

**UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES**



## **Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Appliquée.

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie.

**Filière :** Biologie.

**Spécialité :** Microbiologie appliquée.

**Présenté par:** AIMENE Souhila

HOWASS Amel

## **Thème**

# **Etude rétrospective sur la conservation de la salade par les huiles essentielles**

## **Soutenu**

**Le: 08/10/2020**

### **Devant le jury:**

**Présidente Mme. BEN AISSA A.**

**MCA. UKM Ouargla**

**Promotrice Mme. OULD EL HADJ KHELIL A.**

**Pr. UKM Ouargla**

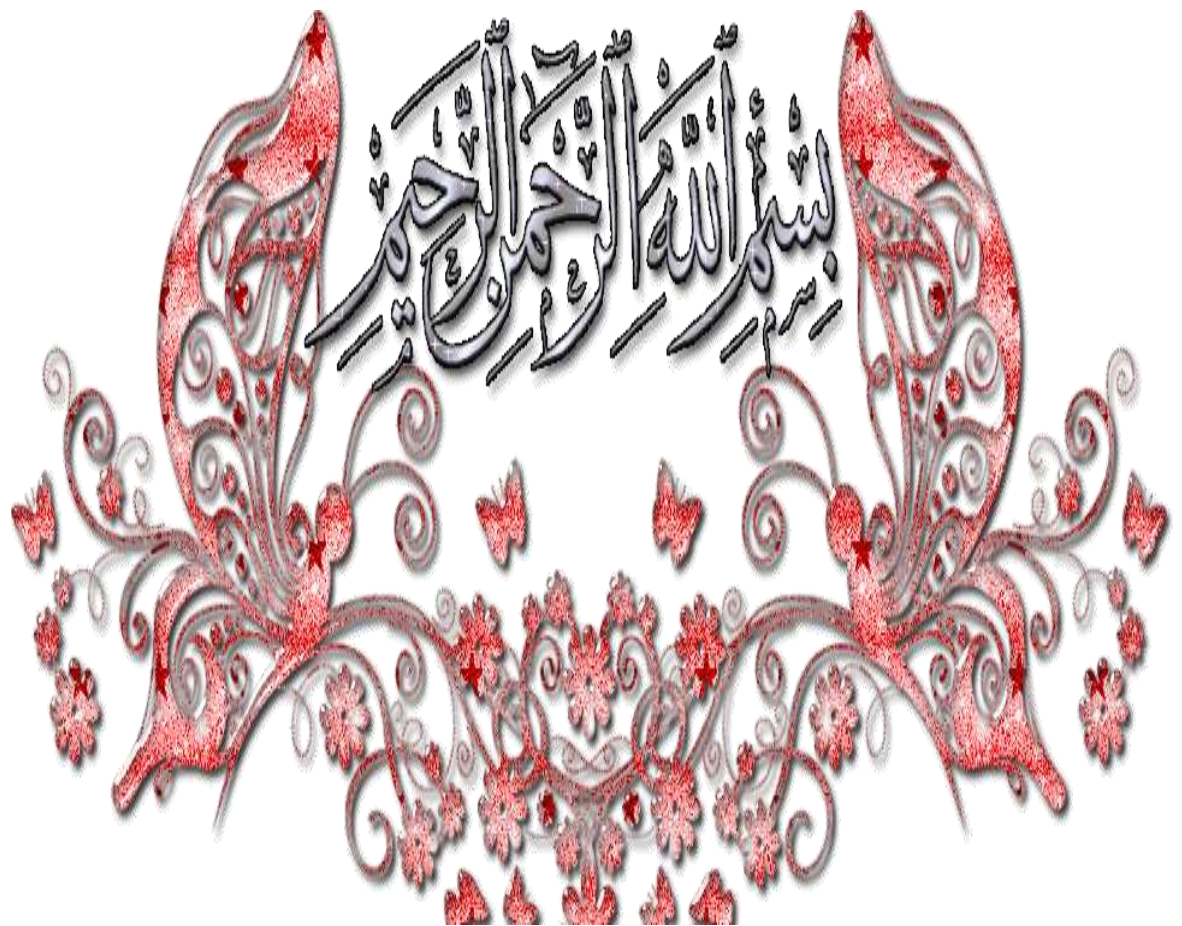
**Co-Promotrice M<sup>elle</sup>. MAHCENE Z.**

**Doctorante. UKM Ouargla**

**Examinatrice M<sup>elle</sup>. BELDI N.**

**MCB. UKM Ouargla**

**Année universitaire : 2019/2020.**



*I do not know what I may appear to the outside world,  
but to myself I seem to have  
been like a boy playing on the sea-shore, and diverting myself  
in now and then  
finding a smoother pebble or a prettier shell than ordinary,  
whilst the great ocean  
of truth lay all undiscovered before me.*

*Isaac Newton*



# Remerciements

*Avant tout, je remercie dieu le tous puissant de m'avoir donnée la force, le courage pouvoir accomplir ce travail. Terme die ce travail, placée en moi. Ses conseils mes remerciements au professeur **Khelil A** et **M<sup>elle</sup> Mahcene Z.***

*Pour la confiance que vous avez judicieuse m'ont Permis de mener à bien ce travail. On tient à remercier l'ensemble de la promotion*





*Dédicace*

*Grace à Allah, Je dédie ce modeste travail  
A mes parents :*

*Mon père à qui je dois le grand amour et le  
profond respect. A l'être le plus chère à mon cœur, ma  
mère qui a toujours cru en moi et  
m'encreouragée*

*Ma chère sœur et mes chers frères, **Ishak, Abd el- samed,  
Yaakoub, Yousef, Mohamed** qui m'ont soutenu  
durant les moments difficiles et à qui je souhaite  
de réussite et du bonheur dans leur vie future.*

*A celui qui sont tout le temps proche de moi, celui  
qui prennent mon main attouche mon cœur à,*

*Soulaf, Kahia, Salima,*

*Mounira, Amina*

*SOUHILA*



## *Dédicace*

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail A mes chers parents: À mon père, **Abdal-Razzak**, que Dieu prolonge sa vie: rien au monde ne mérite l'effort déployé jour et nuit pour mon éducation et. Ce travail est le fruit de votre sacrifice pour mon éducation et ma formation. À ma chère mère **Fatima**; Vous êtes un exemple d'un dévouement qui ne cesse de m'encourager et de prier pour moi. Et que Dieu Tout-Puissant vous protège et vous offre santé, longue vie et bonheur. Je dédie en particulier à mon fiancé **Assad**, qui m'a toujours soutenu avec tout, et à mes frères **Kanza, Iman, Nour, Ahmed** et **Raiyad**, et les fils de ma sœur **Moaad** et **Amína**, À ma chère grand-mère **Yamína** Dieu repose son âme. à mes très chers amis **Hanan, DJahída, Noura, Iman, Mariam** Et à mon meilleur amie dans l'étude **Sahía**,  
**Salíma, Amína, Ikram, Kahía***

## **Liste des tableaux**

Tableau I: Compositions chimiques et valeur nutritive de la laitue (pour 100g). .....	6
Tableau II. Principales maladies causées par les champignons sur salade (selon organisation française chambre d'agriculture).....	12
Tableau III. Classification des terpènes.....	18
Tableau IV. Différents exemples des monoterpènes).....	19
Tableau V. Différentes exemples des sesquiterpènes.....	19
Tableau VI. Résultats de l'activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles selon certaines études antérieures .....	40

## Liste des figures

Figure 1 : Laitue iceberg (Crisphead). .....	7
Figure 2: Laitue beurre.....	7
Figure 3: Laitue romaine.....	8
Figure 4: Laitue à couper . .....	8
Figure 5 : Exemples de structures de composés aromatiques. ....	20
Figure 6: Voies de synthèse des principaux composés organiques volatiles .....	22
Figure 7 : Schéma simplifié des voies de synthèse de l'IPP et du DMAPP .....	23
Figure 8: Formation du motif isoprénique par la voie du mévalonate. ....	24
Figure 9: Formation du motif isoprénique par la voie du désoxyxylulose phosphate.....	25
Figure 10: Formation des C10, C15, et C20 prenyl diphosphate à partir de la fusion des unités d'isoprènes (IPP) en C5 .....	26
Figure 11: Synthèse des dérivés phénylpropanique dérivés.....	27
Figure 12: Schéma d'une installation d'extraction par solvant. ....	29
Figure 13: Schéma d'une installation à la vapeur.....	30
Figure 14: Schéma d'une installation d'hydrodistillation. ....	31
Figure 15: Schéma du procédé d'hydrodiffusion.....	31
Figure 16: Schémat simplifié d'un extracteur au CO2 supercritique.....	32
Figure 17 : schéma présentée l'extracteur par micro-ondes. ....	33
Figure 18: Mode d'action des HE contre les bactéries et les champignon. ....	35



## Liste des abréviations

**°C**: degré celsius

**T**: température

**HE**: Les huiles essentielles

**IPP**: l'isopenténylediphosphate

**DMADP**: diméthylallyldiphosphate

**(NADPH + H)**: dihydronicotinamide adénine dinucléotide

**ATP**: adénosine triphosphate

**DMAPP**: diméthylallyl pyrophosphate

**MEP**: voie de l'acide phosphate de méthyl – érythritol

**MVA**: voie de l'acide mévalonique

**DOXP**: 1-désoxy- D- xylucide -5-phosphate

**DXS**: 1-désoxy- D- xylucide -5-phosphate synthase

**DXR**: 1-désoxy- D- xylucide -5-phosphate réductoisomérase

**HMBPP**: 1-hydroxy-2méthyl-2- (E) -butényl 4-diphosphate

**MCT**: 2-C-méthyl- D- érythritol 4-phosphate cytidyl-yltransférase

**CMK**: 4- (cytidine 5 -diphospho) -2-C-méthyl- D - érythritol kinase

**MDS**: 2-C-méthyl- D- érythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase

**HDS**: (E) - 4-hydroxy-3-méthylbut-2-ényl diphosphatesynthase

**HDR**: (E) -4-hydroxy-3-méthylbut-2- ényldiphosphate réductase

**DMAPP**: diméthylallyl diphosphate

**GPP**: géranyl-diphosphate

**FPP**: farnésyl-diphosphate

**GGPP**: diphosphate de géranyl-géranyle

**PAL**: phénylalanine ammonia-lyase

**SFE**: l'extraction par fluide supercritique

**CO<sub>2</sub>**: dioxyde de carbone

**SFME**: Solvent Free Microwave Extraction

**INTERFEL**: Interprofession de la filière des fruits et légumes frais

**PNTTA**: Programme national de transfert de technologie

**LMV**: virus de la mosaïque de la laitue

## SOMMAIRE

### Liste d'abréviation

### Liste des figures

### Liste des tableau

SOMMAIRE.....

**Introduction..... 1**

## **Chapitre I. Généralités sur la laitue .....4**

I. Généralités sur la laitue ..... 5

I.1. Historique ..... 5

I.2. Description de la laitue ..... 5

I.3. Valeur nutritive de la laitue ..... 5

I.4. Types de laitue ..... 6

I.4.1. Laitue Pommée ..... 6

Figure 1 : Laitue iceberg (Crisphead). ..... 7

I.4.2. Laitue beurre ..... 7

I.4.3. Laitue romaine ..... 7

I.4.4. Laitue à couper ..... 8

I.5. Conservation de laitue ..... 8

I.6. Indicateurs de la non-conformité microbiologique des salades..... 9

I.6.1. Germes totaux et la flore mésophile aérobie totale ..... 9

I.6.2. Coliformes totaux ..... 9

I.6.3. Salmonella ..... 10

I.6.4. Staphylocoque ..... 10

I.6.5. Anaérobies sulfitoréducteurs ..... 11

I.7. Altération de la laitue..... 11

I.7.1. Altération par les champignons ..... 11

I.7.2. Altération par les Bactéries..... 12

I.7.3 Altération par les virus..... 13

## **Chapitre II. Huiles essentielles.....15**

II. Huiles essentielles..... 16

II.1. Définition des huiles essentielles..... 16

II. 2. Propriétés physiques des huiles essentielles ..... 16

II.3. Composition des huiles essentielles ..... 17

II.3.1. Composées terpéniques ..... 17

II.3. 2. Composés aromatiques volatils ..... 20

II. 3. 3. Autres composés..... 21

II.4. Biosynthèses des huiles essentielles .....	21
II.4. 1. Voies de synthèse des composés terpéniques .....	22
II. 4. 2. Biosynthèse des composés aromatiques .....	26
II.5. Méthodes d'extraction d'huile essentielle .....	28
II.5. 1. Expression à froid.....	28
II. 5. 2. Extraction par solvant.....	28
II.5. 3. L'enfleurage .....	29
II.5. 4. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau .....	30
II.5. 5. Extraction avec des gaz supercritiques.....	31
II. 5. 6. Extraction assistée par micro-ondes .....	32
II. 6. Activités biologiques des huiles essentielles .....	33
II. 6. 1. Les huiles essentielles en tant qu'antioxydants .....	33
II. 6. 2. Les huiles essentielles en tant qu'antimicrobiens .....	34
II. 6.3. Les huiles essentielles en tant qu'insecticide .....	37
II.7. Toxicité des huiles essentielles.....	37
III.1. Résultats .....	40
III.2. Discussion .....	41
<b>Conclusion.....</b>	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>48</b>

# *Introduction*

## Introduction

La laitue (*Lactuca sativa*) est une plante annuelle feuillée car elle appartient à la famille des astéracées. Elle a nombreux types y compris : laitue iceberg, laitue cos, laitue beurre et laitue à couper. Elle est considérée comme l'une des cultures légumières les plus importantes, elles sont cultivées dans toutes les régions tempérées du monde et poussées au printemps. Elle est largement connue pour ses feuilles colorées où le rouge et le vert sont les couleurs les plus courantes, est riche en vitamine A, B et C, qui est l'un des légumes qui contiennent le plus de vitamine «E» (**Hidjazi, 2000**).

La laitue est parmi les types des légumes les plus sensibles aux microbes pathogènes. Il est souvent recommandé de conserver la laitue entre 2 et 6°C pour maintenir sa qualité. Afin de prolonger sa durée de vie, les agriculteurs sont commencés à traiter la laitue avec des désinfectants chimiques tels que le chlore. Ce dernier montre des effets négatifs pour le consommateur car elle était toxique et nocive pour la santé. Actuellement, les consommateurs sont de plus en plus demandés de remplacer les produits chimiques par des conservateurs naturels plus surs pour garantir la sécurité alimentaire (**Yossa et al., 2013**).

Les plantes aromatiques ont un arôme et une saveur uniques qui sont dérivés à partir de composés appelés phytochimiques ou métabolites (**Fisher, 1992**). Les composés phytochimiques sont des substances antimicrobiennes présentent dans les plantes aromatiques. Tandis qu'ils sont bénéfiques pour les plantes. Ils repoussent également les organismes nuisible, agissent comme phytoprotecteurs et réagissent aux changements environnementaux. De nombreuses classes de produits phytochimiques, y compris les isoflavones, les anthocyanes, les flavonoïdes, les terpènes et les huiles essentielles trouvent dans les espèces végétales principalement utilisées pour leurs propriétés médicinales ou aromatiques en pharmacie et parfumerie (**Abur-jai et Natsheh, 2003 ; Ait-Ouazzou et al., 2011**).

Ces métabolites sont connus pour être naturels, écologiques et généralement reconnus comme des produits sûrs (**Lubbe et Verpoorte, 2011**). Les huiles essentielles, responsables de la saveur et du parfum de plantes aromatiques, occupent une place centrale d'un point de vue industriel. Ils sont odorantes, volatiles, hydrophobes et hautement composés concentrés obtenus à partir de diverses parties de plantes, y compris les fleurs, les bourgeons, les graines, les feuilles, l'écorce, le bois, les fruits et racines et sont stockés dans les cellules sécrétoires, les cavités, les canaux, épidermiques cellules ou

trichomes glandulaires (**Bakkali et al ., 2008**).

Elles sont composées principalement des composés terpéniques et des polyphénols. Ces composants majeurs sont responsables pour leurs propriétés biologiques, bien que dans certains cas, des composés mineurs contribuent également l'activité biologique. Les composants chimiques appartiennent à des voies de biosynthèse distinctes : terpènes et composés aromatiques (**Bakkali et al ., 2008**).

Le but de cette étude était d'évaluer l'effet des huiles essentielles pour la conservation des laitues contre les microorganismes.

Cette étude comporte deux chapitres :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique sur la caractérisation des laitues (valeur nutritive, composition, qualité...) et l'identification des huiles essentielles.
- La deuxième partie vise à extraire et analyser certains résultats des travaux antérieurs sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles contre les germes contaminants les laitues pour les conservées.

# **Synthèse bibliographique**

## *Chapitre I. Généralités sur la laitue*



## I. Généralités sur la laitue

### I.1. Historique

Les origines de la laitue remontent au bassin méditerranéen d'où elle propage au reste du monde. Laitue (*Lactuca sativa*) est la culture la plus importante du groupe des légumes feuillés, elle connue par les anciens Egyptiens, la Grèce (les Grecs), les Romains, les Perses et les Arabes, qui ont parlés de ses avantages nutritionnels et médicaux (Křístková *et al.*, 2008).

### I.2. Description de la laitue

La laitue (*Lactuca sativa*) est un membre de la famille Asteraceae, cultivée comme légume-feuille. Elle est la plus populaire et généralement consommée cru (Sinha, 2010). Elles se caractérisent par la présence d'un latex blanc. Une plante annuelle de climat frais, à cycle courte, avec un système racinaire peu profond. La racine pivotante pénètre potentiellement jusqu'à 60 cm, mais les racines absorbantes se répandent latéralement sur une profondeur de 25 à 30 cm (Denis, 2010).

Les feuilles presque sessiles sont disposées en spirale dans une rosette dense sur le souvent tige raccourcie. Il existe une diversité considérable de couleurs, de formes, de surfaces, de marge, de texture des feuilles. La couleur des graines varie, y compris le blanc, le jaune, le marron, le gris et le noir (Preedy, 2015).

Selon le programme national de transfert de technologie en agriculture (PNTTA) en 2003, la laitue est bien adaptée à la culture en saison fraîche, avec des températures de croissance optimales à 20 à 23 °C le jour et 7°C la nuit (la croissance commence à 4°C et se poursuit à 24°C). A 15°C. Elle germera à des températures aussi basses que 2 °C. La plage de température comprise entre 16 et 23 °C donne une germination optimale de celle-ci. La culture doit avoir lieu en période fraîche. Les exigences en sol sont faibles; on rencontre les salades sur tous les types de sols. Le pH optimal du sol est de 6-6,8.

### I.3. Valeur nutritive de la laitue

La laitue est l'un des légumes-feuilles les plus célèbres en termes alimentation, agriculture et de bienfaits pour la santé. Elle est distinctive avec sa haute teneur en antioxydants forts, les nutriments naturels et faibles teneurs des calories et des graisses.

Les feuilles de laitue ne représentent pas les mêmes apports énergétiques. Les feuilles foncées par exemple contiennent plus de provitamines A. Elles sont donc préférables de consommer la totalité de la laitue et les feuilles externes comme les feuilles du cœur. Selon l'organisation de l'interprofessionnelle nationale agricole par le droit rural français « INTERFEL », la composition biochimique et les valeurs nutritives de la laitue sont illustrés dans le tableau I.

**Tableau I: Compositions chimiques et valeur nutritive de la laitue (pour 100g).**

Composition	Crue	Cuite	Unité
Calories	14.6	12.2	Kcal
Protéines	1.3	1.2	g
Glucides	1.37	Traces	g
Lipides	0.2	0.14	g
<b>Vitamines</b>			
Vitamine C	18.5	-	mg
Bêta-carotène	3430	-	µg
Vitamine B9	126	-	µg
<b>Minéraux</b>			
Potassium	239	-	mg
Phosphore	29.5	-	mg
Magnésium	14.9	-	mg
Calcium	64.6	-	mg
<b>Oligoéléments</b>			
Zinc	0.2	-	g
Fer	0.82	-	g

Kcal: Kilo calorie; g: gramme; mg: milligramme; µg: microgramme

#### I.4. Types de laitue

Il existe une grande diversité de formes, de tailles et de couleurs de laitue. Elle est classée principalement à la base sur la forme, la taille et la texture des feuilles, la tête et le type de tige.

##### I.4.1. Laitue Pommée

Laitue pommée est aussi appelée la laitue iceberg (Crisphead). Elle possède une grosse tête solide semblable à un chou. Les premières feuilles sont allongées au stade de la rosette et augmentent progressivement en largeur avec chaque feuille successive jusqu'à ce qu'elles soient plus longues. Après 10 à 12 feuilles, les feuilles prennent la forme d'une coupe et commencent à se chevaucher et enfermant des feuilles plus tardives pour former une structure de tête (**Figure 1**). De nouvelles feuilles continuent d'apparaître et de

développer vers l'intérieur pour remplir la tête (**Prohens-Tomás et Nuez, 2007**). Ce type possède des feuilles ondulées ou cloquées, croustillantes, de couleur verte à l'extérieur et jaune ou blanche à l'intérieur (**Denis, 2010**).



**Figure 1 : Laitue iceberg (Crisphead).**

([http://bpi.da.gov.ph/bpi/images/Production\\_guide/pdf/Lettuce.pdf](http://bpi.da.gov.ph/bpi/images/Production_guide/pdf/Lettuce.pdf)).

#### **I.4.2. Laitue beurre**

Elle est lisse possède une tête plus petite et moins compacte que le type crisphead. Les feuilles sont tendres et souples avec une texture douce et huileuse. La couleur extérieure des feuilles sont plus claires et la couleur intérieure est jaunâtre (**Figure 2**). Il est distingué deux sous-types de laitue beurre selon la saison de croissance. Le type Boston, il est plus grand, de couleur plus claire et a une tête fermée. Le deuxième type est le Bibb, il est plus petit, de couleur vert foncé et la tête est relativement ouverte au sommet (**Prohens-Tomás et Nuez, 2007**).



**Figure 2: Laitue beurre** (<https://www.andyboy.com/fr/produits/laitue-beurre/>).

#### **I.4.3. Laitue romaine**

Elle est aussi connue comme la laitue cos. Ce type de laitue forme des feuilles allongées, serrés, arrondies ou ouvertes au sommet. Les cultivars commerciaux sont de

couleur verte (**Figure 3**). Le nom du morphotype vient de l'île grecque Cos (Kos) où ce type est cultivé depuis longtemps. La salade verte est la plus répandue dans les pays méditerranéens d'Europe, d'Asie occidentale et d'Afrique du Nord (**Denis, 2010**).



**Figure 3: Laitue romaine**

([http://bpi.da.gov.ph/bpi/images/Production\\_guide/pdf/Lettuce.pdf](http://bpi.da.gov.ph/bpi/images/Production_guide/pdf/Lettuce.pdf)).

#### **I.4.4. Laitue à couper**

Appelée aussi laitue à feuilles mobiles, elle possède des tendres feuilles qui sont délicates et légèrement parfumées. Ce type de laitue ne forme pas la tête, les feuilles sont jointes à la tige c-à-d elle produit une rosette de feuilles ouvertes disposées de façon lâches sur la tige (**Figure 4**). Les variétés de cette laitue sont de couleur verte et rouge dont le type vert consommé crue ou cuit (**Křístková et al., 2008**).



**Figure 4: Laitue à couper (Ouhibi, 2014).**

#### **I.5. Conservation de laitue**

La conservation de laitue est basée sur le refroidissement après leur récolte. La laitue est refroidie immédiatement à 2°C, elle possède une durée de vie de huit jours. Par contre, si elle est refroidie sur une période de six heures, la durée de conservation se limiter

à six jours. Si elle n'est pas refroidie, elle altère rapidement (Denis, 2010).

## I.6. Indicateurs de la non-conformité microbiologique des salades

La contamination des végétaux peut avoir lieu dès le stade de la culture, par l'environnement ou l'eau d'irrigation souillée ou par la faune domestique ou sauvage, mais également par la main d'œuvre lors des manipulations pendant ou après la récolte (cueillette, conditionnement) (Lachhab, 2013).

Les analyses de légumes indiquent que les micro-organismes responsables de leurs altérations sont représentés par les bactéries de Gram positif et de Gram négatifs avec des proportions élevés et un nombre moindre de moisissures et de levures. La plupart des bactéries sont principalement multipliés sur la surface des fruits et des légumes, aussi bien peuvent les trouvés à l'intérieur des légumes et des fruits (Brackett, 1987).

Les composants tissulaires peuvent neutraliser des conservateurs tels que le chlorure, qui est fréquemment utilisé pour contrôler les micro-organismes (Nevárez-Moorillón *et al.*, 2020).

### I.6.1. Germes totaux et la flore mésophile aérobie totale

Les germes aérobies mésophiles comprennent l'ensemble des bactéries, des levures et des moisissures que l'on rencontre dans l'environnement des denrées alimentaires. En raison de la grande diversité des conditions accompagnant la culture et la durée de vie des légumes après la récolte, le nombre de germes aérobies mésophiles varie fortement en fonction des échantillons de produits. Les plus fortes concentrations sont trouvées sur des pousses de salades et les plus faibles sur les feuilles intérieures des choux. Les variations sont considérables entre les échantillons de légume lui-même (Alfred, 1996).

Le nombre élevé de la flore mésophile aérobie signifie qu'une contamination, une fausse manipulation ou une réfrigération déficiente peuvent provoquer une altération rapide du produit et diminuer sa durée de conservation (Bulletin Officiel, 2004).

### I.6.2. Coliformes totaux

Les coliformes totaux incluent, entres autres, les genres suivants : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*, *Erwinia*. Certaines espèces de coliformes apparaissent naturellement pour les légumes et les fruits après une contamination venante de l'environnement (EFSA, 2004- 2009). Les coliformes ne sont généralement pas

pathogènes, ils sont des indicateurs de qualité hygiénique générale et de la contamination fécales (**Hilborn et al., 1999**).

Parmi ces souches pathogènes *l'Escherichia coli* (*E.coli* O157: H7) qui est le sérotype le plus toxigène, ce genre est lié à des taux de mortalité élevés dans le monde. Il est l'un des entéropathogènes bactériens le plus courant associé avec des fruits et des légumes qui peuvent facilement provoquer une épidémie (**Buck et al. 2003 ; Deborah et Frankel, 2005**).

L'infection à *E. coli* O157 : H7 provoque souvent une diarrhée sévère et des crampes abdominales. Habituellement, la fièvre est peu ou pas présentée et la maladie disparaît en 5 à 10 jours (**Marianne et Miliotis, 2003**).

À ce jour, plusieurs éclosions sont signalées en raison de la contamination des fruits et des légumes y compris les légumes feuillés avec *E. coli* O157: H7. L'une des principales difficultés pour éliminer *E. coli* O157: H7 est sa capacité à croître à 8°C ou plus sous quelles salades et autres produits peu transformés ou frais (**Törnük et Dertli, 2015**).

*E. coli* O157 : H7 est colonisé également les tissus internes et les stomates de cotylédons de pousses de radis. Il développé à partir de graines nées avec la bactérie (**Nevárez-Moorillón et al., 2020**).

### I.6.3. Salmonella

Se composent de micro-organismes résilients qui s'adaptent facilement aux conditions environnementales extrêmes. Certaines souches de *Salmonella* peuvent développer à température élevée (54 °C), et d'autres présentent des propriétés psychotrophes (**Doyle et al., 2020**).

Ils sont capables de se multiplier dans de nombreux aliments sans affecter les qualités d'acceptation. Des rapports constants ont mis en évidence la présence de *Salmonella* dans les produits frais, en particulier pendant les pratiques pré et post-récolte pour le traitement des produits à consommer (**Nevárez-Moorillón et al., 2020**). Malgré de nombreuses améliorations d'hygiène dans la production, ceux-ci restent parmi les agents responsables les plus importants des maladies d'origine alimentaire comme les gastro-entérites (**hui, 2018**).

### I.6.4. Staphylocoque

*Staphylococcus aureus* à coagulase positive est l'agent pathogène le plus courant

associé à intoxication alimentaire due à un mauvais produit prêt à consommer comme les salades (**Le Loir et Gautier, 2003**).

L'intoxication alimentaire staphylococcie qu'est parmi principales causes de gastro-entérite dans le monde. Il en résulte par ingestion d'un ou plusieurs staphylocoques préformés entérotoxines dans les aliments contaminés par le staphylocoque. Les agents étiologiques de l'intoxication alimentaire sont des membres du genre *Staphylococcus*, principalement *Staphylococcus aureus* (**Doyle et al., 2020**).

L'apparition des symptômes d'une intoxication alimentaire staphylococcique est généralement rapide (2 à 6 heures) et cas aigus, en fonction de la sensibilité individuelle à la toxine, de la quantité d'aliments contaminés consommé, la quantité de toxine dans la nourriture ingérée et l'état de santé général de la victime (**Marianne et Miliotis, 2003**).

### **I.6.5. Anaérobies sulfitoréducteurs**

La présence de cette bactérie dans le sol et les matières fécales (humaines et animales) offre de nombreuses opportunités contaminer les aliments puis produit et sécrète de nombreuses toxines et enzymes hydrolytiques. La bactérie se multiplie très rapidement dans les aliments riches en protéines et à faible teneur en acides (**EFSA, 2004- 2009**). La croissance de cette bactérie est optimale entre 43 et 45 ° C, mais continue jusqu'à au moins 50° C (**Marianne et Miliotis, 2003**).

Les symptômes apparaissent entre 6 et 24h, généralement 10-12h après l'ingestion du repas contaminé. Ils se traduisent surtout par de la diarrhée et maux de ventre. Les vomissements et la fièvre ne sont pas habituels. Le plus souvent cette affection guérit spontanément en 2-3 jours. Toutefois, des mortalités sont été observées chez des personnes âgées et des jeunes enfants (**EFSA, 2004- 2009**).

## **I.7. Altération de la laitue**






### **I.7.1. Altération par les champignons**

Sur salade, les champignons produisent par ailleurs des structure spécialisées, très résistantes aux éléments défavorables et parfaitement adaptées à leur conservation. Au cours de la phase de pollution ou la contamination, les champignons entrent en contact avec les salades. Assez rapidement les propagules, lorsque ce sont des spores, germent et différencient une structure de fixation appelée appressorium qui leur sert aussi à pénétrer leur hôte (**Blancard et al., 2003**).

Certains champignons préfèrent les tissus jeunes, d'autres les oranges sénescents.

Ils présentent aussi une spécificité certaine vis-à-vis des organes atteints. On distingue facilement des champignons essentiellement inféodés aux racines et/ou au collet des salades (*Olpidium brassicae*, *Pythium spp.*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Thielaviopsis basicola*) ou aux vaisseaux (*Fusarium oxysporum f.sp.lactucum* et *Verticillium dahliae*), alors que d'autres se limitent uniquement ou essentiellement aux organes aériens (feuilles, tiges, fruits, fleurs) (*Erysiphe cichoracearum*, *Bremia lactucae*, *Septoria lactucae*, *Cercospora longissima*, *Puccinia opizii*...) (Blancard et al., 2003). Tableau II indique les principales maladies causées par les champignons selon l'organisation française chambre d'agriculture

**Tableau II.** Principales maladies causées par les champignons sur salade (selon l'organisation française chambre d'agriculture)

Agent pathogène		Symptômes
Champignons aériens		
Mildiou <i>Bremia lactucae</i>		Duvet blanc poudreux à la face inférieure des feuilles. Décoloration délimitée par les nervures à la face supérieure.
Botrytis <i>Botrytis cinerea</i>		Pourriture molle et claire. S'attaque au collet ou à la pomme de la salade. Fructifications grises abondantes.
Anthraxose <i>Marssonina panattoniana</i>		Taches brunes nécrotiques à bordure jaune, dont le centre peut se perforer
Champignons du sol		
Sclérotinia <i>Sclerotinia minor</i> <i>S. Sclerotiorum</i>		Pourriture molle et claire. Sectionne le collet et provoque un flétrissement brutal des plantes. Présence d'un mycélium blanc et de scléroties noirs.
Rhizoctonia <i>Rhizoctonia solani</i>		Pourriture noire et sèche qui devient rapidement humide, s'attaque à la base des feuilles (au limbe, puis aux côtes) et au collet. Dépérissement très progressif des plantes.

### I.7.2. Altération par les Bactéries

La grande majorité des bactéries qui s'attaquent aux salades sont des bâtonnets. Ces derniers sont mobiles grâce à la présence de flagelles disposés autour du corps de la bactérie ou à leur extrémité. Les bactéries inféodées aux salades sont relativement autonomes, elles peuvent les parasiter ou vivre à l'état de saprophyte. On les trouve sur d'autres plantes, dans



le sol, dans la matière organique, sur de nombreux débris végétaux ...etc. Quatre genres affectent gravement les salades: *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia* et *Rhizomonas* (**Blancard et al., 2003**).

Les espèces de *Pseudomonas*, *Xanthomonas* et *Erwinia* sont responsables de taches bactériennes et des pourritures de salade. La pourriture molle est causée par *Erwinia*, et les taches foliaires et le mucus sont causés par une combinaison d'*Erwinia*, *Pseudomonas* et *Xanthomonas*. Les trois maladies pénètrent dans la plante par les stomates ou par des blessures créées par des moyens mécaniques ou par des blessures antérieures d'un ravageur. Les conditions fraîches et humides favorisent développement de la maladie à mesure que la plante atteint sa maturité. Les premiers symptômes de la tache bactérienne et du mucus sont de petites taches foliaires internodales imbibées d'eau près de l'extrémité des feuilles. Les taches foliaires peuvent souvent être observées au début de la croissance de la plante. Les taches imbibées d'eau deviennent brunes lésions avec zones nécrotiques au centre des lésions. Les taches foliaires se développent ensuite dans toutes les feuilles internes entraînant la pourriture de toute la tête (**Valenzuela et al., 1996**).

D'autre part, la maladie parasitaire du gros pivot est causée par une bactérie difficile à isoler. Cette maladie survient dans les champs où l'on cultive laitue sur laitue. Les symptômes de cette maladie et ceux de la maladie non parasitaires du gros pivot peuvent être confondus. Le *Rhizomonas suberifaciens* n'a été signalé que sur la laitue (**Richard et Boivin, 1994**).

### **I.7.3 Altération par les virus**

De nombreux virus peuvent être inoculés artificiellement aux salades, plus d'une vingtaine sévissent naturellement sur ces plantes dans les différentes zone de production. La grande majorité des virus affectant les salades sont transmis par des insectes piqueurs (**Blancard et al., 2003**).

Selon le guide de production de cultures végétales pour les provinces de l'atlantique, les pucerons sont de petits insectes mous qui se déplacent lentement. On les trouve souvent en grandes colonies sous la surface des feuilles. Une colonie se compose d'adultes ailés et sans ailes et de nymphes de différentes tailles. Les pucerons peuvent être noirs, jaunes ou roses, mais la plupart sont de diverses nuances de vert. Les pucerons de la laitue sont petits, verts ou rosés et se nourrissent des feuilles internes et de l'intérieur de la tête. D'autres pucerons se nourrissent du dessous des feuilles et les recourbent ou les rabougrissent. Les pucerons des racines de laitue se nourrissent également des racines, ce qui ralentit les plants, surtout dans des conditions sèches.

Parmi les virus affectant gravement les salades, seul le virus de la mosaïque de la laitue (**LMV**). Ce dernier est un virus qui se transmet par les semences et la propagation par les pucerons. Ce virus peut infecter tous les types de laitue. Les mauvaises herbes sont des réservoirs de virus de la mosaïque de la laitue. Les symptômes de la maladie varient selon l'âge et le type de laitue. Les plantes peuvent être un retard de croissance, déformée ou présenter un motif en mosaïque ou marbrures. Les laitues pommées ne peuvent pas former des têtes complètes si elles sont infectées au début de la saison (**Fontenot *et al.*, 2014**).

## *Chapitre II. Huiles essentielles*

## II. Huiles essentielles

Afin de survivre les plantes contre le stress physiologique, l'attaque d'agents pathogènes et les facteurs écologiques, les plantes ont besoin de synthétiser des substances spécifiques appelées métabolites secondaires. Ces molécules leur permettent de lutter contre les stress biotiques et abiotiques, mais aussi de se reproduire et de communiquer entre elles ou avec d'autres organismes. Parmi ces métabolites : les huiles essentielles.

### II.1. Définition des huiles essentielles

Selon la **Commission de la Pharmacopée européenne (2008)**, une huile essentielle (HE) est définie comme la suite « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (**Bruneton, 2016**).

Selon **AFNOR NF T 75-006. (1998)**, « Elle est obtenue à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de citrus, soit par distillation sèche. L'HE est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

**Sonwa. (2000)** définit l'HE comme « produit biochimique ou une combinaison de produits similaires, qui sont générés dans le liquide cytoplasmique et sont situés dans l'espace intercellulaire sous la forme de minuscules gouttelettes. Ils sont très odorants et de nature volatile ».

### II. 2. Propriétés physiques des huiles essentielles

Les essences ont des propriétés physiques communes variées en fonction de leurs constituants. D'après, **Kaloustian et Hadji-Minaglou. (2013)**, les HE sont :

- Liquides à température ambiante, rarement visqueuses (myrrhe, etc.), ou cristallisées (camphre, etc.). A plus faible température, elles cristallisent partiellement ou totalement (anis: anéthole; menthe des champs: menthol; thym saturéioïde: boméol).

- Volatiles, ce qui les oppose aux huiles grasses "huiles fixes". Cette volatilité est d'ailleurs à l'origine de leur caractère odorant et permet leur entraînement à la vapeur

d'eau.

- Plus légères que l'eau, et non miscibles, ce qui permet leur séparation dans l'essencier couplé à l'alambic.
- Actives sur la lumière polarisée (pouvoir rotatoire).
- Elles ont un indice de réfraction souvent élevé.
- Totalement solubles dans les huiles grasses (meilleurs solvants des HE) particulièrement solubles dans les alcools à titres élevés et les solvants organiques.

### II.3. Composition des huiles essentielles

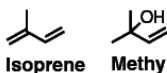
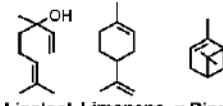
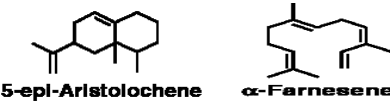
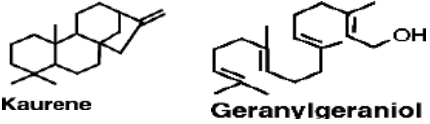
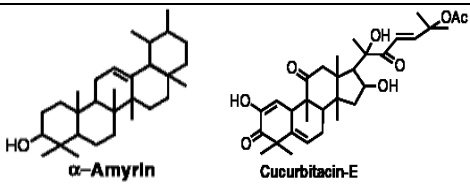
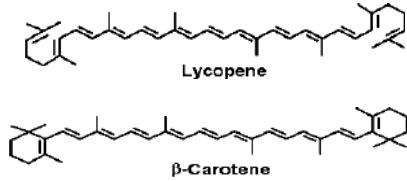
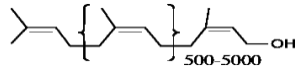
Les HE sont des mélanges variables et complexes de différents composés chimiques, dissous l'un dans l'autre, formant des solutions homogènes (**Samate, 2002**). On différencie généralement les composants des HE en trois groupes correspondant à leurs voies de synthèse: les deux principales concernent les terpénoïdes (les plus nombreux) et les composés aromatiques et en troisième position, des composés d'origine divers (**Deschepper, 2017**).

#### II.3.1. Composées terpéniques

Le nom générique «terpène» était à l'origine appliqué aux hydrocarbures présents dans la térébenthine (**Sell, 2003**), le suffixe «ène» indiquant la présence de liaisons oléfiniques (ou alcène). Traditionnellement, tous les composés naturels constitués de sous-unités d'isoprène et pour la plupart provenant de plantes sont appelés terpènes (**Breitmaier, 2006**).

Bien que, leurs structures sont très variables mais tous sont issus de l'assemblage de sous-unités isopréniques issues du métabolisme du glucose. Et aussi leur classification est basée sur le nombre d'unités isoprène qui les compose : hémiterpènes ( $C_5$ ), monoterpènes ( $C_{10}$ ), sesquiterpènes ( $C_{15}$ ), diterpènes ( $C_{20}$ ), sesterpènes ( $C_{25}$ ), triterpènes ( $C_{30}$ ), caroténoïdes ( $C_{40}$ ) et les polyisoprènes ( $C_n$ ). Ils peuvent être saturés ou insaturés, acycliques, monocycliques, bicycliques ou polycycliques. Ils peuvent également être accompagnés de leurs dérivés oxygénés : alcools, esters, éthers, aldéhydes, cétones (**tableau II**) (**Samate, 2002**).

Tableau III. Classification des terpènes (Ben Abdelkader, 2012).

Classe	Formule brute	n° d'isoprène	Exemples
Hémiterpènes	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub>	1	 Isoprene Methylbutenol
Monoterpènes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	2	 Linalool Limonene $\alpha$ -Pinene
Sesquiterpènes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	3	 5-epi-Aristolochene $\alpha$ -Farnesene
Diterpènes	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	4	 Kaurene Geranylgeraniol
Triterpènes	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub>	6	 $\alpha$ -Amyrin Cucurbitacin-E
Tétraterpènes	C <sub>40</sub> H <sub>64</sub>	8	 Lycopene $\beta$ -Carotene
Polyterpènes	(C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>n</sub>	45-30000	 le caoutchouc ( <i>cis</i> -1,4-polyisoprène)

Parmi les principales compositions des terpènes :

**a. Monoterpènes** : sont formés lorsque deux unités isoprène C<sub>5</sub> sont jointes, donnant un squelette avec la formule moléculaire C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> (Thormar, 2010). Presque tous sont dérivés de GPP et peuvent donc être officiellement considérés comme de la fusion tête à queue de deux unités isoprène. La plupart sont volatils composés qui s'accumulent dans les conduits de résine, les cavités sécrétoires et épidermiques glandes. Ces substances sont responsables des odeurs caractéristiques de nombreux plantes, y compris les conifères, les agrumes et les menthes (Moore, 2018).

Malgré cette simplicité initiale, les substitutions ultérieures, les cyclisations et / ou

isomérisations aboutissent à un nombre remarquable de structures monoterpénoïdes. Les monoterpènes peuvent être cycliques (c'est-à-dire formant un cycle) ou acycliques (également dit linéaire), réguliers ou irréguliers, et leurs dérivés comprennent les alcools, les esters, les phénols, cétones, lactones, aldéhydes et oxydes (Thormar, 2010).

**Tableau IV.** Différents exemples des monoterpènes (Bakkali, 2008).

Groupe fonctionnel	Type de structure	Exemples
Carbures	Acyclique	Myrcene, ocimene, etc
	Monocyclique	Terpinenes, p-cimene, phellandrenes, etc
	Bicyclique	Pinenes, -3-carene, camphene, sabinene, etc
Alcool	Acyclique	Geraniol, linalol, citronellol, lavandulolnérol.
	Monocyclique	Menthol, $\alpha$ -terpineol, carveol, etc.
	Bicyclique	Borneol, fenchol, chrysanthenol, thuyan-3 ol
Cétone	Acyclique	Tegetone, etc
	Monocyclique	Menthones, carvone, pulegone, piperitone, etc.
	Bicyclique	Camphor, fenchone, thuyone, ombellulone
Ester	Acyclique	Linalylacetate ou propionate, citronellyl acétate.
	Monocyclique	Menthyl ou $\alpha$ -terpinylacetate, etc.
	Bicyclique	Isobornyl acetate, etc
Aldéhyde	Acyclique	Geranial, neral, citronellal, etc
Ethère	Bicyclique	1,8-cineole, menthofurane, etc
Peroxydes	Bicyclique	Ascaridole, etc
Phénols	Monocyclique	Thymol, carvacrol, etc

**b. Sesquiterpènes :** Sont formés de la combinaison de trois unités d'isoprène, leur donnant la formule moléculaire  $C_{15}H_{24}$ . Ils forment un groupe structurellement diversifié (Thormar, 2010) (Tableau IV). Tous les sesquiterpènes sont biosynthétisés à partir du prényle  $C_{15}$  pyrophosphate, FPP. La diversité structurelle de cette classe est supérieure à celle des monoterpènes en raison du nombre accru de cyclisations différentes possible à partir d'un précurseur avec cinq atomes de carbone supplémentaires souvent suivis par réarrangement du squelette (Moore, 2018). Les sesquiterpènes peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques (Thormar, 2010).

**Tableau V.** Différentes exemples des sesquiterpènes (Bakkali, 2008)

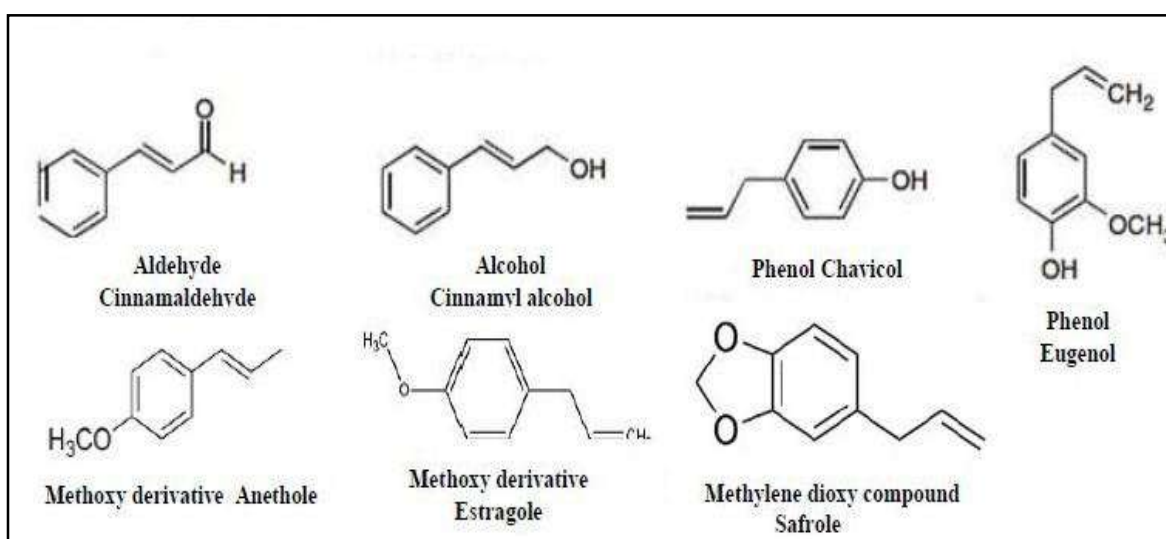
Groupe Fonctionne	Structure	Exemples
	Acyclique	Farnesènes
	Monocyclique	$\beta$ -Bisabolène, Curcumènes, Zingiberène, Elémènes

Carbure	Bicyclique	Azulène, Cadinènes, $\beta$ -Caryophyllène, etc
	Tricyclique	Logifolène
Alcool	Acyclique	$\beta$ -Nérolidol, Farnésol
	Monocyclique	Bisabol
	Bicyclique	$\beta$ -Santalol, Carotol
	Tricyclique	Cédrol, Patchoulol, Viridiflorol, etc,
Cétone	Monocyclique	Germacrone, <i>cis</i> -Longipinane-2,7- dione, Turmerones, etc.
	Bicyclique	Nootkatone, $\beta$ -Vétinone
Epoxyde	Bicyclique	Epoxydes d'hummulène
	Tricyclique	Oxide de caryophyllène

### II.3. 2. Composés aromatiques volatils

Les composés aromatiques (phénoliques dans la majorité des cas) volatils possèdent de nombreuses propriétés biologiques de médiateur d'interaction entre plantes et micro-organismes ou insectes (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Les phénylpropanoïdes sont moins fréquents et généralement moins abondants dans les HE que les terpénoïdes. Cependant, certaines des HE contenant des phénylpropanoïdes en contiennent une proportion importante, comme l'eugénol dans l'huile de clou de girofle, présent dans 70 à 90% de l'HE (**Figure 5**). Les familles de plantes dans lesquelles les phénylpropanoïdes se produisent le plus fréquemment incluent les Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Piperaceae et Rutaceae (**Thormar, 2010**).



**Figure 5 : Exemples de structures de composés aromatiques (Goudjil, 2016).**



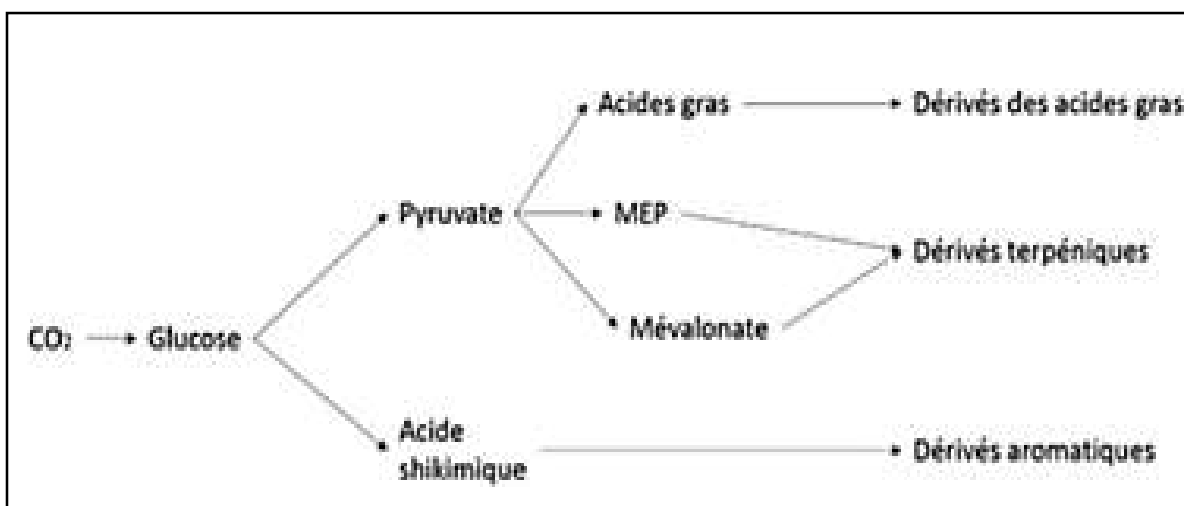
### II. 3. 3. Autres composés

Un certain nombre de composés de nature totalement différente se retrouvent dans les HE. Ceux-ci sont rares et presque systématiquement présents en très faible quantité. Leur rôle est le plus souvent très limité bien qu'il puisse parfois entrer en synergie avec des composés majoritaires, leurs natures trop variées (**Morel, 2008**).

Parmi ces composés, des acides gras mais surtout des produits issus de la transformation de molécules non volatiles. Certains sont obtenus après dégradation des acides gras. La peroxydation des acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique aboutit à leur coupure et à la formation d'acides en C<sub>9</sub> ou C<sub>12</sub>, puis des alcools, aldéhydes et autres esters correspondants. Ces dérivés peuvent également être issus de la  $\beta$ -oxydation des acides gras. D'autres exemples, les acides jasmoniques dérivent des acides gras par un mécanisme proche de la formation des prostaglandines chez les animaux. D'autres molécules présentes dans les HE proviennent de la transformation de terpènes. Les norisoprénoïdes (C<sub>13</sub>), dont les principaux représentants sont les ionones, proviennent de l'auto-oxydation des carotènes. Les irones (C<sub>14</sub>) sont des cétones issues de la dégradation (oxydation) de triterpènes bicycliques lors du vieillissement des rhizomes d'iris (*Iris sp.*) (**Bruneton, 2009**). On retrouve parfois des composés azotés ou soufrés et d'autres composés issus de la dégradation des acides aminés (**Deschepper, 2017**).

### II.4. Biosynthèses des huiles essentielles

Les composants des HE, terpène et composant aromatique constituants sont issus de multiples voies de biosynthèse qui opèrent dans des compartiments cellulaires différents. Tous ces voies prennent ancrage sur intermédiaires métabolique des principaux constituants cellulaires que sont les sucre, lipide et les acides aminés (**Yishay, 2008; Fernandez et Chemat, 2012**).

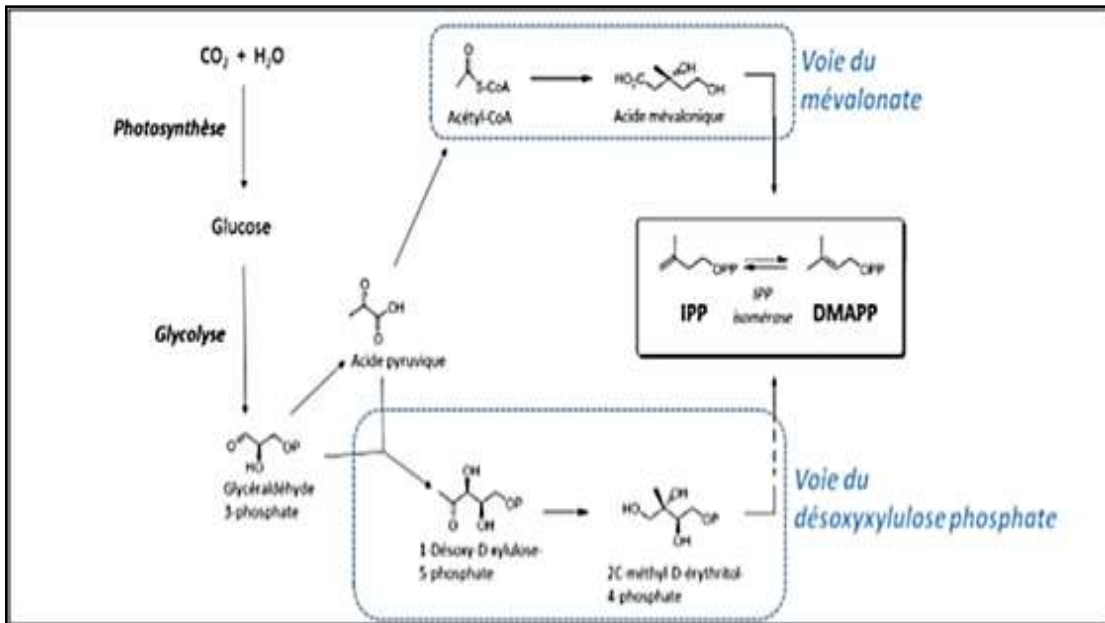


CO<sub>2</sub>: dioxyde de carbone; MEP: voie de l'acide phosphate de méthyl-érythritol

**Figure 6: Voies de synthèse des principaux composés organiques volatiles (Caissard *et al.*, 2004).**

#### II.4. 1. Voies de synthèse des composés terpéniques

Les composés terpéniques volatils sont les constituants les plus courants, les plus abondants et les plus diversifiés des HE. Ils présentent chez tous les organismes vivants et particulièrement différenciée chez les végétaux (Fernandez et Chemat, 2012). Malgré leurs différences, tous les composés terpénoïdes sont synthétisés à partir des mêmes précurseurs: l'isopentényle diphosphate (IPP) et son isomère diméthylallyl diphosphate (DMADP). Selon la **Figure 7**, la voie de base de la biosynthèse des terpénoïdes volatils est commodément traitée en trois phases: la formation des unités de base IPP et DMADP, après la condensation des motifs isopréniques. Enfin, la conversion des diphosphates de prényle résultants en produits finaux.



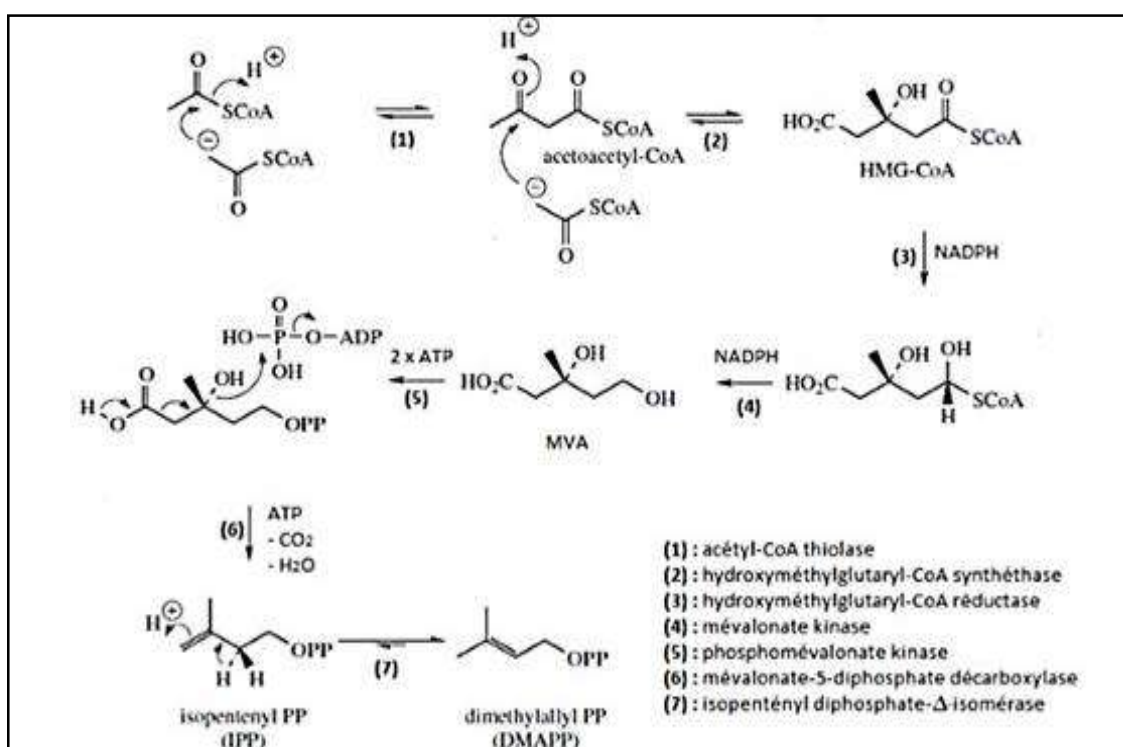
**IPP**: isopentényl diphosphate; **DMAPP**: diméthylallyl pyrophosphate

**Figure 7 : Schéma simplifié des voies de synthèse de l'IPP et du DMAPP**

(Deschepper, 2017).

La formation des unités de base IPP et DMADP agit par deux voies alternatives:

**a. Voie de MVA :** La voie de l'acide mévalonique était la première décrite et se déroule principalement dans le cytoplasme, le réticulum endoplasmique et les mitochondries (Thormar, 2010). Cette voie donne naissance à l'IPP l'acétyl CoA comme elle est indiquée dans la (Figure 8), La voie MVA commence par la condensation de deux molécules d'acétyl- CoA en acétoacétyle. Ce dernier réagit avec un autre équivalent d'acétyl-CoA en tant que nucléophile de carbone pour donner du  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -méthylglutaryl-CoA, suivi d'une réduction enzymatique avec du dihydronicotinamide adénine dinucléotide (NADPH + H) en présence d'eau, donnant de l'acide(R)-mévalonique. La phosphorylation de l'acide mévalonique par l'adénosine triphosphate (ATP) via le monophosphate fournit le diphosphate d'acide mévalonique qui est décarboxylé et déshydraté en isopentényl pyrophosphate (isopentényl diphosphate, IPP). Ce dernier est isomérisé par l'isopentényle diphosphate  $\delta$  isomérase en diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP) (Breitmaier, 2006). Il semble que cette voie de biosynthèse soit entièrement localisée dans le cytoplasme (acétyl-CoA exporté de la mitochondrie par le cycle citrate-pyruvate) (Fernandez et Chemat, 2012).

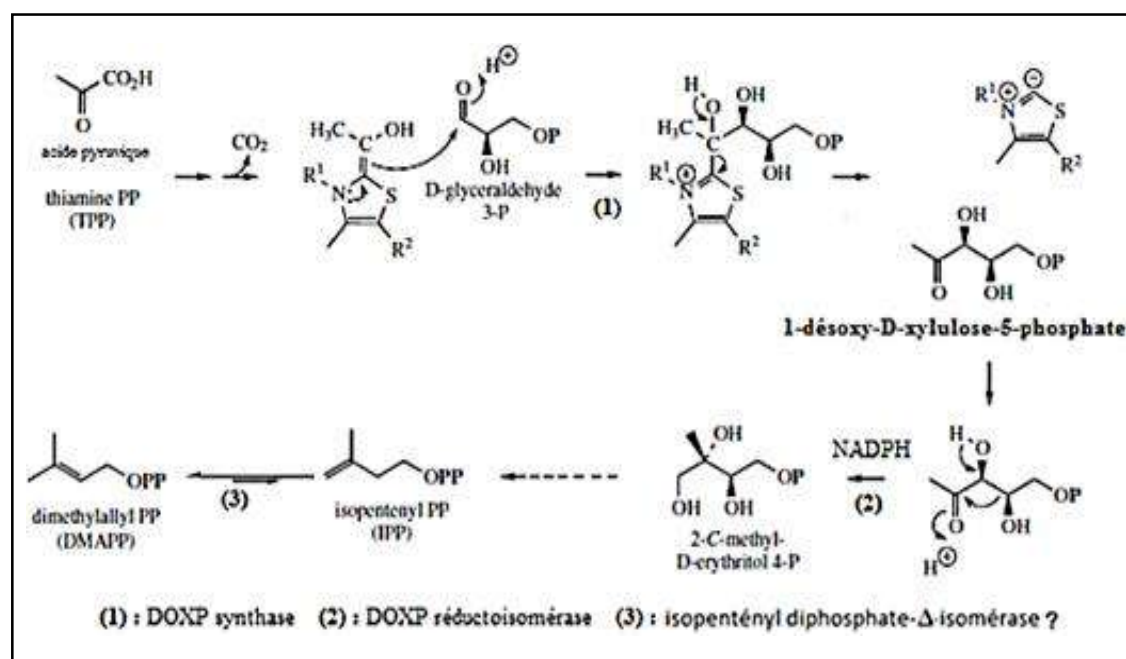


MVA: acide mévalonique; HMG-CoA: Hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A

Figure 8: Formation du motif isoprénique par la voie du mévalonate (Dewick, 2002).

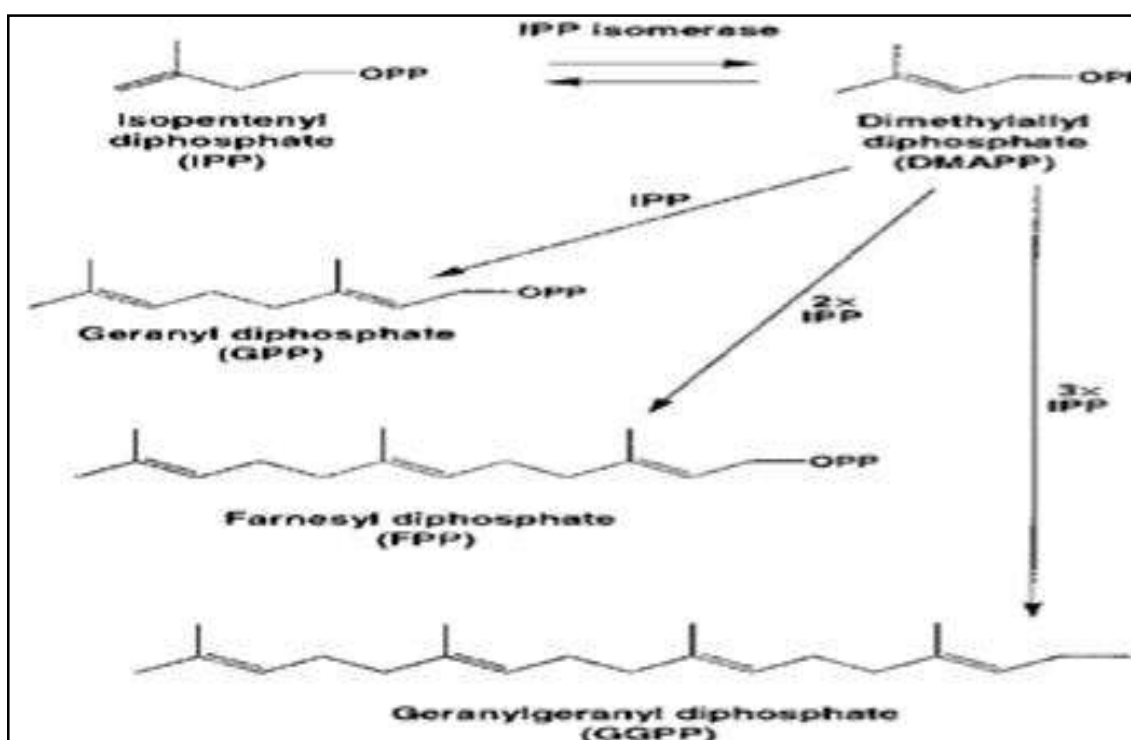
**b. Voie de MEP :** Bien des années plus tard, l'équipe de Rohmer a mis en évidence l'existence d'une voie indépendante de biosynthèse de l'IPP entièrement localisée dans le plaste et nourrie par le glycéraldéhyde-3-phosphate et le pyruvate (produits de la voie de la glycolyse). (Fernandez et Chemat, 2012), a d'abord été élucidée chez *E. coli*. Connue comme la voie de l'acide non mévalonique ou du phosphate de méthyl – érythritol, cette voie se déroule dans les plastides des cellules végétales et est largement responsable de la synthèse des héli-, mono- et diterpènes (Thormar, 2010). La première étape de cette voie est la condensation du pyruvate et le 3-phosphate de glycéraldéhyde pour former le 1-désoxy- D- xylucide -5-phosphate (DOXP) par DOXP synthase (DXS). DOXP est ensuite transformé en MEP par la DOXP réductoisomérase (DXR), également appelée MEP synthase. Le MEP est en outre converti en 1-hydroxy-2méthyl-2- (E) -butényl 4-diphosphate (HMBPP) par l'action enzymatique consécutive du 2-C-méthyl- D- érythritol 4-phosphate cytidyl transférase (MCT) , 4- (cytidine 5 -diphospho) -2-C-méthyl- D -érythritol kinase (CMK), 2- C-méthyl- D- érythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase (MDS) et (E) - 4-hydroxy-3- méthylbut-2-ényl diphosphate synthase (HDS). La dernière étape est la ramification du HMBPP en IPP et DMAPP catalysée par l'action enzymatique simultanée d'une seule enzyme, la (E) -4-hydroxy-3-méthylbut-2- ényldiphosphate réductase (HDR). Bien que le HDR dans la voie MEP produise à la fois de l'IPP et du

## DMAPP (Nagegowda, 2010) (Figure 9)



**Figure 9: Formation du motif isoprénique par la voie du désoxyxylulose phosphate (Dewick, 2002).**

La condensation d'une molécule d'IPP avec une molécule de diméthylallyl diphosphate (DMAPP), lui-même dérivé de l'isomérisation réversible de l'IPP par l'IPP isomérase, donne le composé géranyl-diphosphate (GPP) qui est le précurseur immédiat des monoterpènes (**Figure 10**). L'ajout d'une autre unité IPP de manière similaire en GPP produit du farnésyl-diphosphate (FPP), le précurseur des sesquiterpènes et triterpènes, et une addition supplémentaire d'IPP à FPP fournit le diphosphate de géranyl-géranyle (GGPP), le précurseur des diterpènes et des tétraterpènes. Prényl plus long (allylique). Les diphosphates sont produits de la même manière par des ajouts ultérieurs d'IPP. Ces réactions de condensation électrophile sont catalysées par des prényl transférases (Teranishi et Wick, 1998).



**Figure 10: Formation des C<sub>10</sub>, C<sub>15</sub>, et C<sub>20</sub> prényl diphosphate à partir de la fusion des unités d'isoprènes (IPP) en C<sub>5</sub> (Wink, 2011).**

La troisième phase de la biosynthèse volatile des terpènes implique la conversion des différents diméthylallyliques diphosphates, DMAPP (C<sub>5</sub>), GPP (C<sub>10</sub>), FPP (C<sub>15</sub>) et diphosphate de géranylgeranyle (C<sub>20</sub>), aux hémiterpènes (isoprène et 2-méthyl-3-butène-2-ol), monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes, respectivement. Celles-ci réactions, effectuées par une grande famille d'enzymes appelés terpènes synthases (**Dudareva et al., 2004**). Ces enzymes, également appelées terpènes cyclases, car la plupart de leurs produits sont cycliques (**Wink, 2011**).

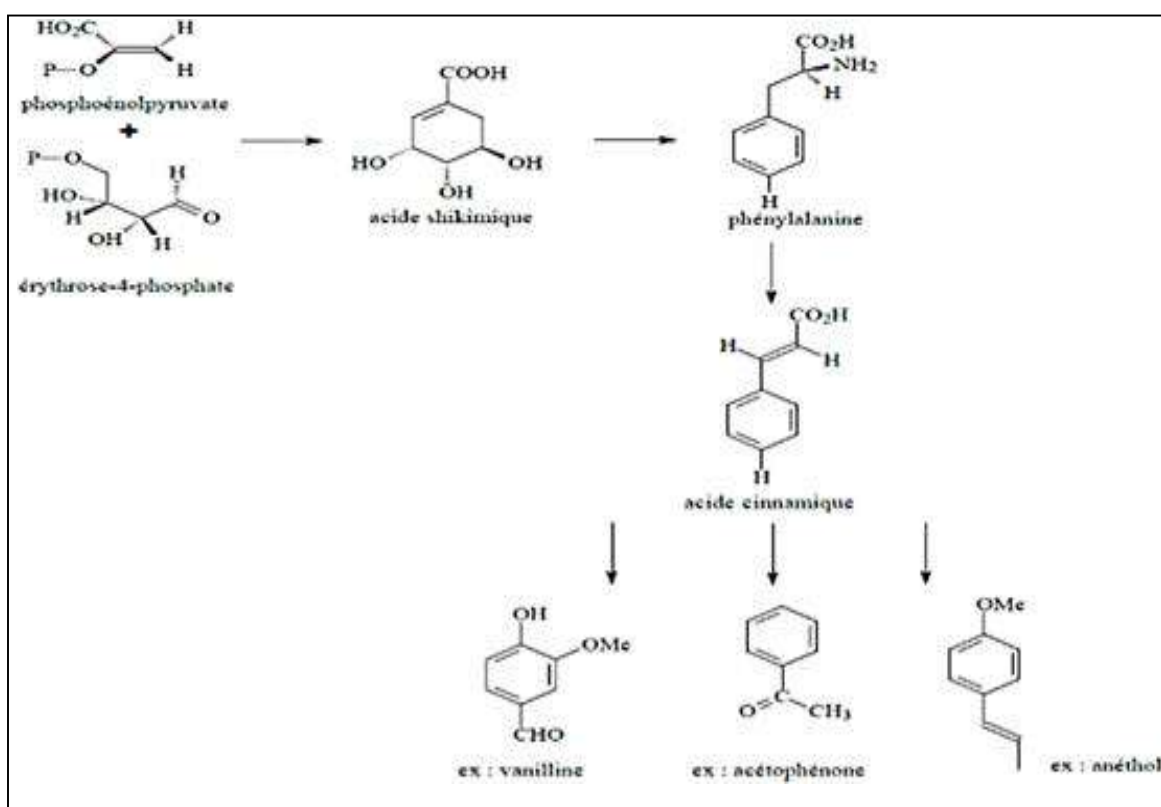
Les mécanismes de réaction ces derniers impliquent l'ionisation du substrat de prényl diphosphate, qui dépend d'un ion métallique divalent comme Mn<sup>2+</sup> ou Mg<sup>2+</sup> et également la synthèse d'intermédiaires de carbocation réactifs (**Rehman et al., 2016**) très similaire à celle employée par les prényl transférase. Suivi par les transformations secondaires que les terpènes cycliques formés initialement sont soumis à un assortiment d'autres modifications enzymatiques, y compris oxydations, réductions, isomérisations et conjugaisons, pour produire le large éventail de produits finaux terpénoïdes trouvés dans les plantes (**Brada et al., 2007**).

#### II. 4. 2. Biosynthèse des composés aromatiques

Les phénylpropanoïdes sont regroupés sur la base de leur origine biosynthétique commune de la voie de l'acide shikimique. Cette voie ne se produit que dans les micro-

organismes et les plantes, jamais chez les animaux. La voie de l'acide shikimique est responsable de la synthèse de nombreux composés phénoliques dans les plantes et, à partir du glucose dans les plantes, produit les acides aminés aromatiques phénylalanines, tyrosine et tryptophane. Cet intermédiaire se forme par une série de conversions biogénétiques, dont la première étape est une condensation aldolique stéréospécifique, entre le phosphoénol pyruvate et l'érythro-4-phosphate pour former un composé en C<sub>7</sub>, dont la cyclisation conduit à l'acide déhydroquinique (**Figueredo, 2007**).

Après cyclisation Celui-ci donne l'acide shikimique après une déshydratation et une réduction NADPH-dépendantes. C'est à partir de l'acide shikimique que se forment les acides aminés aromatiques (dits essentiels) que sont le tryptophane, la tyrosine mais surtout la phénylalanine dont sont issus les phényl propanoïdes. La phénylalanine est transformée par la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) en acide cinnamique qui donnera à son tour et au terme de diverses réactions plusieurs groupes de composés que sont les coumarines, les lignanes, les flavonoïdes, les tannoïdes, etc, ainsi que les phénylpropanoïdes (**Deschepper, 2017**).



**Figure 11: Synthèse des dérivés phénylpropanique dérivés (Figueredo, 2007).**

## II.5. Méthodes d'extraction d'huile essentielle

### II.5. 1. Expression à froid

L'expression ou la pression à froid est la méthode d'extraction la plus ancienne et est utilisée presque exclusivement pour la production d'agrumes HE. Cette technique est une extraction sans chauffage et est assurément le plus simple mais aussi le plus limité (**El haib, 2011**). Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'HE est séparé par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'HE, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau (**Goudjil, 2016**). Bien que cette méthode conserve une valeur élevée d'odeur d'agrumes, la consommation élevée d'eau peut affecter la qualité des HE en raison de l'hydrolyse, de la dissolution composés oxygénés et transport de micro-organismes (**Li et al., 2014**).

### II. 5. 2. Extraction par solvant

L'extraction par solvant peut être utilisée pour extraire des HE qui sont thermiquement labiles (par exemple, de la fleur) (**Rehman et al, 2016**). Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Dans le processus d'extraction par solvant, les plantes sont immergées dans un solvant organique approprié (**Peters, 2016**). C'est-à-dire en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer, dans un extracteur, un solvant volatil et la matière végétale à traiter (**Figure 12**). Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique (**Najib et al., 2019**).

L'extraction par solvant est peu coûteuse et relativement rapide et parce que les vitesses de diffusion sont influencées par la température, mais ceci n'est pas considéré comme le meilleure méthode d'extraction que les solvants peuvent laisser une petite quantité de résidus derrière laquelle pourrait provoquer des allergies et affecter le système immunitaire système (**Preedy, 2003; Li et al, 2014**).



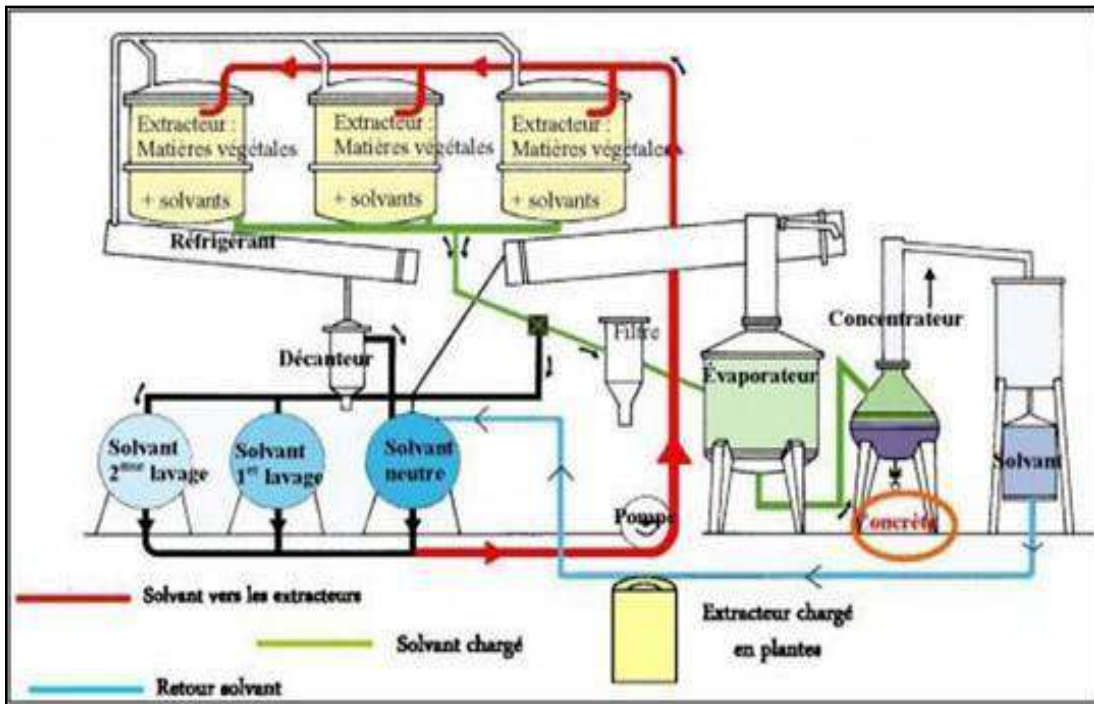


Figure 12: Schéma d'une installation d'extraction par solvant.

### II.5.3. L'enfleurage

L'enfleurage est la méthode traditionnelle et intensive d'extraction des HE des fleurs, qui ont les parfums les plus délicats comme la tubéreuse et le jasmin, c'est à dire, ont de si faibles teneurs en HE ou trop délicates que de les chauffer détruirait les fleurs avant de libérer le HE (Li *et al*, 2014). Dans ce processus, la graisse est déposée sur le pétale de fleur pour but de l'extraction. Après l'absorption des huiles essentielles par les graisses des pétales de fleurs (Preedy, 2003), si les fleurs mortes sont remplacées par de nouvelles toutes les 24 heures, jusqu'à ce que la concentration souhaitée soit atteinte (Najib *et al.*, 2019). Après, on utilise l'alcool pour la séparation et l'extraction des huiles essentielles de la graisse. À la fin du processus, l'huile essentielle pure est recueillie par évaporation de l'alcool (Preedy, 2003).

L'enfleurage peut être réalisé avec des graisses froides ou chaudes. La qualité de la graisse utilisée est très importante. Il doit être inodore et propre de toutes impuretés. Les extraits bruts sont généralement de couleur foncée en raison de la concentration plus élevée de graisse due à l'évaporation de l'éthanol. Cela peut être filtré davantage (Hunter, 2009).

#### II.5. 4. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La distillation à la vapeur est l'une des méthodes anciennes et officielles approuvées pour l'isolement des HE provenant de matières végétales (Li *et al.*, 2014). Dans ce processus, le matériel végétal est placé dans un alambic, et la vapeur est forcée sur le matériau (Figure 13). La vapeur chaude aide à libérer les molécules aromatiques du matériel végétal. Les molécules de ces huiles volatiles s'échappent alors du matériel végétal et évaporent dans la vapeur. La température de la vapeur doit donc être soigneusement contrôlée. La température doit être juste assez pour forcer le matériel végétal à libérer l'HE (Preedy, 2003). Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier (Najib *et al.*, 2019).

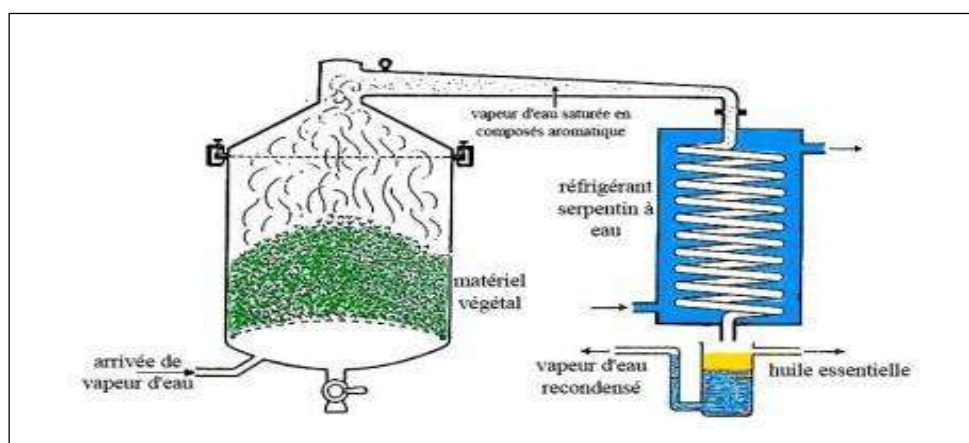
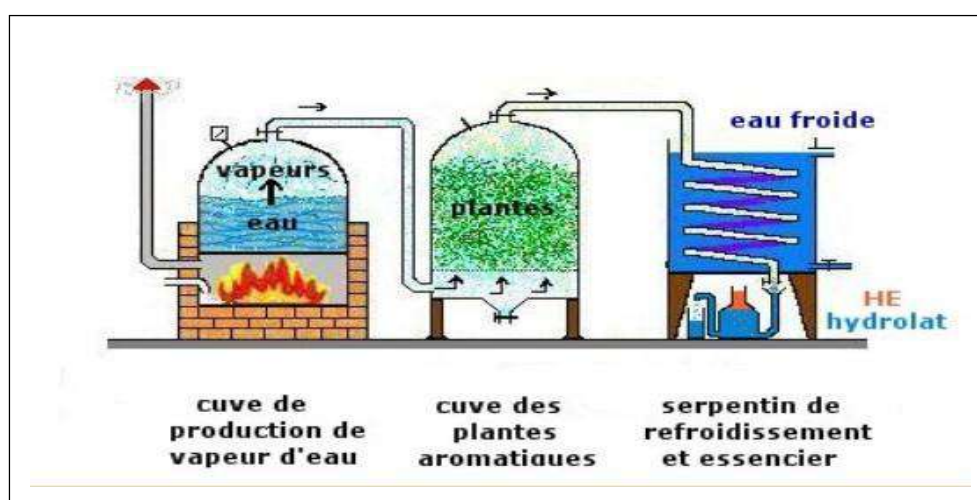


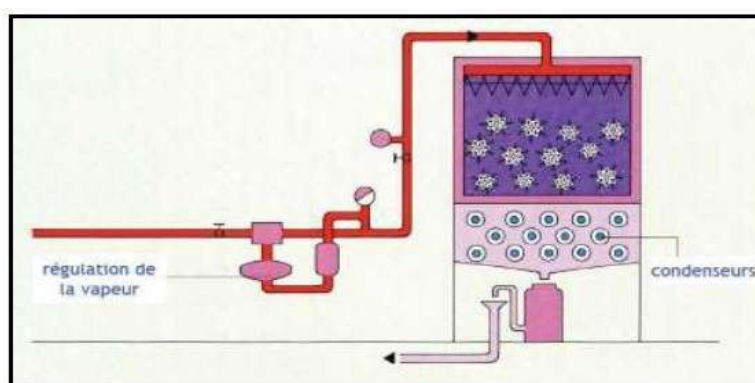
Figure 13: Schéma d'une installation à la vapeur (El Haib, 2011).

Il existe deux autres processus qui sont une variante de la distillation à la vapeur, ce sont l'hydrodistillation et l'hydro-diffusion. La première méthode est recommandée par la Pharmacopée française pour l'extraction des HE à partir d'épices séchées et contrôle de la qualité des HE en laboratoire (Li *et al.*, 2014). Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition (Najib *et al.*, 2019). La vapeur force l'ouverture des parois cellulaires et l'évaporation de l'huile se produit entre les cellules végétales. La vapeur, qui se compose du mélange d'huile et d'eau, passe ensuite à travers un condenseur où il se refroidit finalement, la formation de deux phases liquides qui peuvent être séparées à lieu comme le (Figure 14) (Peters, 2016). L'hydrodistillation possède des limites. Le chauffage prolongé et puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques (Najib *et al.*, 2019).



**Figure 14: Schéma d'une installation d'hydrodistillation.**  
(<http://www.inconscients.com/phyto/maladies/fabricationhe.php>).

L'autre, elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale (**Figure 15**). L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (**El Haib, 2011**).



**Figure 15: Schéma du procédé d'hydrodiffusion (Bousbia, 2011).**

### II.5. 5. Extraction avec des gaz supercritiques

En général, les méthodes d'extraction conventionnelles telles que la distillation à la vapeur et l'extraction par solvant ont été traditionnellement utilisées ; cependant, ces méthodes présentent des inconvénients tels qu'un faible rendement, une perte de composés volatils, de longs temps d'extraction et des résidus de solvants toxiques (**Khajeh et al., 2005**). Cela a conduit au développement de techniques d'extraction alternatives qui peuvent surmonter ces problèmes. Une alternative à ces méthodes conventionnelles est

l'extraction par fluide supercritique (SFE) qui a été introduite et étudiée en profondeur (Preedy, 2003). L'extraction du dioxyde de carbone supercritique (CO<sub>2</sub>) permet d'obtenir des huiles de haute qualité, car aucune trace de solvant ne reste dans le produit final, ce qui le rend plus pur que ceux obtenus par autres méthodes (Peters, 2016).

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état super-critique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (El haib, 2011) (Figure 16). Cette méthode produit également des extraits très proches de la nature en raison de l'absence de chaleur dans le processus, laissant ainsi constituants volatils intacts dans tout extrait (Hunter, 2009).

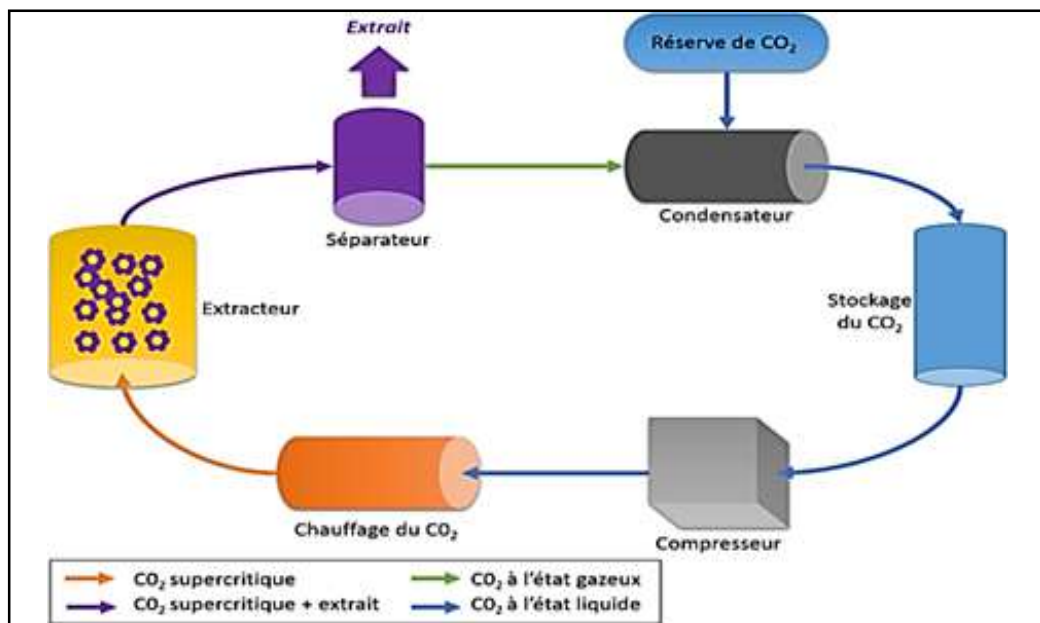


Figure 16: Schémat simplifié d'un extracteur au CO<sub>2</sub> supercritique (Deschepper, 2017).

## II. 5. 6. Extraction assistée par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée Solvent Free Microwave Extraction ou SFME consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Cette méthode permet de réaliser des extractions de produits naturels à pression atmosphérique et sans solvant. Une assistance micro-ondes permet le chauffage de l'eau intrinsèque de la plante et provoque la distillation azéotropique d'un mélange eau/HE. Les vapeurs sont condensées par un

système de refroidissement et sont redirigées dans l'appareil de Clevenger, dans lequel les vapeurs recondensées seront séparées par simple séparation de phase. Un système de cohobation permet à la phase aqueuse éliminée du réacteur de distillation de retourner dans celui-ci, maintenant ainsi le taux d'humidité naturel de la plante (Fernandez et Chemat, 2012 ; Goudjil, 2016).

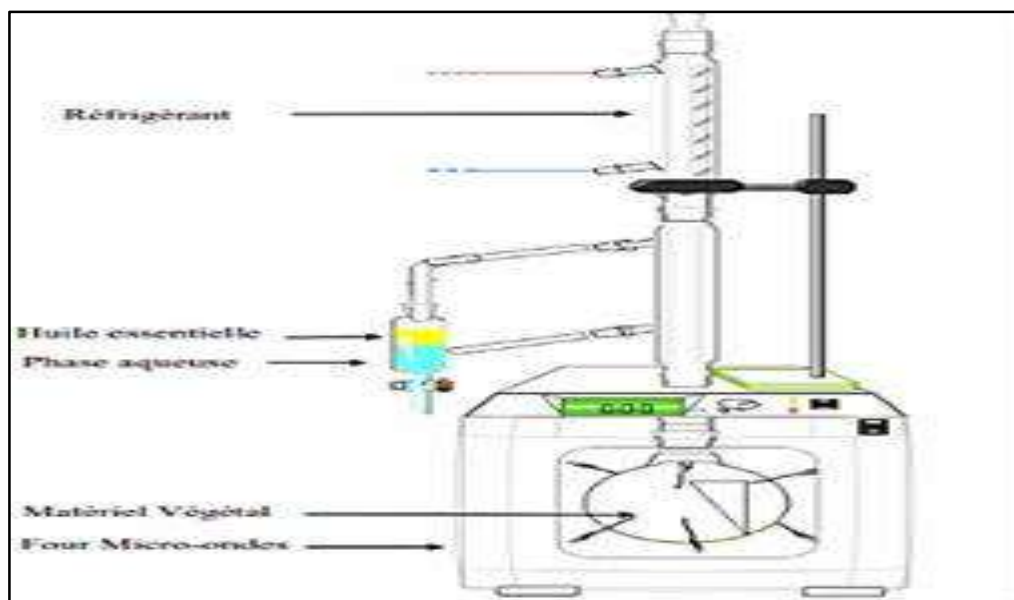


Figure 17 : schéma présentée l'extracteur par micro-ondes (Goudjil, 2016).

## II. 6. Activités biologiques des huiles essentielles

Les HE sont utilisées depuis plus de 5000 ans à diverses fins, notamment soins personnels (c-à-d parfums et cosmétiques), aliments, soins à domicile, répulsifs pour les humains et les animaux (bétail et animaux domestiques) et agents de promotion de la santé pour le traitement de diverses maladies (Sharifi-Rad *et al.*, 2017).

### II. 6. 1. Les huiles essentielles en tant qu'antioxydants

Dans un sens large, les antioxydants sont toutes des substances qui peuvent protéger les matériaux (pas seulement les aliments) contre l'autoxydation, quel que soit le mécanisme d'action. Plus exactement, ces composés devraient être appelés inhibiteurs d'oxydation, et seules les substances qui inhibent l'oxydation par réaction avec les radicaux libres devraient être appelées antioxydants (Pospíšil, 1989).

Le potentiel de récupération des radicaux libres est une méthode importante pour la détermination de l'activité antioxydante. Les antioxydants peuvent également inhiber la

décomposition des hydroperoxydes lipidiques, qui autrement formeraient des radicaux libres. L'effet relatif de la rupture par oxydation de la chaîne sur la stabilisation de l'hydroperoxyde peut dépendre de la concentration (**Rahman *et al.*, 2020**).

En particulier, l'oxydation des lipides est un problème récurrent dans l'alimentation parce qu'elle implique des altérations organoleptiques. Par conséquent, les industriels suite aux propositions faites par des chercheurs, ont recouru aux huiles essentielles en tant qu'antioxydants en alimentaire (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Un certain nombre d'études ont déjà été menées pour prouver que certaines huiles essentielles à partir de plantes naturelles, Comme l'étude qu'il a faite par (**Olmedo *et al.*, 2013**) qui ont évalué l'effet des HE d'origan et de romarin sur les stabilités oxydative et fermentative de fromage aromatisé préparé à base de fromage à la crème. Leur étude montre que les HE d'origan et de romarin ont démontré un effet protecteur contre l'oxydation et la fermentation des lipides dans le fromage aromatisé préparé à base de fromage à la crème (**Preedy, 2003**). L'activité antioxydant peuvent non seulement jouer un rôle clé dans la limitation de l'oxydation lipidique des viandes et autres aliments gras en particulier mais contribuent également au développement d'une odeur agréable et d'un goût favorable pour les consommateurs (**Rahman, 2007**).

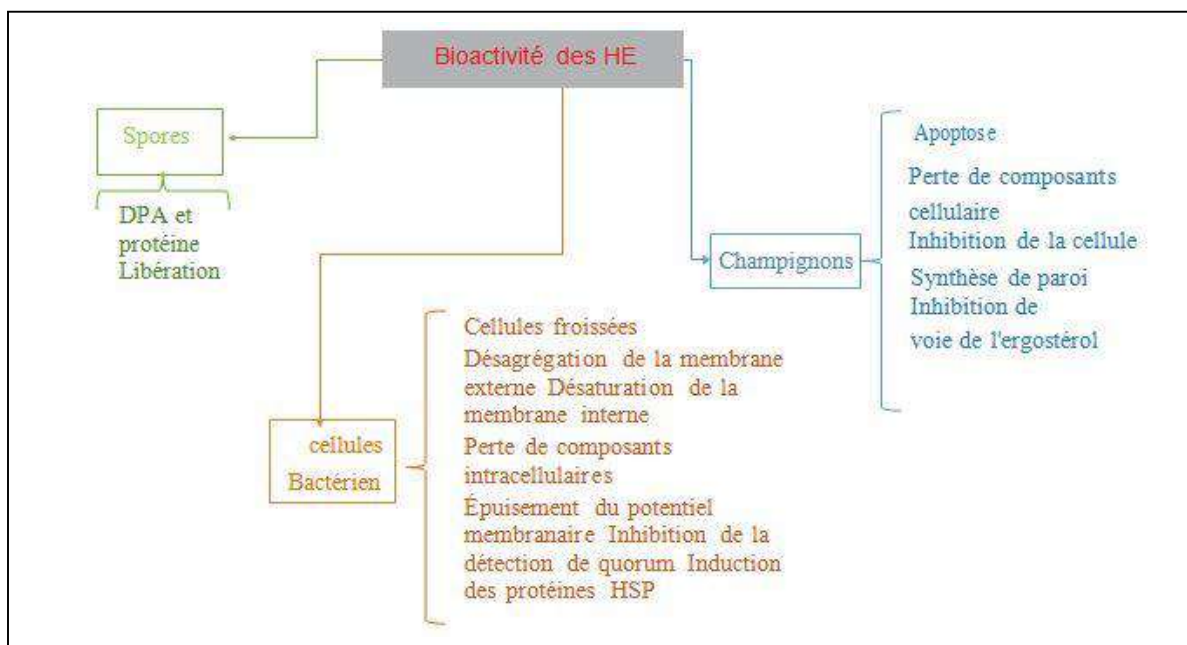
## II. 6. 2. Les huiles essentielles en tant qu'antimicrobiens

Plus récemment, la prévalence de la résistance aux antimicrobiens a incité les chercheurs à découvrir de nouvelles molécules antimicrobiennes principales pour traiter divers agents pathogènes humains (**Rudramurthy *et al.*, 2016**)

Certains des médicaments synthétiques actuellement disponibles ne parviennent pas à inhiber de nombreux microbes pathogènes. De plus, l'utilisation de produits chimiques synthétiques pour le contrôle des micro-organismes pathogènes est limitée en raison de leurs effets cancérigènes, de leur toxicité aiguë et de leur potentiel de danger pour l'environnement (**Mulyaningsih *et al.*, 2010**). À cet égard, l'exploitation des HE pour lutter contre les microorganismes pathogènes épidémiques multirésistants peut être utile pour lutter contre diverses maladies infectieuses (**Swamy *et al.*, 2016**).

L'activité antimicrobienne des HE est probablement liée à leur hydrophobicité, responsable de l'augmentation de la perméabilité cellulaire et de la perte de composants cellulaires (**Bohme *et al.*, 2014**). Les résultats finaux pourraient être la lyse et la mort qui

signifie. Généralement, la propriété antimicrobienne des HE est établie par deux catégories selon la type de microorganismes et molécules bioactives: inhibitrices ou bactériostatiques capacité de multiplication des cellules microbiennes; et activité létal ou microbicide pour cellules microbiennes (Li et al, 2014). La Figure 18 montre les différentes activités biologiques des HE.



**DPA: acide dipicolinique; HSP: protéines de choc thermique**

**Figure 18: Mode d'action des HE contre les bactéries et les champignon (Hashemi et al., 2017).**

Parmi les principales propriétés des HE comme activités antimicrobiennes sont :

**a. Propriétés antibactériennes:** Plusieurs chercheurs ont proposé que dans la plupart des cas, les HE confèrent des activités bactérienne en perturbant la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique, conduisant la lyse et de fuite intracellulaire des constitués (Burt, 2004 , Trombetta et al, 2005). Les composés ayant la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols (thymol, carvacrol et l'eugénol). Par ailleurs, certaines bactéries résistantes aux antibiotiques peuvent être inhibées par les HE comme c'est le cas des staphylocoques (Fisher et Phillips, 2009).

Friedman et al. (2004), ont étudié l'activité antibactérienne de 17 HE végétales et de neuf composants efficaces de l'HE sur les agents pathogènes d'origine alimentaire *E. coli* O157: H7 et *Salmonella enterica* dans les jus de pomme.

Huile d'origan, carvacrol, eugénol, géraniol, huile de feuille, cannelle, huile de clou de girofle, citral, huile d'écorce de cannelle, huile de citronnelle et huile de citron étaient le plus actif contre *E. coli*. Les composés efficaces contre *S. enterica* étaient le

carvacrol, huile de mélisse, terpeineol, huile d'origan, huile de citron, géranol, huile de citronnelle, citral, linalol et huile de feuille de cannelle. L'effet inhibiteur de ces matériaux était plus fort sur *S. enterica* que *E. coli* et augmentait avec le temps et la température de stockage (**Basim et Basim, 2003**) Actuellement dans nombreux pays, les HE d'origan, de thym, de coriandre ou de cannelle sont efficaces sur la viande et les légumes. D'autre part, l'incorporation d'huile essentielle aux films d'emballage alimentaire les transforme en une forme active d'emballage qui ne remplit pas seulement leurs fonctions principales d'un pack, mais agissent également comme un outil pour transporter l'huile essentielle pour améliorer la sécurité et la durée de conservation des nourritures emballée (**Hashemi et al., 2017**).

Autre étude sur différentes combinaisons d'huiles essentielles a montré que l'origan combiné avec le thym avait des effets sévères contre les organismes de détérioration et la combinaison de mélisse et le thym a conduit à une plus grande activité contre les souches de *Listeria* (**Avila -Sosa et al., 2012**).

Aussi cinnamaldéhyde, le principal composé de l'huile de cassia est considéré comme composés fongicides et bactéricides de sources naturelles, qui peuvent offrir possibilités intéressantes de désinfection des fruits et légumes frais et peu transformés (**Rahman, 2007**).

**b. Propriétés antifongique :** l'action antifongique des HE est assez similaire à celle trouvée pour les bactéries. Les HE ont la capacité de pénétrer et de perturber la paroi cellulaire fongique et les membranes cytoplasmiques par perméabilisation (**Ribeiro et Simões, 2014**).

L'activité fongicide des HE a été démontrée dans plusieurs études. L'effets antifongique de vingt HE contre les moisissures les plus importantes concernant la détérioration des produits de boulangerie (*Eurotium spp.*, *Aspergillus sp.* et *Penicillium sp.*) a fait l'objet d'une étude par **Guynot et al. (2005)**. Les résultats ont montré que seule l'HE de cannelle, de romarin, de thym, de laurier et de clou de girofle présentaient une activité antifongique contre tous les champignons, ce qui suggère une possibilité d'utiliser les HE comme alternatives aux synthétiques produits chimiques pour la conservation des produits de boulangerie. Les constituants les plus actifs (carvacrol et thymol) dans l'HE d'origan ont exercé une activité fongicide la plus forte de sorte que cette huile essentielle a été identifiée comme la plus active contre divers champignons (**Li et al, 2014**).

L'huile d'origan est fongicide vis-à-vis de *Candida albicans*, une levure pathogène



pour l'Homme, et peut être très efficace dans la prévention et le traitement de la candidose. (Fernandez et Chemat, 2012).

Les effets des huiles d'eucalyptus, de romarin et d'armoise ont été évalués par Khaddor *et al.* En 2006 sur le mycélium de *Penicillium aurantiogriseum* et de *P. viridicatum* toxinogènes. L'inhibition de la croissance du mycélium a été très efficace pour l'armoise a été observée (Chamet *et al.*, 2009).

### II. 6.3. Les huiles essentielles en tant qu'insecticide

Diverses études sur les insecticides ont montré que les métabolites secondaires (HE, terpénoïdes, polyphénols, stéroïdes et alcaloïdes) synthétisés par les plantes sont responsables pour l'activité phytoprotectrice contre les agents pathogènes des plantes et les ravageurs, parmi les HE présentaient leurs propriétés insecticides, nématicides, acaricides et larvicides significatifs. Les HE agissent non seulement comme des poisons ou des neurotropes sur le système nerveux des insectes, mais peut également intervenir dans la respiration cellulaire soit en inhibant l'oxydation cellulaire par interruption du transfert dans la chaîne respiratoire ou par asphyxie par la formation d'un film imperméable isolant les insectes de l'air (Chemat et Fernandez, 2012).

De plus, ils peuvent avoir un pouvoir inhibiteur de l'activité enzymatique et de la croissance des insectes par rapport à adultes, larves et œufs aussi la plupart de ces insecticides synthétiques sont non dégradables et en fait, ils vont s'accumuler et sont persistants dans l'environnement ou corps humains à travers les chaînes alimentaires, qui causent souvent des maladies chroniques et d'autres troubles physiologiques graves (Li *et al.*, 2014).

Aussi les HE ont un effet toxique pour les insectes des greniers et insectes volants. Les huiles d'Eucalyptus (Myrtaceae) et de Gaultheria (Ericaceae) ont montré effet toxique élevé pour tuer les insectes (Mateeva et Karov, 1983).

### II.7. Toxicité des huiles essentielles

Habituellement, les constituants chimiques présents dans les HE n'ont pas de risque notable lié avec la prise orale (Hashemi *et al.*, 2017).

La majorité des HE, à des doses suffisamment élevées, entraîneront des effets toxiques. La toxicité des huiles essentielles peut être évaluée dans des tests de laboratoire tels que des tests de cytotoxicité, où les effets des huiles sur les cellules animales sont examinés, ou *in vivo*, lorsque des animaux de laboratoire sont exposés à l'huile essentielle et les effets toxiques sont enregistrés. Certaines informations peuvent également être

extraites d'instances où les humains ont montré des effets toxiques après une exposition aux HE (Thormar, 2010).

Des études de toxicité ont été effectuées sur différents produits chimiques ingrédients (menthol, carvone, limonène, citral, cinnamaldéhyde, benzaldéhyde, benzyle acétate, 2-éthyl- 1-hexanol, anthranilate de méthyle, acétate de géranyle, furfural, eugéol et isoeugéol) présent dans les huiles essentielles (**Hashemi *et al.*, 2017**). Malgré leur image de «naturelle», les huiles essentielles sont loin d'être non toxiques. Un spectre toxique peut être utilisé chez l'homme suite à une exposition aux huiles essentielles.

Une intoxication extrême est survenue après l'ingestion d'huiles essentielles, dont l'arbre à thé (**Morris *et al.*, 2003**) lavandin (**Landelle *et al.*, 2008**) eucalyptus (**Flaman *et al.*, 2001**) et clou de girofle (**Janes *et al.*, 2005**). Les empoisonnements se sont principalement produits chez les enfants après ingestion accidentelle, le principal symptôme clinique étant le système nerveux central dépression. L'empoisonnement, cependant, est un événement relativement rare; le moins grave indésirable les événements d'irritation et d'allergie sont plus fréquents (**Thormar, 2010**).

## *Etudes antérieures*

### III.1. Résultats

Ces dernières années, des efforts considérables sont investis dans la recherche d'additifs alimentaires naturels efficace avec un large spectre d'activités antioxydantes et antimicrobiennes susceptibles d'améliorer la qualité et la durée de conservation des denrées périssables (**Del Nobile et al., 2012**)

Les maladies d'origine alimentaire constituent actuellement un réel problème car la consommation des fruits et légumes altérés ou bien traités par des produits chimiques. En particulière les légumes verts feuilles comme la laitue sont très sensibles à la contamination microbienne en raison de leur forte teneur en humidité et en nutriments ainsi que de leurs grandes surfaces.

Pour cette raison, notre objective est d'évaluer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles contre les microorganismes d'altération et pathogène responsable à l'altération des laitues pour améliorer sa qualité et augmenter sa durée de conservation. Le **tableau V** regroupe les résultats de quelques travaux sur différentes huiles essentielles qui ont appliqués pour la conservation microbienne des laitues.

**Tableau VI.** Résultats de l'activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles selon certaines études antérieures

Les huiles essentielles	Résultats	Référence
Cinnamaldéhyde, Sporan	Réduction des populations d' <i>E. Coli</i> O157: H7 et de <i>Salmonella</i> sur l'iceberg et la laitue pendant tout au long du stockage. En plus, le microbiote naturel des feuilles de laitue traitées a augmenté pendant la période de stockage	<b>Yossa et al., 2012</b>
L'arbre à thé, le clou de girofle, le romarin	Inhibition significative sur les populations mésophiles, psychrotrophes et coliformes par l'arbre à thé, le clou de girofle, tandis que le romarin n'a exercé un effet inhibiteur sur toutes les populations microbiennes évaluées.	<b>Ponce et al., 2011</b>
Origan clou de girofle et zataria	HE de clou de girofle et de zataria exercent une activité antibactérienne contre <i>E. coli</i> . Bien que, l'HE de clou de girofle s'est avérée efficace contre <i>E. coli</i> O157: H7 et microbiote endogène des salades. Quant à l'origan a faible activité antimicrobienne contre <i>E. coli</i> O157: H7 mais leurs composés (carvacrol et thymol) a montré une forte activité bactéricide.	<b>Azizkhani et al., 2013</b>
Arbre à thé et Clou de girofle	L'arbre à thé inhibe des mésophiles, coliformes totaux, psychrophiles, de levures et de moisissures à la récolte et après 5 jours de stockage réfrigéré, sans affecter ses caractéristiques sensorielles. Alors que, l'absence d'activité antimicrobienne, après récolte du	<b>MG Goñi et al., 2013</b>

	clou de girofle sur les microflores natif de laitue.	
<i>Cinnamomum Zeylanicum</i>	HE de Cannelle ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) à réduire l'attachement de <i>Salmonella</i> à la surface de la laitue lors de l'entreposage frigorifique, avec un impact positif incontestable sur la sécurité alimentaire. L'apparence de la laitue fraîchement coupée	<b>Rossi et al., 2019</b>
Thym et basilic	L'HE de thym (le thymol et le carvacrol) ont montré une inhibition de <i>Shigella</i> sp, où le carvacrol a démontré la plus forte activité antibactérienne contre les Shigelles par rapport à thymol. L'HE de basilic qu'il a une activité antibactérienne limitée	<b>Bagamboula et al., 2004</b>
Origan	HE d'origan était très efficace pour réduire (jusqu'à 4.9 log) <i>S. Newport</i> à la surface des verts feuillés (c-à-d effet contre la résistance aux antibiotiques) dépendant du temps et de la dose.	<b>Moore-Neibel et al., 2013</b>
Origan et le citral	Des films composés de structures PP / EVOH avec de l'huile essentielle d'origan ou du citral a donné d'excellents résultats contre <i>E. coli</i> , <i>S. enterica</i> et <i>L. monocytogenes</i> , bien que les effets antimicrobiens observés sur la salade soient plus faibles en raison des interactions agent / matrice alimentaire.	<b>Muriel-Galet et al., 2012</b>
Arbre à thé	HE d'arbre à thé n'a montré aucune réduction significative de la microflore native de la laitue tout au long de l'entreposage réfrigéré après la récolte et il n'a pas parviennent à réduire la croissance exogène d' <i>E. coli</i> .	<b>Gõni et al .,2014</b>

### III.2. Discussion

D'après le **tableau VI**, la différence entre les résultats rapportés à partir de différentes études antérieures est en relation avec les différentes compositions chimiques des HE, type d'HE, méthode de traitement utilisée et souche bactérienne recherchée.

Entièrement, les divers résultats on obtient que les germes les plus recherché dans la laitue sont *E.coli*, *Salmonel*, *Listéria*. **Nevárez-Moorillón et al., (2020)** ont prouvé pour ces germes sont parmi les bactéries pathogènes les plus critiques pour la production d'aliments.

D'autre part, Nous avons également noté à partir des résultats précédents que nombreuses HE et leurs composés majoritaires ont été définis comme antibactériens. Leur spectre d'action est très large, ils agissent contre un large éventail de bactéries y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques.

Cette activité est, par ailleurs, variable d'une HE à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre. Alors que, dans notre étude diverses HE ont un effet antimicrobien plus important sur *E.coli* et *Salmonel* que *Listeria*, malgré, ce sont des Gram négatifs.

À cet égard, il existe une controverse basée sur le fait que les huiles ont un effet sur un gram positif plus que sur un gram négatif, cela dépend d'une différence dans la composition de la paroi et donc, la paroi des bactéries à gram positif est riche en acide téichoïque, lequel est absent dans les bactéries à gram négatif, qui ont une structure plutôt riche en lipides chez les bactéries à gram positif. Pour les bactéries à gram négatif, la structure est plus complexe et son épaisseur est d'environ 10nm (**Oussalah et al., 2007**).

Cependant, il n'y a pas de règle générale pour la sensibilité à Gram, car il y a beaucoup de controverse dans les différents ouvrages publiés. Donc, les bactéries Gram-négatives ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des HE.

Précédemment, le thym, l'origan et l'arbre à thé, le clou de girofle étaient considérés comme les huiles les plus importantes qui éliminent les germes pathogènes qui sont infectés la laitue et améliorent la flore normale car il contient des composés ayant la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols tel que thymol, carvacrol et eugénol. Par ailleurs, certaines bactéries, résistantes aux antibiotiques, peuvent être inhibées par les HE.

Actuellement, les études ont montré quelques contradictions et quelques nouvelles d'autres effets des HE ont une capacité forte sur la laitue. Par exemple, il y a beaucoup de controverses existent dans les divers travaux publiés pour l'arbre à thé puisque dans l'étude de **Gõni et al. (2013)**, les résultats obtenus ont montré que l'arbre à thé inhibe des mésophiles, coliformes totaux, psychrophiles, de levures et de moisissures à la récolte et après 5 jours de stockage réfrigéré. Tandis que, **Goni et al. (2014)** a trouvé que l'application d'HE d'arbre à thé n'a montré aucune réduction significative de la microflore native de la laitue tout au long de l'entreposage réfrigéré (après la récolte) et il n'a pas parviennent à réduire la croissance exogène d'*E.coli*. Ces résultats sont en conflit avec les antécédents d'arbre à thé lors d'une utilisation in vitro ou comme bio- conservateur après récolte.

**Ponce et al., (2011)**, rapportent que l'arbre à thé, appliqué sous différentes formes (pulvérisation, immersion), a exercé un effet inhibiteur significatif sur différentes populations microbiennes présentes dans feuilles de laitue, pendant le stockage réfrigéré. Néanmoins, l'activité antimicrobienne d'arbre à thé semble considérablement réduite lorsqu'il est appliqué avant la récolte et pendant le stockage réfrigéré. Les huiles essentielles et leurs composés actifs sont très volatils. Par conséquent, l'application d'HE comme antimicrobiens dans les aliments est souvent déconseillée en raison de la perte potentielle de l'action antimicrobienne en raison de leur volatilité et lipophilie (**Bagamboula et al., 2004**). Cette déclaration pourrait expliquer le manque d'activité antimicrobienne à long terme d'arbre à thé dans la présente étude. Des doses plus élevées d'HE d'arbre à thé pourraient être étudiées à l'avenir en tenant compte de l'effet sensoriel sur la plante en raison de la saveur et odeur caractéristiques de l'HE, qui peuvent rejeter du point de vue des consommateurs.

Aussi dans le cas d'origan, **Muriel-Galet et al., 2012**, ont abouti que l'HE d'origan a donné d'excellents résultats contre *E. coli*, *S. enterica* et *L. monocytogenes*. En revanche, **Azizkhani et al., 2013** montrent que l'origan a faible activité antimicrobienne contre *E. coli* O157: H7. Bien que l'origan avec 46.88% de carvacrol et 15.26% de thymol a montré une forte activité. Par conséquent, l'efficacité de l'HE d'origan n'a pas été démontrée en termes d'application pratique contre *E. coli* O157: H7 dans les salades de jeunes bourgeons.

D'autre part, selon **Rossi et al., 2019**, **Yossa et al., 2012**, l'huile de cannelle contient deux composants qui se sont avérés efficaces pour éliminer le germe pathogène et *Cinnamomum* en tant que petites concentrations d'HE de Cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) à réduire l'attachement de *Salmonella* à la surface de la laitue lors de l'entreposage frigorifique, avec un impact positif incontestable sur la sécurité alimentaire et l'apparence de la laitue fraîchement coupée. Il y a aussi autre HE prouvée pour être efficace comme zataria, sarriette (**Azizkhani et al., 2013 ; Ozturk et al., 2016**).

Il semble que la différence dans les activités antibactériennes des HE peut être liée à la concentration et à la nature du contenu, à la composition respective, la volatilité...etc (**Chang et al., 2001**). Il est actuellement bien connu que la composition chimique de l'HE d'une espèce végétale particulière peut varier en fonction de l'origine géographique, de période de récolte ou encore de la méthode d'extraction, ce qui serait à l'origine de

variabilité dans le degré de sensibilité des bactéries à Gram négatif et positif. Les composés ayant la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols: thymol, carvacrol et eugénol.



## *Conclusion*

## Conclusion

La laitue est un légume feuillé commun et varie de couleur jaune au vert foncé ou rouge et elle pousse partout dans le monde. Elle se caractérise par de nombreuses vitamines, minéraux et antioxydants en plus de sa teneur élevée en fibres alimentaires et en eau. La laitue a divers types qui sont laitue iceberg, cos, butterhead et laitue à couper.

La consommation de la laitue peut entraîner des risques potentiels pour la santé en raison de certaines pratiques agricoles inappropriées tel que l'irrigation des plantes avec de l'eau contaminée qui entraîné leur altération par des bactéries (*Salmonella* et *E. coli.*).

Les procédés organiques et conventionnels, tels que les désinfectants à base de chlore, sont couramment utilisés sur les surfaces des fruits et légumes. L'efficacité de cet antiseptique dépend de leur état chimique, des conditions physiques et thérapeutiques, de la résistance aux agents pathogènes et de la nature de la surface du produit. En conséquence, le chlore peut également former des composés nocifs. En raison de ces limitations, des désinfectants naturels alternatifs sont nécessaires pour les réduire ou les éliminer.

Les plantes aromatiques ont un arôme et une saveur uniques qui sont dérivés à partir de composés appelés phytochimiques ou métabolites. Les composés phytochimiques sont des substances antimicrobiennes présentes dans les plantes aromatiques ; tandis qu'ils sont bénéfiques pour les plantes, ils repoussent également les organismes nuisibles.

De nombreuses classes de produits phytochimiques, y compris les isoflavones, les anthocyanes, les flavonoïdes, les terpènes et les huiles essentielles trouvent dans les espèces végétales principalement utilisées pour leurs propriétés médicinales ou aromatiques en pharmacie et parfumerie.

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires qui jouent un rôle spécifique dans la préservation des plantes contre les conditions impropres de l'environnement où il agit comme répulsif pour les insectes ou les animaux en plus d'agents défensifs, aussi dans les utilisations médicinales et thérapeutiques de certains d'entre eux.

Parmi les méthodes les plus importantes d'extraction des huiles essentielles : expression au froid, par solvant, en fleurage, par entraînement à la vapeur d'eau, extraction avec des gaz supercritique et l'extraction assisté par micro-onde. La plupart des HE sont constituées d'un mélange de terpènes et de composés phénoliques responsables de leur activité antimicrobienne.

Le phénol est le composant le plus important dans les huiles essentielles telles que le thymol, le carvacrol, l'eugénol possèdent une importante activité antibactérienne qui inhibe les bactéries pathogènes (*E. coli* et *Salmonel*) et préservent la microflore endogène de la laitue. L'effet de ce dernier a une relation positive avec la concentration et le temps car il agit contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent une résistance aux antibiotiques.

Les HE agissent également bien sur les bactéries Gram-positives que sur les bactéries Gram-négatives. Cependant, il n'existe pas de règle générale de sensibilité par rapport au gramme car beaucoup de controverse existent dans les différents travaux publiés.

Parmi les aspects positifs des huiles essentielles, il y a également le fait qu'elles sont la capacité de prolonger la durée vie de la laitue, en plus d'améliorer le goût, mais avec des concentrations étudiées.

Il est actuellement bien connu que la composition chimique de l'HE d'une espèce végétale particulière peut varier en fonction de l'origine géographique, de période de récolte ou encore de la méthode d'extraction, ce qui serait à l'origine de variabilité dans le degré de sensibilité des bactéries à Gram négatif et à Gram positif.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

**Aleksic, V., et Knezevic, P. (2014).** Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(4), 240-254.

**Arigesavan, K., et Sudhandiran, G. (2015).** Carvacrol exhibits anti-oxidant and anti-inflammatory effects against 1, 2-dimethyl hydrazine plus dextran sodium sulfate induced inflammation associated carcinogenicity in the colon of Fischer 344 rats.

**Astani, A., Reichling, J., et Schnitzler, P. (2010).** Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 24(5), 673-679.

**Astani, A., Reichling, J., et Schnitzler, P. (2011).** Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2011.

**Avila-Sosa, R., Palou, E., Munguía, M.T.J., Nevárez-Moorillón, G.V., Cruz, A.R.N., et López-Malo, A. (2012).** Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *International Journal of Food Microbiology*, 153: 66–72

**Azizkhani, M., Elizaquível, P., Sánchez, G., Selma, M. V., et Aznar, R. (2013).** Comparative efficacy of *Zataria multiflora* Boiss., *Origanum compactum* and *Eugenia caryophyllus* essential oils against *E. coli* O157: H7, feline calicivirus and endogenous microbiota in commercial baby-leaf salads. *International journal of food microbiology*, 166(2), 249-255.

**Bączek, K.B., Kosakowska, O., Przybył, J.L., Pióro-Jabrucka, E., Costa, R., Mondello, L., Gniewosz, M., Synowiec, A., et Węglarz, Z. (2017).** Antibacterial and antioxidant activity of essential oils and extracts from costmary (*Tanacetumbalsamita* L.) and tansy (*Tanacetumvulgare* L.).

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

**Basim, E., et Basim, H. (2003).** Antibacterial activity of *Rosa damascena* essential oil. *Fitoterapia*, 74(4), 394-396

**Bassard, J. (2019).** Compréhension moléculaire de la synthèse de métabolites spécialisés chez les plantes – des gènes à leurs fonctions et aux métabolons.

**Beal, M.F. (2003).** Mitochondria, oxidative damage, and inflammation in Parkinson's disease.

**Blancard, D., Lot, H., et Maisonneuve, B. (2003).** Maladies des salades: identifier, connaître, maîtriser. Editions Quae

**Bohme K., Barros-Velazquez J., calo-Mata P., Aubourg S.P. (2014)** Antibacterial, antiviral and antifungal activity of essential oils: mechanisms and applications. In: Villa T.G., & Veiga-Crespo P. (eds.) Antimicrobial Compounds. Berlin: Springer-Verlag, 51–81.

**Bousbia, N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires (Doctoral dissertation).

**Brackett, R. E. (1987).** Microbiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality*, 10(3), 195-206.

**Brada, M., Bezzina, M., Marlier, M., et Carlier, A. (2007).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. 11(1), 3–7.

**Breitmaier, E. (2006).** terpenes: flavores, fragrances, pharmaca, phermones weinheim: wiley 2006)

**Bruneton, J. (2016).** Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales - (5<sup>e</sup> Edition). Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Eds Tec&Doc (2009).

**Buck, J.W., Walcott, R.R., et Beuchat, L.R. (2003).** Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. *Plant Health Prog.* doi: 10.1094/PHP-2003-0121-01-RV.

**Bulletin officiel N:5214-30 rabbis 1-1425 (20.5.2004) relative aux Critères microbiologiques**

**Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. 4<sup>ème</sup> éd. 1269p.

**Caissard, J. C., Joly, C., Bergougnoux, V., Hugueney, P., Mauriat, M., & Baudino, S. (2004).** Secretion mechanisms of volatile organic compounds in specialized cells of aromatic plants *Fitoterapia*, 74: 394–396.

**Carson, C.F., Mee, B.J., et Riley, T.V. (2002).** Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree)

**Chemat, F. (2012).** Green extraction of natural products: concept and principles. *Int J Mol Sci*

- Chemat,F., Varshney,V.K.,et Allaf,K. (2009).** Essential oils and aromas: green extractions and applications.
- Christian,S.S.(2007).** Contribution a l'étude de la qualité bactériologique **des aliments vendus sur la voie publique de Dakar. Université cheikh anta diop de Dakar**
- Cox, S.D., Mann, C.M., Markham , J.L., et al (2000).** The mode of antimicrobial action of essential oil
- Craveiro, A.A., Matos,F.JA., Alencar,J.W., et Plumel,M.M.(1989).**Microwave oven extraction of an essential oil.
- Deborah Chen, H., et Frankel, G. (2005).** Enteropathogenic Escherichia coli: unravelling pathogenesis. *FEMS microbiology reviews*, 29(1), 83-98.
- Dègnon, R. G., Konfo, C. T., Adjou, E. S., GANIERO, E. G., et Dahouenon-Ahoussi, E. (2018).** Evaluation of the Microbiological Quality of Salad Dishes Served in Cotonou Restaurants (Benin). *American Journal of Food Science and Technology*, 6(3), 98-102.
- Del Nobile, M. A., Lucera, A., Costa, C., et Conte, A. (2012).** Food applications of natural antimicrobial compounds. *Frontiers in microbiology*, 3, 287.
- Deschepper, R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. 33(0).
- Di Pasqua ,R., Hoskins, N., Betts, G., et Mauriello, G .(2006)** Changes in membrane fatty acids composition
- Doyle, M. P., Diez-Gonzalez, F., et Hill, C. (Eds.). (2020).** Food microbiology: fundamentals and frontiers. John Wiley & Sons
- Dudareva, N., Pichersky, E., et Gershenzon, J. (2004).** Update on Biochemistry of Plant Volatiles Biochemistry of Plant Volatiles. *Plant Physiology*, 135(4), 1893–1902. <https://doi.org/10.1104/pp.104.049981.1>
- EFSA-Q-2004-2009, Avis du groupe scientifique sur les risques biologiques relatif à la présence de Clostridium spp. Dans les denrées alimentaires**
- El Haib, A. (2011).** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Fain, A.(1996).** a review of the microbiological safety of fresh salads, dairy.Food FEMS Microbiol. Rev. 29, 83–98.
- Fernandez,X ., et Chemat,F. (2012).** La chimie des huiles essentielles. 2<sup>ème</sup>Editions Vuibert 2012. 288p

**Figueredo, G. (2007).** Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne (Doctoral dissertation).

**Fisher, K., et Phillips, C. (2009).** In vitro inhibition of vancomycin-susceptible and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* in the presence of citrus essential oils. *British Journal of Biomedical Science*, 66(4), 180–185. <https://doi.org/10.1080/09674845.2009.11730270>

**Flaman, Z., Pellechia-Clarke, S., Bailey, B., et McGuigan, M. (2001).** Unintentional exposure of young children to camphor and eucalyptus oils. *Paediatrics & child health*, 6(2), 80-83.

**Fontenot, K., Afton, William, A., Williams, B., Robert C, Lewis Ivey, M., Morgan, A., et Johnson, C.(2014).** Lettuce. Vegetable gardening tips, Growing information for the home gardener series. The Louisiana State University Agricultural Center (**LSU AgCenter**). [www.LSUAgCenter.com](http://www.LSUAgCenter.com)

**Fridman, E., Seuret, A., et Richard, J. P. (2004).** Robust sampled-data stabilization of linear systems: an input delay approach. *Automatica*, 40(8), 1441-1446.

**Goñi, M. G., Tomadoni, B., Moreira, M. R., et Roura, S. I. (2013).** Application of tea tree and clove essential oil on late development stages of Butterhead lettuce: Impact on microbiological quality. *LWT-Food Science and Technology*, 54(1), 107-113.

**Goñi, M. G., Tomadoni, B., Roura, S. I., et Moreira, M. D. R. (2014).** Effect of Preharvest Application of Chitosan and Tea Tree Essential Oil on Postharvest Evolution of Lettuce Native Microflora and Exogenous *Escherichia coli* O 157: H 7. *Journal of Food Safety*, 34(4), 353-360.

**Goudjil,B.(2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat. UNIVERSITE KASDI MERBAH–OUARGLA. 2016. p54).

**Gustafson, J. E., Liew, Y. C., Chew, S., Markham, J., Bell, H. C., Wyllie, S. G., et Warmington, J. R. (1998).** Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Letters in applied microbiology*, 26(3), 194-198.

**Guynot, M. E., Marin, S., Setu, L., Sanchis, V., et Ramos, A. J. (2005).** Screening for antifungal activity of some essential oils against common spoilage fungi of bakery products. *Food Science and Technology International*, 11(1), 25-32

**Hashemi, S. M. B., Khaneghah, A. M., et de Souza Sant'Ana, A. (Eds.). (2017).** Essential oils in food processing: chemistry, safety and applications. John Wiley & Sons.



- Hanif, M. A., Nisar, S., Khan, G. S., Mushtaq, Z., et Zubair, M. (2019).** Essential Oil Research - Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial Applications and Biotechnological Production. In Essential Oil Research. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8>
- Hilborn, E. D., Mermin, J. H., Mshar, P. A., Hadler, J. L., Voetsch, A., Wojtkunski, C., et Glynn, M. K. (1999).** A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Archives of Internal Medicine*, 159(15), 1758-1764.
- Hui, Y. H. (2018).** Foodborne Disease Handbook: Volume I: Bacterial Pathogens. CRC Press.
- Hunter, M. (2009).** essential oils: art, agriculture, science, industry and entrepreneurship (A FOCUS ON THE ASIA-PACIFIC REGION). In Marketing The Public Sector. <https://doi.org/10.4324/9780203786260-3>
- INTERFEL:** Interprofession de la filière des fruits et légumes frais, <https://www.interfel.com/>.
- ISO 9235:2013 (fr)** - Matières premières aromatiques naturelles - Vocabulaire [Internet]. Disponible sur: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-2:v1:fr>
- Jain, SK.(2006).** Superoxide dismutase over expression and cellular oxidative damage in diabetes. A commentary on “Overexpression of mitochondrial superoxide dismutase in mice protects the retina
- Janes, S. E., Price, C. S., et Thomas, D. (2005).** Essential oil poisoning: N-acetylcysteine for eugenol-induced hepatic failure and analysis of a national database. *European journal of pediatrics*, 164(8), 520-522.
- Kaloustian, J., et Hadji-Minaglou, F. (2013).** La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée.
- Khaddor, M., Lamarti, A., Tantaoui-Elaraki, A., Ezziyyani, M., Castillo, M. E. C., et Badoc, A. (2006).** Antifungal activity of three essential oils on growth and toxigenesis of *Penicillium aurantiogriseum* and *Penicillium viridicatum*. *Journal of Essential Oil Research*, 18(5), 586-589.
- Khajeh, M., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F., et Pirmoradei, M. R. (2005).** Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food chemistry*, 91(4), 639-644.
- Křístková, E., Doležalová, I., Lebeda, A., Vinter, V., et Novotná, A. (2008).** Description

of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. 2008(October 2003), 113–129.

**La France, D. (2010).** La culture biologique des légumes. 2<sup>ème</sup> édition. Berger.

**Lachhab, L. (2013).** Evaluation de la qualité hygiénique des salades prêtes à consommer dans la ville de Fès. Université Sidi Mohamed Ben Add Ellah

**Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., et Nychas, G. J. (2001).** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of applied microbiology*, 91(3), 453-462.

**Landelle, C., Francony, G., Sam-Lai, N.F. et al. (2008)** .Poisoning by lavandin extract in a 18-month-old boy. *Clin. Toxicol.*, 46, 279–281.

**LE LOIR, F.B., et GAUTIER, M. (2003).** *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2, 63–76.

**Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., et Feng, Y. (2015).** The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International journal of molecular sciences*, 16(11), 26087-26124..

**Li, Y., Fabiano-Tixier, A.-S., et Chemat, F. (2014).** *History, Localization and Chemical Compositions* (pp. 1–8). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-08449-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-08449-7_1)

**Muller, C. D., et Lobstein, A. (2013).** Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28(5), 269-279. *Sciences*, 100(4), 1586-1591.

**Malik, S. (Ed.). (2019).** *Essential Oil Research: Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial Applications and Biotechnological Production*. Springer.

**Marianne, D., et Miliotis, M. D. (2003).** International handbook of foodborne pathogens. *Food Science and Technology*, 3, 688

**Marta, R., et Manuel, S. (2014).** Antimicrobial activity of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 26(1), 34–40. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.860409>

**Mateeva, A., et Karov, S. (1983).** Studies on the insecticidal effect of some essential oils. *Nauchni Trudove-Vish Selskost Inst Vasil Kolarov* 28:129–139

**Mekem Sonwa, M. (2000).** Isolation and structure elucidation of essential oil constituents: comparative study of the oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus*, and *Cyperus rotundus*.

**Mengal, P., Behn Dm Bellido, M., et Monpon, B. (1993).** VMHD: extraction of essential oil by microwave. *Parfums Cosmet Aromes* 114:66–67 (in French)

- Moon, J. K., et Shibamoto, T. (2009).** Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1655-1666.
- Moore, T. S. (2018).** Lipid metabolism in plants. In *Lipid Metabolism in Plants*. <https://doi.org/10.1201/9781351074070>
- Moore-Neibel, K., Gerber, C., Patel, J., Friedman, M., Jaroni, D., et Ravishankar, S. (2013).** Antimicrobial activity of oregano oil against antibiotic-resistant *Salmonella enterica* on organic leafy greens at varying exposure times and storage temperatures. *Food microbiology*, 34(1), 123-129.
- Moreira, P. I., Smith, M. A., Zhu, X., Honda, K., Lee, H. G., Aliev, G., et Perry, G. (2005).** Oxidative damage and Alzheimer's disease: are antioxidant therapies useful?. *Drug news & perspectives*, 18(1), 13-19.
- Morel, J. M. (2008).** *Traité pratique de phytothérapie: remèdes d'hier pour médecine de demain.*
- Morris, M.C., Donoghue, A., Markowitz, J.A., & Osterhoudt, K.C. (2003).** Ingestion of tea tree oil (Melaleuca oil) by a 4-year-old boy. *Pediatr. Emergency Care*, 19, 169–171.
- Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J., et Wink, M. (2010).** Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1, 8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*, 17(13), 1061-1066.
- Muriel-Galet, V., Cerisuelo, J. P., López-Carballo, G., Lara, M., Gavara, R., et Hernández-Muñoz, P. (2012).** Development of antimicrobial films for microbiological control of packaged salad. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 195-201.
- Nagegowda, D. A. (2010).** Plant volatile terpenoid metabolism : Biosynthetic genes , transcriptional regulation and subcellular compartmentation. *FEBS Letters*, 584(14), 2965–2973. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.05.045>
- Najib, B. M., Amine, F., et Abdelkrin, K. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. *Revue Agrobiologia*, 9(2), 1653–1659.
- Nevárez-Moorillón, G. V., Prado-Barragan, A., Martínez-Hernández, J. L., et Aguilar, C. N. (Eds.). (2020).** *Food Microbiology and Biotechnology: Safe and Sustainable Food Production.* CRC Press.
- Olmedo, R.H., Nepote, V., Nelson, R., et Grosso, N.R., ( 2013).** Preservation of sensory and chemical properties in flavoured cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. *LWT–Food Sci. Technol.* 53, 409–417
- Organisation française chambre d'agriculture.** *Salade identifier les principales maladies*

et voir comment les éviter. [https://lot-et-garonne.chambre-agriculture.fr/fileadmin/user\\_upload/Nouvelle-Aquitaine/102\\_Inst-Lot-et-Garonne/Documents/47\\_Mara%C3%AEchage\\_Agriculture\\_biologique/Bulletin technique Agriculture Biologique/Maladies Salade 01.pdf](https://lot-et-garonne.chambre-agriculture.fr/fileadmin/user_upload/Nouvelle-Aquitaine/102_Inst-Lot-et-Garonne/Documents/47_Mara%C3%AEchage_Agriculture_biologique/Bulletin_technique_Agriculture_Biologique/Maladies_Salade_01.pdf)

**Ouhibi, C. (2014).** Effets des rayonnements UV-C sur la réponse de la laitue romaine *Lactuca sativa* var *Claudius* aux contraintes biotiques et abiotiques. Avignon..

**Özcan, M. M., et Arslan, D. (2011).** Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils. *Food Chemistry*, 129(1), 171-174..

**Ozturk, I., Tornuk, F., Caliskan-Aydogan, O., Durak, M. Z., et Sagdic, O. (2016).**

Decontamination of iceberg lettuce by some plant hydrosols. *LWT*, 74, 48-54.

**Paz-Elizur,T., Sevilya,Z., Leitner-Dagan,Y., Elinger,D., Roisman,L.C., et Livneh,Z.)2008(.** DNA repair of oxidative DNA damage in human carcinogenesis: potential application for cancer risk assessment and prevention. *Cancer Lett* 266:60–72

**Peters, M. (2016).** Essential oils: Historical significance, chemical composition and medicinal uses and benefits. In *Essential Oils: Historical Significance, Chemical Composition and Medicinal Uses and Benefits* (pp. 1–201).

**Ponce, A., Roura, S. I., et Moreira, M. D. R. (2011).** Essential oils as biopreservatives: different methods for the technological application in lettuce leaves. *Journal of food science*, 76(1), M34-M40.

**Pospisil, J., et Klemchuk, P. P. (1989).** *Oxidation inhibition in organic materials* (Vol. 1). CRC Press.

**PNTTA. (2003).** Programme national de transfert de technologie en agriculture, **DERD, B.P: 6598, Rabat, <http://agriculture.ovh.org> Bulletin réalisé à l'Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II, B.P: 6446, ISSN: 1114-0852.**

**Preedy, V. R. (Ed.). (2015).** Essential oils in food preservation, flavor and safety. Academic Press.

**Prohens-Tomás, J., et Nuez, F. (Eds.). (2007).** *Vegetables I: Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, and Cucurbitaceae* (Vol. 1). Springer Science & Business Media

**Rahman, M. S. (Ed.). (2007).** Handbook of food preservation. CRC press.

**Rahman, M. S., Ahmed, J., et Ramaswamy, H. S. (2020).** Applications of Magnetic Field in Food Preservation. In *Handbook of Food Preservation* (pp. 873–884).

<https://doi.org/10.1201/9780429091483-55>

**Raut, J.S., et Karuppayil, S.M. (2014).** «A status review on the propriétés médicinales des huiles essentielles, » *Cultures et produits industriels*, vol. 62, pp. 250-264, 2014

**Ray, B., et Bhunia, A. (2014).** Food biopreservatives of microbial origin, bacteriocin, and nanotechnology. In *Fundamental food microbiology* (pp. 211–230).

**Rehman, R., Hanif, M. A., Mushtaq, Z., et Al-Sadi, A. M. (2016).** Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. *Food Reviews International*, 32(2), 117–160. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1057841>

**Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U., et Saller, R. (2009).** Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties—an overview. *Complementary Medicine Research*, 16(2), 79-90..

**Richard, C., et Boivin, G. (1994).** Maladies et ravageurs des cultures légumières au Canada. Société canadienne de phytopathologie et Société d'entomologie, Canada, 590.

**Rohdich, F., Zepeck, F., Adam, P., Hecht, S., Kaiser, J., Laupitz, R., ... et Arigoni, D. (2003).** The deoxyxylulose phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis: studies on the mechanisms of the reactions catalyzed by IspG and IspH protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, N. Y.,

**Rossi, C., Chaves-López, C., Možina, S. S., Di Mattia, C., Scuota, S., Luzzi, I., ... et Serio, A. (2019).** Salmonella enterica adhesion: Effect of Cinnamomum zeylanicum essential oil on lettuce. *LWT*, 111, 16-22.

**Rudramurthy, G. R., Swamy, M. K., Sinniah, U. R., et Ghasemzadeh, A. (2016).** Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, 21(7), 836. **Ultee, A., Bennik, M. H. J., et Moezelaar, R. J. A. E. M. (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 68(4), 1561-1568.

**Sinha, N., Hui, Y. H., Evranuz, E. Ö., Siddiq, M., et Ahmed, J. (2010).** Handbook of vegetables and vegetable processing. John Wiley & Sons.

**Samate, A.D. (2002).** Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone Soljdanienne du Burkina Faso: valorisation

**Sell, C.S. (2003).** A Fragrant Introduction to Terpenoid Chemistry.

**Sepulveda, R. T., et Watson, R. R. (2002).** Treatment of antioxidant deficiencies in AIDS patients. *Nutrition research*, 22(1-2), 27-37

**Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundis, R., Sharifi-Rad, M., Loizzo, M. R., Oluwaseun Ademiluyi, A., Sharifi-Rad, R., Ayatollahi, S. A., et Iriti, M. (2017).** Biological activities of essential oils: From plant chemoeology to traditional healing systems. In *Molecules* (Vol. 22, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/molecules22010070>

**Swamy, M. K., Akhtar, M. S., et Sinniah, U. R. (2016).** Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their *mode* of action: An updated review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3012462>

**Teranishi, R., Wick, E. L., et Hornstein, I. (Eds.). (1999).** *Flavor chemistry: thirty years of progress*. Springer Science & Business Media.

**Thormar, H. (2010).** Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents. In *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*. <https://doi.org/10.1002/9780470976623>

**Törnük, F., et Dertli, E. (2015).** Decontamination of *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus* from Fresh-Cut Parsley with Natural Plant Hydrosols. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1587–1594. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12387>

**Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., et Bisignano, G. (2005).** Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(6), 2474-2478.

**Turgis, M., Han, J., Caillet, S., et Lacroix, M. (2009).** Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhi*. *Food control*, 20(12), 1073-1079

**Turina, A. D. V., Nolan, M. V., Zygadlo, J. A., et Perillo, M. A. (2006).** Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. *Biophysical chemistry*, 122(2), 101-113.

**Valenzuela, H. R., Kratky, B., et Cho, J. (1996).** Lettuce production guidelines for Hawaii.

**Wink, M. (2011).** Annual plant reviews, biochemistry of plant secondary metabolism (Vol.40). John Wiley & Sons

**Yishay, R. (2008).** Biosynthesis of plant-derived flavor compounds 1. 712–732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03446.x>

**Yossa, N., Patel, J., Millner, P., Ravishankar, S., et Lo, Y. M. (2013).** Antimicrobial activity of plant essential oils against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* on lettuce. *Foodborne pathogens and disease*, 10(1), 87-96

احمد توفيق حجازي (2000).. موسوعة الطب الشعبي و التداوي بالأعشاب . الأردن عمان.

جعفر حسان (2000). العالج بالخضار. بيروت: دار ومكتبة الهلال.

**Sites:**

[http://bpi.da.gov.ph/bpi/images/Production\\_guide/pdf/Lettuce.pdf](http://bpi.da.gov.ph/bpi/images/Production_guide/pdf/Lettuce.pdf) consulter le 16/09/2020

<https://www.andyboy.com/fr/produits/laitue-beurre/> consulter le 17/09/2020

### Etude rétrospective sur la conservation microbiologique de la salade par les huiles essentielles.

**Résumé :** l'objectif du présent travail est d'évaluer le pouvoir conservateur des Huiles essentielles contre les microorganismes responsables de l'altération des laitues. Laitue est parmi les légumes verts à feuilles la plus sensibles à la contamination microbienne car leur forte teneur en humidité et en nutriments aussi de leurs grandes surfaces. Ces dernières années, des efforts considérables sont investis dans la recherche d'additifs alimentaires naturels efficaces avec un large spectre d'activités antioxydants et antimicrobiennes susceptibles d'améliorer la qualité et la durée de conservation des denrées périssables, parmi ces additifs naturels les huiles essentielles (HE). L'activité antimicrobienne des HE est largement testée *in vitro* contre un large éventail des bactéries et de champignons pathogènes. Elles sont utilisées dans les industries de la conservation des aliments, de l'aromathérapie et des parfums. Les principaux constituants des HE tel que les terpènes et les composés aromatiques sont responsables de leur activité biologique. Le mécanisme par lequel les HE exercent leur activité antimicrobienne est mal compris mais la cible principale semble être la membrane cellulaire des cellules bactérienne. En concluons que le phénol comme le thymol, le carvacrol, l'eugénol est le composant le plus important dans les HE en raison de son importante activité bactérienne qui inhibe les bactéries pathogènes et préserve la microflore endogène de la laitue. L'effet de ce dernier a une relation positive avec la concentration et le temps de contact car il agit contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent une résistance aux antibiotiques. Il est également note qu'elles ont la capacité de prolonger la vie de la laitue en plus d'améliorer le gout.

**Mots clés:** Laitue, Bioconservateur, Huiles essentielles, Conservation, Activité antimicrobienne

### Retrospective study on the microbiological conservation of salad by essential oils.

**Abstract:** The objective of this work is to assess the preservative power of essential oils against the microorganisms responsible for spoiling lettuce. Lettuce is among the leafy green vegetables most susceptible to microbial contamination because their high moisture content and also nutrients from their large areas. In recent years, considerable efforts have been invested in the search for effective natural food additives with a broad spectrum of antioxidant and antimicrobial activities that can improve the quality and shelf life of perishable foodstuffs, among these natural additives essential oils (EO). The EO antimicrobial activity is extensively tested *in vitro* against a wide range of pathogenic bacteria and fungi. They are used in the food preservation, aromatherapy and perfume industries. The EO main constituents of such as terpenes and aromatic compounds are responsible for their biological activity. The mechanism by which EO exert their antimicrobial activity is poorly understood but the primary target appears to be the cell membrane of bacterial cells. It is concluded that the phenol such as thymol, carvacrol and eugenol is the most important component in EO due to its strong bacterial activity which inhibits pathogenic bacteria and preserves the endogenous microflora of lettuce. The effect of the latter has a positive relationship with concentration and contact time as it works against a wide range of bacteria including those that develop resistance to antibiotics. It is also noted that they have the ability to extend the lettuce life in addition to improving the taste.

**Keywords:** Lettuce, Biopreservative, Essential oils, Preservation, Antimicrobial activity.

### دراسة بأثر رجعي عن الحفظ الميكروبيولوجي للسلطة بالزيوت الأساسية.

**الملخص :** الهدف من هذا العمل هو تقييم القوة الحافظة للزيوت الأساسية ضد الكائنات الحية الدقيقة المسؤولة عن التلف في الخس . يعد الخس من بين الخضراوات الورقية الخضراء الأكثر عرضة للتلوث الميكروبي بسبب محتواها العالي من الرطوبة وكذلك العناصر الغذائية من مناطقها الكبيرة . في السنوات الأخيرة ، تم استثمار جهود كبيرة في البحث عن المضافات الغذائية الطبيعية الفعالة مع مجموعة واسعة من الأنشطة المضادة للأكسدة ومضادات الميكروبات التي يمكن أن تحسن جودة وفترة صلاحية المواد الغذائية القابلة للتلف ، من بين هذه الإضافات الطبيعية الزيوت الأساسية . يتم اختبار النشاط المضاد للميكروبات في الزيوت الأساسية على نطاق واسع في المختبر ضد مجموعة واسعة من البكتيريا والفطريات المسببة للأمراض . يتم استخدامها في صناعات حفظ الطعام والعلاج بالروائح والعطور المكونات الرئيسية للزيوت الأساسية كالتربينات والمركبات العطرية مسؤولة عن نشاطها البيولوجي . لا تزال الآلية التي تمارس بها الخلايا البكتيرية نشاطها المضاد للميكروبات غير مفهومة جيداً، ولكن يبدو أن الهدف الأساسي هو غشاء الخلية للخلايا البكتيرية. نستنتج أن الفينول مثل الثيمول ، الكارفاكروول ، الأوجينول هو العنصر الأكثر أهمية في الزيوت الأساسية بسبب نشاطه الجرثومي القوي الذي يثبط البكتيريا المسببة للأمراض ويحافظ على البكتيريا الذاتية للخس . تأثير هذا الأخير له علاقة إيجابية مع التركيز ووقت الاتصال لأنه يعمل ضد مجموعة واسعة من البكتيريا ، بما في ذلك تلك التي تطور مقاومة للمضادات الحيوية . ويلاحظ أيضاً أن لديهم القدرة على إطالة عمر الخس بالإضافة إلى تحسين الطعم.

**الكلمات المفتاحية :** خس ، مواد حافظة طبيعية ، زيوت عطرية ، حفظ ، نشاط مضاد للميكروبات.