.98
8	1-Phenylbicyclo[3.3.1]nonane	2.36
9	l-Acétate de bornyle	2.30
10	Aromadendrene	2.22
11	γ -Cadinene	1.98
12	(cis)- α -Copaene-8-ol	1.32
13	β -Cubebene	1.26
14	Oxyde de caryophyllene	1.25
15	Acétate de Fenchyl	1.24
16	δ -Cadinene	1.15
17	D-Fenchol	1.09
18	1,3,8-p-Menthatriene	1.07

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) a révélé la présence de 58 constituants dans l'huile essentielle des feuilles et 49 constituants dans l'huile essentielle des fleurs (voir annexe 1). Les tableaux 2 et 3 mettent en évidence la richesse des huiles essentielles en monoterpènes, avec le Fenchone (33,24% dans les feuilles et 39,33% dans les fleurs), le Camphre (14,56% dans les feuilles et 6,36% dans les fleurs) et le 1.8 Cinéol

(10,63% dans les feuilles et 7,22% dans les fleurs) en tant que composants majeurs. Les sesquiterpènes constituent la deuxième classe de composés la plus abondante.

Les données présentées pour l'espèce *Lavandula stoechas* sont en accord avec les études antérieures menées par **Angioni et al., (2006)**, qui ont également constaté la présence de composés communs tels que le Fenchone en tant que composé principal (59,48%), le Camphre (15,36%), et une concentration plus élevée d'alpha-Pinène (2,96%). Des résultats similaires ont été rapportés par **Zrira et Benjlali., (2003)** dans leurs travaux sur la composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Lavandula stoechas* marocaine, où le Camphre était présent à hauteur de 18,6%, le Fenchone à 30,5%, et le 1,8-cinéol à 8,6%. Les études menées par **Benabdelkader et al., (2011)** sur les huiles essentielles de onze populations de *Lavandula stoechas* originaires de différentes régions d'Algérie ont révélé que le Fenchone (2 ; 11,27 - 37,48 %) et le Camphre (3 ; 1,94 - 21,8 %) étaient les composés les plus abondants, avec une concentration notable en 1,8-cinéol (1 ; 0,16 - 8,71%).

De même, selon **Tzakou et al., (2009)**, les échantillons d'huile de *Lavandula stoechas* se caractérisent par la prédominance du Fenchone et/ou du Camphre, représentant respectivement 64,1% et 47,3% des huiles. Ces études considèrent les huiles analysées comme appartenant au chémotype Fenchone-Camphre. En Turquie, des résultats très différents ont été observés. Dans une étude menée par **Dadalioglu et Evrendilek., (2004)**, le Camphre (48%) et le Fenchone (30,5%) ont été identifiés comme les composés majoritaires dans l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*. Cette composition diffère considérablement des résultats obtenus dans d'autres régions.

De plus, une étude réalisée par **Gören et al.** a révélé la présence d'un chémotype particulier de *Lavandula stoechas* en Turquie. Ce chémotype était caractérisé par la dominance de la Pulégone (40,37%), de l'hexahydro-thymol (menthol) (18,09%) et de la Menthone (12,57%) (**Gören et al., 2002**). Ces résultats montrent encore une fois la variation significative de la composition chimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* en fonction de la région géographique.

L'étude comparative entre l'huile essentielle des feuilles et l'huile essentielle des fleurs de lavande sauvage a révélé des différences remarquables dans leur composition. L'huile essentielle des feuilles présente une concentration plus élevée en Viridifrol (5,33%) par rapport à l'huile essentielle des fleurs (3,82%). Les autres composés majeurs dans l'huile essentielle des fleurs sont le p-Cymène (5,22%) et le Myrtenol (4,62%). Le reste des composés trouvés dans les deux huiles essentielles sont présents à des taux inférieurs à 3%. Sur le plan biochimique, les monoterpènes oxygénés, tels que les alcools et leurs esters, représentent la famille la plus abondante, constituant plus de 70% de la composition chimique totale des huiles essentielles. (**Amara et al., 2007**)

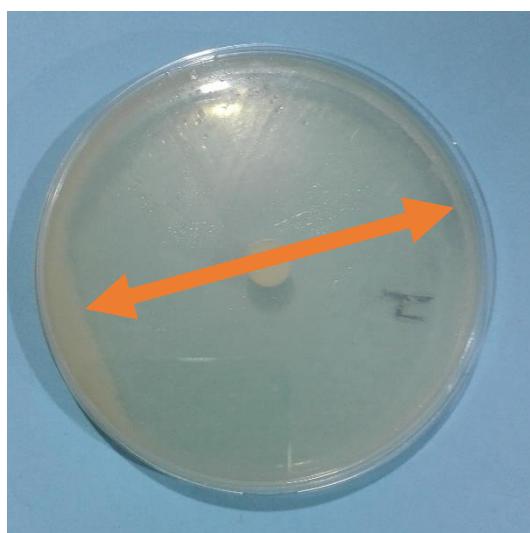
III.3.- Activités Biologique

III.3.1- Activité antimicrobienne

Nous avons examiné dans cette partie l'efficacité antimicrobienne de l'huile essentielle de la lavandesauvage extraite à partir des feuilles et des fleurs. Il est intéressant de noter que les performances des deux huiles essentielles diffèrent selon les micro-organismes ciblés (tableau 5).

Tableau 5. les zones d'inhibitions antimicrobien des feuilles et fleurs de *lavandula stoechas*

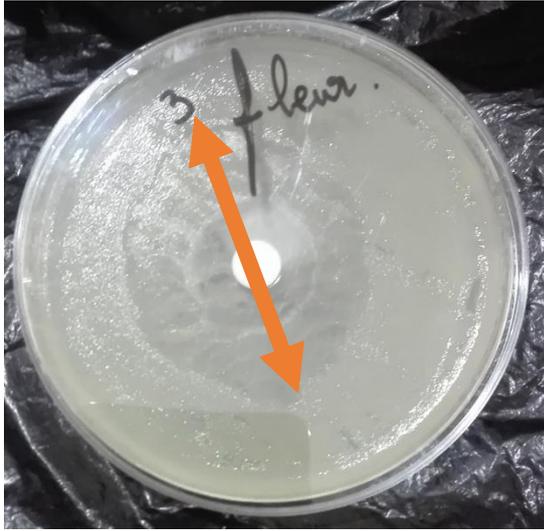
Souche		Zone d'inhibition en mm (HE des Feuilles)	Zone d'inhibition en mm (HE des Fleurs)
Gram +	<i>Bacillus subtilis</i>	Sensible:17mm	Sensible:13mm
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sensible:30mm	Sensible:35 mm
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Sensible:74mm	Sensible:68mm
Gram -	<i>Eschirichia coli</i>	Résistant	Résistant
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistant	Résistant
	<i>Salmonella abonyatcc</i>	Résistant	Résistant
levure	<i>Candida albicans</i>	Sensible :15mm	Sensible: 22mm



Figure(originale) 26 : Zone d'inhibition d'HE des feuilles sur



Figure (originale) 27 : Zone d'inhibition d'HE des fleurs sur *listeria monocytogene*



Figure(originale) 28 : Zone d'inhibition d'HE



Figure (originale) 29 : Zone d'inhibition d'HE



Figure(originale) 30 : Zone d'inhibition d'HE



Figure(originale) 31 : Zone d'inhibition d'HE

Les résultats obtenus à partir de la méthode de diffusion en milieu gélosé mettent en évidence une activité plus prononcée de l'huile essentielle des fleurs vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (35 mm) et *Candida albicans* (22 mm), tandis que l'huile essentielle des feuilles a généré des zones d'inhibition de (30 mm) et (15 mm) respectivement. Toutefois, il est important de souligner que l'huile essentielle des feuilles s'est montrée plus efficace contre *Bacillus subtilis* et *Listeria monocytogenes* avec des zones d'inhibition de 17 mm et 74 mm, comparée à l'huile essentielle des fleurs qui a produit des zones d'inhibition de 13 mm et 68 mm respectivement.

La variation des zones d'inhibition observée pourrait être attribuée à la souche microbienne testée ainsi qu'à la composition chimique différente de la partie de la plante utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle. En effet, les huiles essentielles des différentes parties de la plante, telles que les feuilles et les fleurs, sont composées de différents composés volatils, tels que les terpènes, les alcools et les esters, qui sont responsables de leurs propriétés antimicrobiennes. Par conséquent, ces variations dans la composition chimique de l'huile essentielle peuvent expliquer les différences d'activité antimicrobienne observées entre les parties de la plante. Plusieurs études ont montré que les composants bioactifs des huiles essentielles de lavande, tels que le fenchone et le camphre, peuvent présenter des activités antimicrobiennes significatives contre plusieurs souches bactériennes et fongiques **Amara et al 2017**.

Dans le cas de *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, l'huile essentielle des fleurs a montré une activité plus prononcée. Cela pourrait être expliqué par la présence de composés spécifiques dans l'huile essentielle des fleurs qui sont plus efficaces contre ces micro-organismes.

D'autre part, l'huile essentielle des feuilles a montré une activité plus élevée contre *Bacillus subtilis* et *Listeria monocytogenes*. Cela pourrait être attribué à la présence de composés spécifiques dans l'huile essentielle des feuilles qui sont plus efficaces contre ces souches bactériennes.

En conclusion, l'huile essentielle de lavande sauvage, qu'elle soit extraite des feuilles ou des fleurs, peuvent contenir des composés spécifiques qui leur confèrent des activités antimicrobiennes différentes. Cependant, les performances varient en fonction du micro-organisme ciblé.

Les résultats obtenus suggèrent que l'huile essentielle de lavande sauvage pourrait représenter un agent antimicrobien potentiel contre ces différentes souches bactériennes et fongique.

L'évaluation de cette activité confirme que l'huile essentielle de la *Lavandula stoechas* a un pouvoir très important contre les souches étudiées avec des diamètres des zones d'inhibition (ZI) significatifs. Donc elle possède un grand potentiel pour la lutte contre les bactéries Gram (+) (spécialement *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogènes*), ainsi que les levures représentées par le *Candida albicans*, contrairement aux bactéries Gram (-) qui sont résistants.

Les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries gram positives grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides(LPS) la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (CRISTIANI *et al.*, 2007).

Beaucoup de chercheurs ont confirmé la présence de l'activité antifongique des métabolites terpéniques des lavandes. Nos résultats sont en concordance avec ceux de plusieurs travaux antérieurs (Lis-Balchin, 2002 ; Zuzarte *et al.*, 2013). Le mécanisme d'action des extraits aromatiques sur les souches fongiques n'a pas été totalement élucidé. Cependant, certaines études soulignent que l'action antifongique de ces substances terpéniques est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (Cox *et al.*, 2000)

III.3.2.-Activité antioxydant d'huile essentielle

Les résultats de notre étude ont révélé que l'huile essentielle de lavande sauvage présente une activité antioxydante moyenne, avec une EC₅₀ de 2,7 mg/mL pour l'huile essentielle des fleurs et de 1,2 mg/mL pour l'huile essentielle des feuilles. L'EC₅₀ représente la concentration à laquelle l'activité antioxydante est réduite de moitié. (figure 33,34)

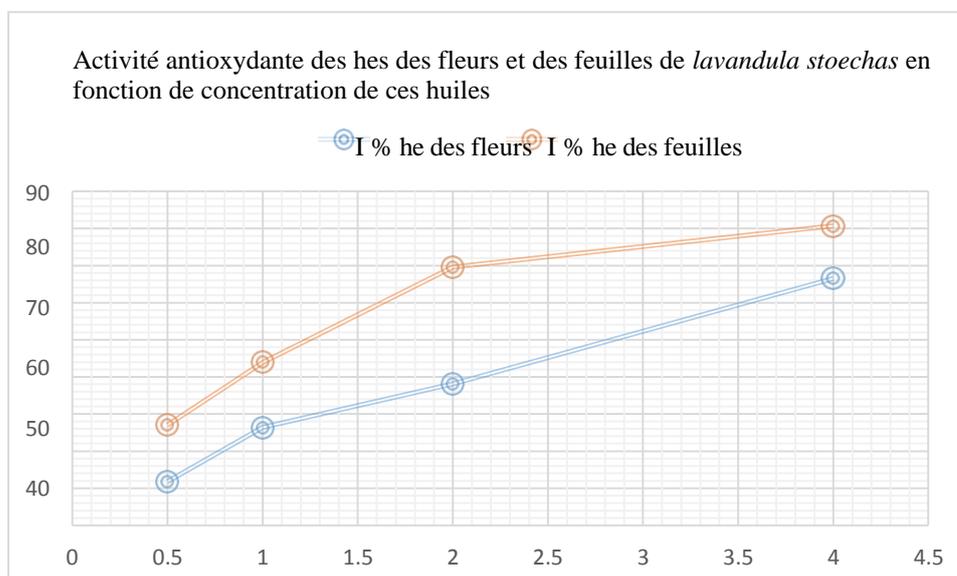


Figure 32: Activité antioxydante des hes des fleurs et des feuilles de *lavandula stoechas* en fonction de concentration de ces huiles



Figure(originale) 33: changement de coloration de l'activité antioxydante en fonction de la concentration d'HE des fleurs de *lavandula stoechas*

Les résultats suggèrent que l'huile essentielle de lavande sauvage présente une capacité certaine à neutraliser les radicaux libres et à prévenir les dommages causés par l'oxydation. Il est important de noter que cette activité antioxydante est attribuable à la présence de divers composés bioactifs tels que les terpènes et les phénols. Ces composés agissent en tant qu'antioxydants en neutralisant les espèces réactives de l'oxygène et en inhibant les réactions d'oxydation. **Mohammedi et al. , 2011**

En outre, il est intéressant de noter que l'huile essentielle des feuilles présente une EC_{50} inférieure à celle de l'huile essentielle des fleurs, indiquant ainsi une activité antioxydante plus forte. Ceci peut être dû à la présence de composés phénoliques différents et/ou en plus grande quantité dans les feuilles par rapport aux fleurs.

En conclusion, nos résultats suggèrent que l'huile essentielle de lavande sauvage peut être utilisée comme source d'antioxydants naturels pour diverses applications dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Cependant, des études complémentaires sont nécessaires pour approfondir notre compréhension de l'activité antioxydante de cette huile essentielle et de ses mécanismes d'action.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH• a montré l'existence d'une activité antioxydante de l'huile essentielle de la *lavandula stoechas*. Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de

l'huile essentielle de la lavande.

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH pour l'huile essentielle de la fleur est inférieur à celle de la feuille pour toutes les concentrations utilisées.

Ces résultats montrent que l'huile essentielle de la feuille de *Lavandula stochas* possède une activité antioxydante Plus efficace que celle de la fleur.

Cette Activité est peut être due au camphre qui est un composé majoritaire de l'huile essentielle étudiée (14.56%) et qui possède une forte activité antioxydante. (Svoboda. et Hampson.,1999)

Ce n'est pas uniquement les composés majoritaires des HEs qui sont responsables de cette activité antioxydante, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres. (Sidi Boulouar . et al.,2003)

Cette activité est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle descomposés phénoliques de l'huile essentielle. En présence d'un radical libre DPPH·, l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stableDPPH, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène (Villano et al., 2007)

III.4.- Résultat de l'application d'effet bio-conservateur des huiles essentielles sur la sardine

III.4.1.- Résultat de dénombrement de staphylococcus aureus

Nous avons mené une étude pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles (H.Es) de *Lavandula stoechas* sur la sardine en utilisant deux volumes différents (20 µl et 50 µl). Notre objectif était de déterminer si ces H.Es pouvaient inhiber la croissance de la bactérie *S. aureus*, responsable d'infections alimentaires, lors d'une période de conservation de 7 jours à 4 °C. En surveillant la croissance bactérienne, nous avons évalué l'efficacité des H.Es de lavande sauvage pour inhiber la croissance de *S. aureus* sur les échantillons de sardine. Cette étude fournit des informations importantes sur le potentiel des H.Es de lavande sauvage en tant qu'agents antibactériens naturels pour la préservation des aliments. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Résultats de la recherche et /ou dénombrement *S.aureus* à partir de la sardine

Recherche et /ou denombrement <i>S.aureus</i>	J3	J7
Sardine non traitée	Absence	400UFC
Sardine inoculée de <i>S.aureus</i> (Temoin)	3×10^4 UFC	2×10^5 UFC
20ul HE feuille	3×10^4 UFC	2×10^4 UFC
50ul HE feuille	3200UFC	1500 UFC

Les résultats de la recherche de *S. aureus* le troisième jour sur les échantillons de sardine frais ont révélé une absence totale de cette bactérie. Cela confirme que nos échantillons n'étaient pas contaminés par *S. aureus*, comme indiqué dans la Figure 34

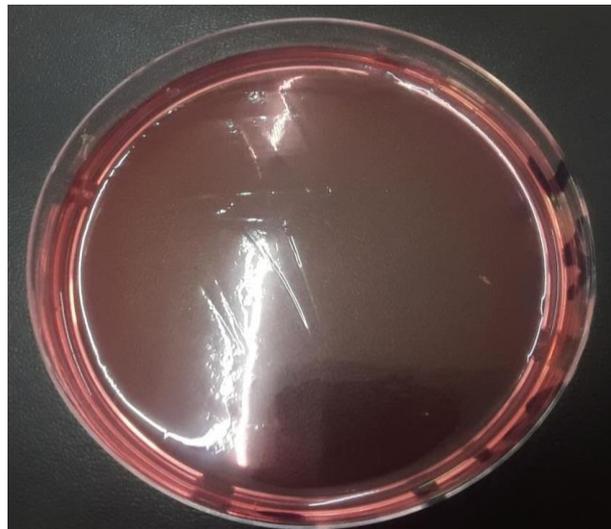


Figure (originale) 34 : culture à staphylococcus aureus à J3 de stockage (Sardine non traitée)

Les résultats obtenus, comme indiqué dans le Tableau 6, révèlent que le nombre de *S. aureus* présent sur la sardine non supplémentée en huiles essentielles (témoin) a augmenté au cours du stockage. Au 3ème jour, la charge bactérienne a atteint 3×10^4 UFC/g, puis a augmenté pour atteindre 2×10^5 UFC/g au 7ème jour. (figure 35)

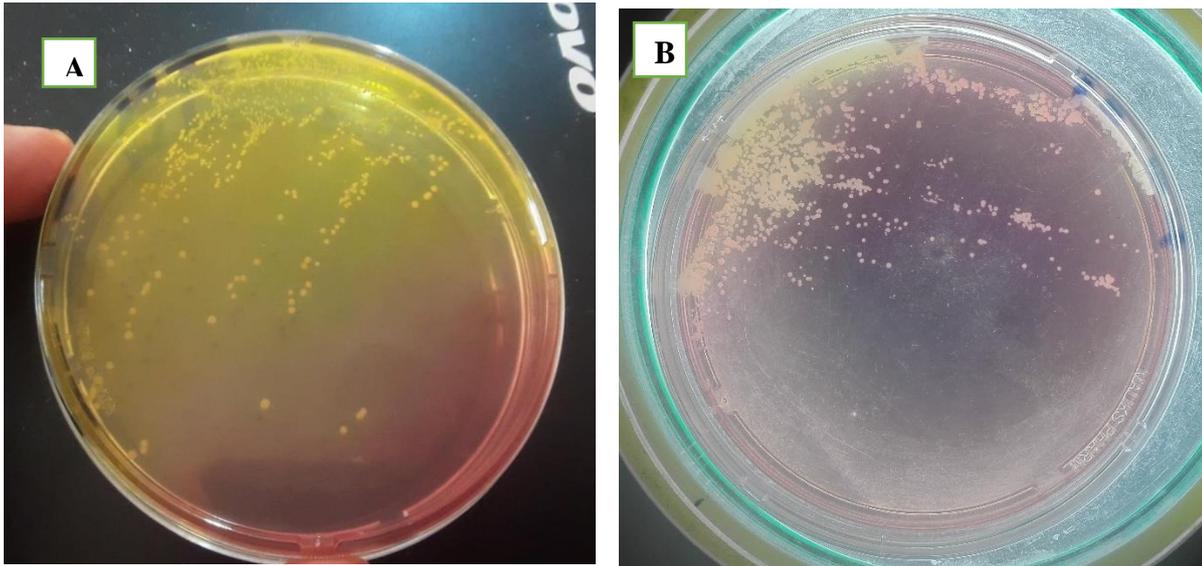


Figure (originale) 35 : culture à staphylococcus aureus à J3 (A) et J7 (B) de stockage Témoin (Sardine inoculée de *S.aureus*)

En revanche, dans les échantillons de sardine supplémentés en huile essentielle (20 μ l et 50 μ l), une diminution de la charge bactérienne a été observée. Au 3^{ème} jour de stockage, la charge bactérienne était de 3×10^4 UFC/g pour l'échantillon avec 20 μ l d'HE et de 3200 UFC/g pour l'échantillon avec 50 μ l d'HE.(figure 36)

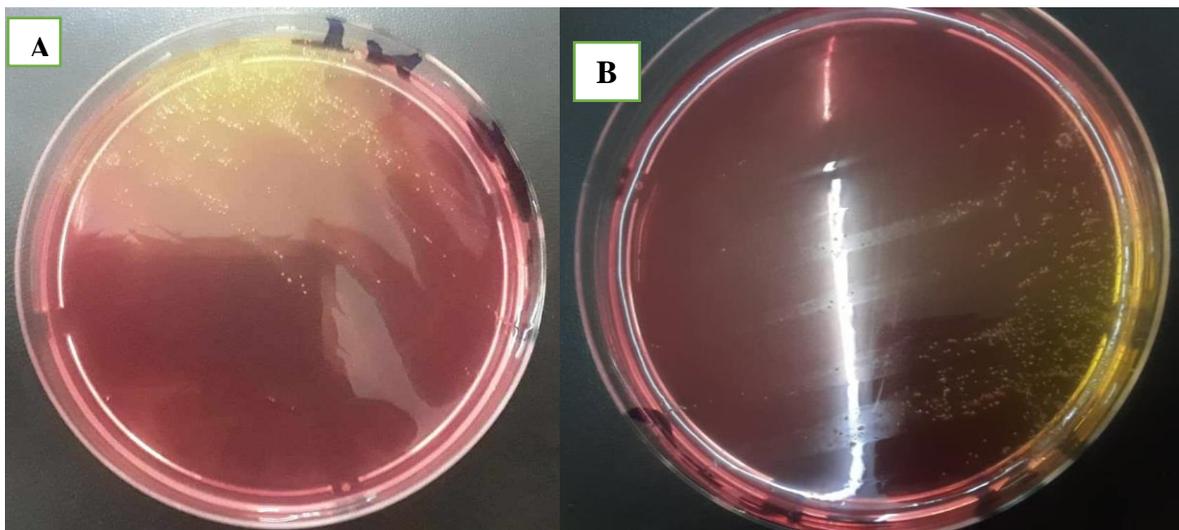


Figure (originale) 36 : culture à staphylococcus aureus à J3 de stockage (Sardine inoculée de *S.aureus* et 20 μ l (A) et 50 μ l (B) d'HE de feuille)

Cette tendance à la baisse s'est poursuivie jusqu'au dernier jour de stockage (7ème jour), avec une charge bactérienne de 2×10^4 UFC/g pour l'échantillon avec 20 µl d'HE et de 1500 UFC/g pour l'échantillon avec 50 µl d'HE.

Les résultats obtenus indiquent que l'application des huiles essentielles (H.E) de *Lavandula stoechas* sur la sardine, à des volumes de 20 µl ou 50 µl, a exercé un effet antibactérien notable par rapport aux échantillons non traités (témoins). Cet effet antibactérien est observé dès le 3ème jour de stockage.

Les résultats confirment que l'H.E extraite des feuilles de *Lavandula stoechas* est active contre la bactérie *S. aureus*. Cependant, l'effet de la concentration utilisée est déterminant. Une application de 20 µl d'H.E de *Lavandula stoechas* a conduit à une légère réduction du développement de *S. aureus* par rapport à l'application de 50 µl d'H.E.

Ces résultats démontrent l'effet inhibiteur des huiles essentielles sur la croissance de *S. aureus* dans les échantillons de sardine. La présence d'huiles essentielles, en particulier à une concentration de 50 µl, a entraîné une réduction significative de la charge bactérienne pendant la période de stockage.

Il est intéressant de noter que les huiles essentielles (H.E) semblent avoir une activité antibactérienne plus marquée "in vitro" que dans la matrice alimentaire. Cette différence d'efficacité peut s'expliquer par la manière dont les H.E se diffusent dans la matrice alimentaire, ainsi que par la variation de composition chimique de chaque H.E (**Hellal et al., 2019**).

Il convient de noter qu'une huile essentielle (H.E) testée expérimentalement "in vitro" peut ne pas produire le même effet dans un produit alimentaire. Généralement, selon **Burt , (2004)**, des concentrations plus élevées sont nécessaires pour obtenir un effet antibactérien significatif dans une matrice alimentaire. Les huiles essentielles ont souvent des odeurs fortes et puissantes, ce qui peut limiter leur utilisation dans les denrées alimentaires. Des études ont également démontré avec succès les applications potentielles des huiles essentielles pour réduire ou contrôler la flore pathogène dans les produits alimentaires (**Mejlholm & Dalgaard, 2002**)

Selon **Djenane , (2015)** les résultats des essais biologiques, ainsi que le profil chimique des HEs, soutiennent la possibilité d'utiliser les HEs de citron et de bergamote comme conservateurs naturel puissante pour contribuer à la réduction de *s.aureus* inoculé expérimentalement dans la sardine.

III.4.2.- Résultat de pH

Le pH joue un rôle crucial dans l'évaluation de l'épuisement des tissus et de la qualité de la chair pendant le stockage.

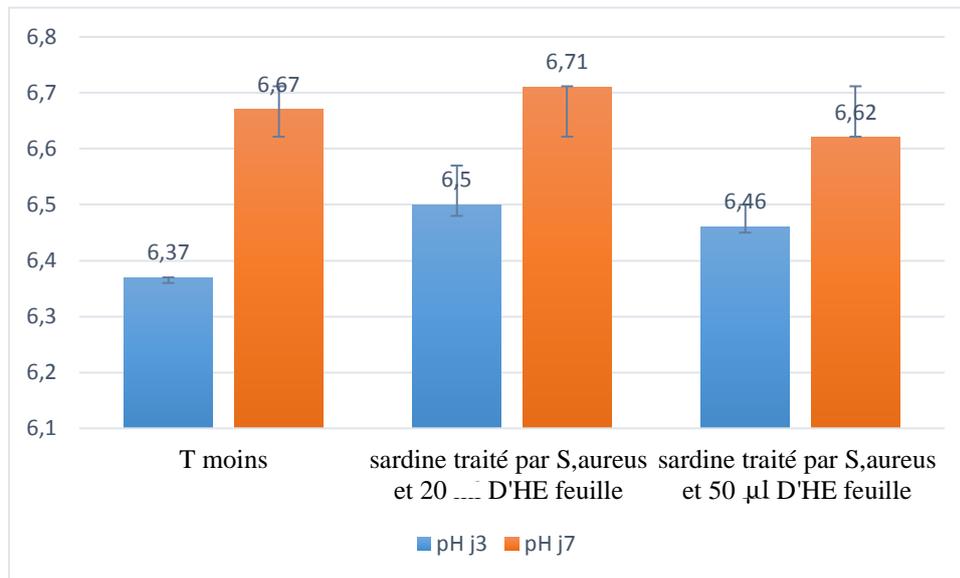


Figure 37 : résultat de pH de la sardine traite par *s. aureus* et l' HE de feuille de *l stoechas* en fonction de durée de stockage à 4 °C

Selon les résultats obtenus dans la figure 39, on observe que la valeur du pH de la sardine trois jours après les traitements, restent stables, avec une valeur de 6,37 pour le groupe témoin. En revanche, pour les sardines inoculées avec *S. aureus* et 20 µl d'huile essentielle, le pH est de 6,50, tandis qu'il est de 6,46 pour celles inoculées avec *S. aureus* et 50 µl d'huile essentielle, au troisième jour de stockage. Ces valeurs augmentent respectivement à 6,67, 6,71 et 6,62 au septième jour de stockage. Les variations du pH ont connu des diminutions et des augmentations légères.

Le pH de notre sardine fraîche le premier jour, qui est de 6,17 (voir annexe x), est conforme à l'étude réalisée par **Dib (2014)**, qui a démontré que le pH du poisson frais se situe généralement autour du pH neutre, variant de 5,5 à 7,1 en fonction de la saison, des espèces et d'autres facteurs..

Alors que **Ndrianaivo et al., (2016)** ont prouves qu'une diminution de pH est principalement due aux microorganismes protéolytiques qui produisent des hydrates de carbones qui sont ensuite fermentés en acides au cours de stockage .

Conclusion

Conclusion

Dans le but de rechercher des alternatives pour la conservation des aliments afin de lutter contre l'oxydation et la contamination par les microorganismes, de nombreuses plantes aromatiques ont été étudiées pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. Plusieurs travaux de recherche se sont concentrés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes.

Ainsi, l'évaluation de ces propriétés est une tâche intéressante et utile, notamment pour trouver de nouvelles sources naturelles d'agents antioxydants et antimicrobiens. Dans ce contexte, notre étude visait à évaluer *in vitro* l'effet de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* sur la conservation de la sardine. Pour cela, nous avons examiné la composition chimique, l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle d'une part, et le potentiel d'hydrogène et l'activité antibactérienne de la sardine d'autre part.

Les résultats de notre étude sur l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*, extraite des feuilles et des fleurs, mettent en évidence les points suivants :

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle des feuilles (1.24%) est supérieur à celui des fleurs (0.67%).

Le potentiel hydrogène (pH) de l'huile essentielle des feuilles (5) est légèrement plus acide que celui des fleurs (6), ce qui influence les propriétés antioxydantes et antibactériennes de l'huile essentielle.

L'huile essentielle des fleurs présente une activité antibactérienne plus prononcée contre *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* par rapport à celle des feuilles. Cependant, l'huile essentielle des feuilles s'est révélée plus efficace contre *Bacillus subtilis* et *Listeria monocytogenes* que celle des fleurs.

L'huile essentielle des feuilles présente une activité antioxydante plus importante que celle des fleurs.

L'application de l'huile essentielle des feuilles de *Lavandula stoechas* sur la sardine n'a pas influencé le pH de la sardine. Cependant, elle a exercé un effet bactéricide contre *Staphylococcus aureus*.

Ces résultats soulignent les différences dans les propriétés et les effets des huiles essentielles extraites des feuilles et des fleurs de *Lavandula stoechas*.

Les résultats de notre étude constituent une première étape dans la valorisation de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* en tant qu'agent conservateur naturel prometteur pour l'industrie agro-alimentaire. La description que nous avons présentée représente une caractérisation globale, mais d'autres études complémentaires sont nécessaires.

Il existe encore de nombreuses perspectives de recherche sur ce sujet :

Approfondir l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* pour mieux comprendre les composants responsables de ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes.

Évaluer l'efficacité de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* comme agent conservateur dans différents produits alimentaires pour déterminer ses applications spécifiques.

Étudier les mécanismes d'action de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* sur les microorganismes pathogènes et les processus d'oxydation, afin de mieux comprendre son mode d'action et son potentiel d'utilisation.

Évaluer l'innocuité et la stabilité de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* lorsqu'elle est utilisée comme agent conservateur, notamment en ce qui concerne les effets sur la qualité sensorielle des aliments.

Explorer les possibilités de combinaison de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* avec d'autres agents conservateurs naturels ou techniques pour améliorer son efficacité et sa compatibilité avec différents types d'aliments.

En poursuivant ces recherches, nous pourrions approfondir notre compréhension des propriétés de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* et explorer davantage son potentiel d'application dans l'industrie alimentaire

Enfin il apparaît important d'apporter des éléments complémentaires permettant d'affiner l'interprétation des résultats obtenus et d'ouvrir de nouvelles pistes de recherche dans ce domaine.

Références

Références

- Abdelli, M., et al. (2016). "Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities." Industrial Crops and Products 94: 197-205
- Amara A., et al (2017) . « Applications potentielles de l'huile essentielle de lavande papillon (*Lavandula stoechas*L.) comme conservateur alimentaire naturel ». Phytothérapie.
- Ambrosio, C. M. S., et al. (2017). "Antimicrobial activity of several essential oils on pathogenic and beneficial bacteria." Industrial Crops and Products 97: 128-136.
- Angioni, A., et al (2006) « Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. »J. Agric. Food Chem. 54, 4364–4370
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists (2000). Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists. 17th Ed. Gaithersburg, M.D, USA.
- Baali, F., et al. (2019). "Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Two Wild Algerian Medicinal Plants: *Mentha pulegium* L. and *Lavandula stoechas* L." Journal of Essential Oil Bearing Plants 22(3): 821-837.
- Baj, T., et al. (2018). "Application of mixture design for optimum antioxidant activity of mixtures of essential oils from *Ocimum basilicum* L., *Origanum majorana* L. and *Rosmarinus officinalis* L." Industrial Crops and Products 115: 52-61.
- Barhouchi , (2019) " Comparative Chemical Profile of *Lavandula stoechas* L.Essential Oils Isolated from Flowers and Leaves Natives to Algeria". Phytothérapie, 175: 240 -248
- Benabdelkader, T. (2011). " Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties". Chem. Biodivers. 8, 937–953
- Bendjersi, F. Z., et al. (2016). "Phytochemical composition of the Algerian *Laurus nobilis* L. leaves extracts obtained by solvent-free microwave extraction and investigation of their antioxidant activity." Journal of Essential Oil Research 28(3): 202-210

Berkel, M.V.B., et al (2005). "La conservation du poisson et de laviande". 2ème édition. Marja de Goffau-Markusse. Pp8-9-27.

Boukhatem et al., (2021): "Topical Emulsion Containing Lavandula stoechas Essential Oils a Therapeutic Agent for Cutaneous" Wound Healing, 4, 288–307

Boutmek K (2011) These de doctorat « Contribution À L'étude Des Procèdes D'extraction Conventionnels Et Innovants Appliqués A La Recuperation De L'huile Essentielle De L'armoise Blanche D'algerie(artemisia Herba Abla) » département de chimie université de Blida 1 p-34

Bougra A 2012 : etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de foeniculum vulgare mill en vue de son utilisation comme conservateur. Mémoire magistaire universiter Mentouri Canstantine

Bouyahya, A., et al. (2017b). "Chemical composition of Mentha pulegium and Rosmarinus officinalis essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities." Microb Pathog **111**: 41-49.

Burt, S. (2004). "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review." Int J Food Microbiol **94**(3): 223-253.

Carrasco, A., et al. (2015). "Lavandula stoechas essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxigenase inhibitory bioactivities." Industrial Crops and Products **73**: 16-27.

Cherrat, L., et al. (2014b). "Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of Mentha pulegium, Lavandula stoechas and Satureja calamintha Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes." Innovative Food Science & Emerging Technologies **22**: 221-229.

Ciqual. (2012). <http://informations nutritionnelles.fr/filets-de-sardines-nature-petit-navire>.

Cox, S. D.,etal.(2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alt ernifolia* (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology, 88(1), 170-175.

Cristiani M., zt al . (2007). " Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity". Journal of Agricultural and Food Chemistry, **55**, 6300-6308.

Dadalioglu et Evrendilek.,(2004): "Compositions chimiques et effets antibactériens des huiles essentielles d'origan turc (*Origanum minutiflorum*), de laurier noble (*Laurus nobilis*), d'Espagne "; *Journal of Medical Microbiology*, Vol 60, N°5.

Dehaut, A. (2014). "Evaluation de la qualité-fraîcheur du poisson par des approches biochimiques (SPME-GC/MS) et moléculaires (qPCR) ". Université de Lille 1 -Sciences et Technologies ; Ecole doctorale SMRE, Français. 244p.

Deschepper.R(2017) "Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Sciences pharmaceutiques. "

Dib, A.L. (2014). " Évaluation de la contamination microbienne des produits de la mer. Thèse de Doctorat en Sciences en Hygiène et Sécurité Alimentaire. " Université Constantine I Institut des Sciences Vétérinaires, Constantine. 280p

Djenane.D(2015) : "Profil chimique, activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles d'agrumes d'Algérie et leur application dans la Sardine pichardus, Article de la Revue Nutrition", Laboratoire de contrôle et sécurité alimentaire ; Département de science alimentaire, Université Mouloud Maamri

Ed-Dra, A., et al. (2020). "Chemical composition, antioxidant capacity and antibacterial action of five Moroccan essential oils against *Listeria monocytogenes* and different serotypes of *Salmonella enterica*." *Microb Pathog* 149: 104510.

Estevez, M. and R. Cava (2006). "Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters." *Meat Sci* 72(2): 348-355.

Eymard S. (2003). "Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation de chinchard (*Trachurus trachurus*), choix des procédés. " Thèse de Doctorat en Génie des procédés (Ecole Doctorale en Génie des Procédés : Spécialité Biochimie. Nante. France.

-Ez zoubi Y et al (2020) A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L [Clinical Phytoscience](#) volume 6, Article number: 9

Falleh, H., et al. (2020). "Essential oils: A promising eco-friendly food preservative." Food Chem 330: 127268.

Fasseas, M. K., et al. (2008). "Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils." Food Chemistry **106**(3): 1188-1194.

Fernandes, R. (2009). Microbiology handbook fish and seafood. Leather head food international. Pp 35-270.

Genot C et al . (2003). "Protein alteration due to lipid oxidation in multiphase systems. In lipid oxidation pathways". KAMAI- ELDIN A. (ED). *AOACS Press Champig.*, 265-292.

GHESTEM A., SEGUINE E., Paris M. et ORECCHIONI A.M., (2001) - Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, Paris.

Göksen, G., et al. (2020). "Phytochemical-loaded electrospun nanofibers as novel active edible films: Characterization and antibacterial efficiency in cheese slices." Food Control 112.

Gören, AC., et al (2002). "The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*". *Z. Für Naturforschung C* 57, 797–800.

Hellal Z(2011) : "Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur lasardine (*Sardina pilchardus*) ". These de magister en biologie :Universite mouloud mammeri de tizi-ouzou

Hossain, F., et al. (2016). "Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food." Food Microbiol **53**(Pt B): 24-30.

Inan et al., (2013) "The effect of lavender essential oils on collagen hydrolysate". Rev Chim 64:1037–42

Khan, S., et al (2017). " Antioxidant properties of garlic essential oil and its use as a natural preservative in processed food". International Journal of Chemical Studies, 5, 813–821.

Kivrak, Ş., et al. (2017). "Assessment of Volatile Oil Composition, Phenolics and Antioxidant Activity of Bay (*Laurus nobilis*) Leaf and Usage in Cosmetic Applications." International Journal of Secondary Metabolite: 148-148.

Laranjo, M., et al. (2017). Use of essential oils in food preservation.

Leduc, F. (2011). "Evaluation de la qualité du poisson frais par des approches chimiques". Thèse-N° Ordre : 40769. Université sciences et technologies. Lille 1, France. 184p.

Lis-Balchin, M. (Ed.). (2002). *Lavender: the genus Lavandula*. CRC press.

Mahboub N et al (2019) : " Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique des huiles essentielles partir de *Cymbopogon schoenanthus* dans la région de ghardaïa", Revue BioRessources, Vol 9, N°2,

Mejlholm O. & Dalgaard P. (2002). "Antimicrobial effect of essential oils on seafood spoilage microorganism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products". Letters in Applied Microbiology, 34, 27-31.

Mendham et al (2015) " Analyse chimique quantitative de Vogel "p 755-758

Mohammedi Zohra et , ATIK Fawzia (2011) " Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L". Nature & Technologie 34-39

Mohd As et al (2016) A Article de revue *lavandula stoechas* (*Ustukhuddus*) : une plante miracle J Innov pharm Biol Sci ;3(1) 96-102

.Ndrianaivo et al., (2016): Stockage des poissons fumés et ou séchés : cas de *Oreochromis niloticus* ; Afrique SCIENCES 12 /254-265

Oliveira Ribeiro, S., et al. (2020). "Antibacterial and Cytotoxic Activities of Ten Commercially Available Essential Oils." Antibiotics (Basel) 9(10)

.

Pateiro, M., et al. (2018). "Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review." Food Res Int 113: 156-166.

Peixoto, L. R., et al. (2017). "Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp." Arch Oral Biol **73**: 179-185.

Petretto, G. L., et al. (2014). "Antimicrobial activity against beneficial microorganisms and chemical composition of essential oil of *Mentha suaveolens* ssp. *insularis* grown in Sardinia." J Food Sci **79**(3): M369-377.

Pokorny J., et al . (2001). "Les antioxydants dans les aliments. Les applications pratiques. Woodhead Publishing limited". CRC Press. Cambridge Angleterre.

Prakash et al., (2015): "Les huiles essentielles végétales comme conservateurs alimentaires pour contrôler les moisissures, la contamination par les mycotoxines et la détérioration oxydative des produits agroalimentaires" - Potentiels et défis ; Journal :Contrôle des aliments, Page 381-391.

Rebickova, K., et al. (2020). "Comparison of Chemical Composition and Biological Properties of Essential Oils Obtained by Hydrodistillation and Steam Distillation of *Laurus nobilis* L." Plant Foods Hum Nutr **75**(4): 495-504.

Refsgrgaard H.H.F., et al . (2000). "Free polyunsaturated fatty acids cause late deterioration of Salmon during frozen storage". Journal of Agricultural and Chemistry, 48, 3280-3285.

Reyes-Jurado, F., et al. (2019). "Antimicrobial activity of Mexican oregano (*Lippia berlandieri*), thyme (*Thymus vulgaris*), and mustard (*Brassica nigra*) essential oils in gaseous phase." Industrial Crops and Products 131: 90-95.

Riabov, P. A., et al. (2020). "The chemical, biological and thermal characteristics and gastronomical perspectives of *Laurus nobilis* essential oil from different geographical origin." Industrial Crops and Products 151.

Sebai, H., et al., (2013). "Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats." *Lipids Health Dis.* 12, 189–197

Sharma, S., et al. (2021a). "Essential oils as additives in active food packaging." Food Chem **343**: 128403

.

Sidhu, K.S. (2003). "Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil." *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 38, 336-344

.

Sidi Boulenouar K. et Ziane A., (2003), " Etude phytochimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. de la région de Tlemcen", Mémoire pour l'obtention du diplôme d'études supérieur en biologie. Option : Biochimie. Faculté des Sciences Université AbouBekr Belkaid-Tlemcen, p. 54.

Svoboda. et Hampson.,(1999): "Bioactivité des huiles essentielles", *Journal Aromatopie*, page 87-93

Tariq, S., et al. (2019). "A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens." Microb Pathog 134: 103580.

Teuscher E., Anton R. Et Lobstein A., (2005) . "Plantes Aromatiques: Epices, Aromates, Condiments Et Huiles Essentielles." Tec Et Doc Editions, Paris

Tzakou et al., (2009), " Essential Oil Composition and Enantiomeric Distribution of Fenchone and Camphor of *Lavandula cariensis* and *L. stoechas* subsp. *stoechas* grown in Greece; " *Sage Journals*

Upson ,T., Andrews ,S., (2004). the Genus Lavandula, Timber Press. ed. Portland

Vilela, J., et al. (2016). "Antimicrobial effect of essential oils of *Laurus nobilis* L. and *Rosmarinus officinallis* L. on shelf-life of minced "Maronesa" beef stored under different packaging conditions." Food Packaging and Shelf Life **8**: 71-80.

Villano et al., (2007): "Capacité de piégeage radicalaire des composes polyphénoliques vis à vis des radicaux libres DPPH, Tome 71, page 230-235

Vincenot F., Saleh M. & Prevost G. (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone des Laboratoires*, 407, 61-69.

Zrira, S., Benjilali, B., (2003). The Constituents of the Oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *Atlantica* Br.-Bl. and *L. stoechas* ssp. *stoechas* from Morocco. *J. Essent. Oil Res.* 15, 68–69.

Zuzarte, M., et al. (2013). "Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils." Industrial Crops and Products **44**: 97-103.

tr	Composes d'HE de Feuille	%
5.5506	Camphene	2,92
6.591	2-β-Pinène	0,14
7.265	1-(2-methyl-1-cyclopente n-1-yl)-Ethanone	0,09
9.597	1,8-Cineole	10,63
12.546	Oxyde de linalyle	0,31
13.581	L-Fenchone	33,24
14.192	L-Linalool	0,72
14.873	Fenchol	0,61
15.255	(trans)-p-Menth-2-en-7-ol	0,14
15.461	m-Cresol	0,30
16,93	Camphor	14,56
17,839	Phenylmethanol	0,17
18,09	Borneol	1,04
18,902	Terpinene-4-ol	0,44
19,319	Acetophenone	0,18
19,639	p-Cymène-8-ol	0,49
20,262	Myrtenol	1,67
20,965	l-Verbenone	0,36
21,868	Acetate de fenchyle	0,36
23,377	Carvone	0,51
26,378	Acetate de bornyle	0,51
28,95	p-Cymene	1,59
30,264	α-Cubebene	0,17
30,956	Eugenol	1,52
31,522	1,5,8-Trimethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene	0,16

31,796	α -Copaene	0,38
32,533	α -Guaiene	0,26
32,962	d-Nerolidol	0,27
33,636	Copaen-4- α -ol	0,46
34,345	(trans)-Caryophyllene	0,21
36,848	(+)-Aromadendrene	0,22
37,837	δ -Cadinene	0,29
38,043	γ -Cadinene	0,11
38,397	β -Selinene	0,25
39,089	Germacrene D	1,42
39,529	α -Muurolene	0,29
40,329	α -Cadinene	0,53
40,941	β -Cadinene	2,24
41,301	Cadina-1,4-iène	0,42
41,855	α -Calacorene	0,54
42,215	1,3-diisopropenyl-6-methyl-Cyclohexene	0,54
43,078	(cis)- α -Copaene-8-ol	2,08
43,999	Oxyde de caryophyllene	1,15
44,679	Veridiflorol	5,33
45,347	γ -Muurolene	2,85
45,93	Tricyclo[4.3.0.07,9]non-3-ene, 2,2,5,5,8,8-hexamethyl-	0,24
46,731	τ -Cadinol	0,98
47,113	(-)- β -Caryophyllene epoxide	0,22
47,519	τ -Muurolol	1,19
47,805	Copaene	0,58
48,177	α -Cadinol	0,48
49,354	,4-Diethyl-7,7-dimethyl-1,3,5-cycloheptatriene	1,48

51,069	Spatulenol	0,18
51,434	Dehydroaromadendrene	0,60
52,669	(2-ethyl-4-methyl-1,3-pentadienyl)-(E)-Benzene	0,30
55,287	Azulene	0,09
58,659	(cis)- α -Copaene-8-ol	0,42
59,007	Valerenal	0,17
64,163	1(7),3,8-o-Menthatriene	0,29
89,099	1-Hydroxymethyl-5,8,9-endo-10-exo-tetramethyltricyclo[6.3.0.0(5,11)]undecane	0,18

Annex 01

Tableau 07: les composés d'HE de feuille de *L.stoechas* en fonction de tr et de %

Tableau 08: les composés d'HE de fleur de *l.stoechas* en fonction de tr et de %

tr	Composés d'HE de fleur	(%)
3,712	1,3-Cyclooctadiene	0,25
5,044	α -Pinene	2,98
6,564	β -Pinene	0,49
9,062	p-Cymene	0,54
9,434	1,8-Cineole	7,21
13,326	D-(+)-Fenchone	39,92
14,023	Linalool	0,91
14,583	D-Fenchol	1,08
15,006	1-Octen-3-ol, acetate	0,76
15,429	2,3,3-Trimethyl-3-cyclopentene acetaldehyde	0,21
16,561	(-)-Camphor	6,35
17,95	l-Borneol	0,24
18,161	2-Hexen-4-yn-1-ol	0,26
18,796	4-Terpineol	0,47
19,544	p-Cymen-8-ol	0,41
20,253	Myrtenol	4,61
20,887	l-Verbenone	0,29
21,819	Acétate de Fenchyl	1,23
23,311	Carvone	0,59
26,231	l-Acétate de bornyle	2,30
28,963	p-Cymene	5,21
30,878	(cis)-Isoeugenol	0,54
31,753	α -Copaene	0,18

32,958	2,6-Octadien-1-ol	0,32
	β -Cubebene	1,25
40,286	β -Patchoulene	0,88
40,88	δ -Cadinene	1,14
41,817	α -Calacorene	0,47
42,166	1,3,8-p-Menthatriene	1,06
43,023	Aromadendrene	2,21
43,955	Oxyde de caryophyllene	1,24
44,538	Veridiflorol	3,81
45,241	γ -Cadinene	1,98
45,435	β -Gurjunene	0,89
46,441	2-Acetyl-6-methoxynaphthalene	0,29
46,664	(+)-Aromadendrene	0,87
47,459	γ -Cadinene	1,04
47,733	Torreyol	0,48
49,276	(cis)- α -Copaene-8-ol	1,31
50,688	1-Phenylbicyclo[3.3.1]nonane	2,36
51,408	Dehydroaromadendrene	0,57
55,106	Benzene, 1-methyl-4-[(1-methylethylidene)cyclopropyl]-	0,68
64,148	Acetate de myrtenyl	0,18

Annex 02

Tableau 9: pH de la sardine au cours du stockage

	Les valeurs de pH		
	J1	J3	J7
Duree de stockage			
Echantillon			
Sardine frai	6.17±0.00	/	/
Temoin(traité par S.aureus	/	6,37±0.01	6,67±0.01
Sardine +S.aureus+20u l d'HE	/	6,50±0.07	6,71±0.02
Sardine +S.aureus+50ul 'HE	/	6,46±0.04	6.62±0.01