

SOMMAIRE

Editorial	1
Veille Réglementaire	2
Recherche Appliquée	2, 3, 4, 5
Veille Technologique	5, 6

DANS CE NUMERO

Une nouvelle réglementation de la PIRD

Une norme tunisienne pour le lait de chamelle

Effet des huiles essentielles sur *Pseudomonas aeruginosa* psychrotrophes isolés à partir du steak haché après DLC

Améliorants pour pain

Hexanal: un paramètre intéressant pour le contrôle des huiles aromatisées



Bulletin Mensuel d'Information

Édité par le Centre Technique de l'Agro-Alimentaire

ANNÉE 5, N°28

JUILLET - AOÛT - SEPTEMBRE 2010

UNE NOUVELLE RÉGLEMENTATION DE LA PIRD

Dans le cadre de l'amélioration des procédures de financement des activités de recherche et de développement et de l'innovation, un nouveau décret a été pris en avril 2010 et qui a chargé le Ministère de l'Industrie et de la Technologie de la gestion de cette prime.

Il s'agit du décret n°2010-656 du 5 avril 2010, fixant le montant et les modalités d'octroi de la prime accordée au titre des investissements réalisés dans les activités de recherche- développement.

Sont éligible à cette prime :

- ☞ les entreprises dans le secteur industriel,
- ☞ les entreprises dans le secteur agricole et de pêche,
- ☞ les entreprises dans les activités de service prévues par la liste annexée au présent décret à savoir:

‡ **Secteur des services informatiques** (développement de logiciels, bases de données, services de télécommunication, études et ingénierie informatique),

‡ **Secteur des services d'études, d'expertise et d'assistance** (essai et analyse des produits industriels, contrôle et expertise quantitative et qualitative),

‡ **Secteur des services environnementaux** (laboratoires d'analyses et de métrologie dans le domaine de l'environnement, bureaux d'études spécialisés dans le domaine de l'environnement),

‡ **Secteur de la santé** (clinique, laboratoires d'analyses).

☞ les établissements et entreprises publics et privés et les associations scientifiques qui réalisent des projets de recherche et de développement technologique prévus par l'article 16 de la loi susvisée n°96-6 du 31 janvier 1996.

Sont considérés des investissements dans les activités de recherche-développement les actions qui concernent les opérations suivantes :

- Les études nécessaires au développement de nouveaux produits ou de nouveaux procédés de production,
- La réalisation des expériences et des essais techniques de prototypes ainsi que les expérimentations sur le terrain,
- L'acquisition d'équipements scientifiques de laboratoire nécessaires à la conduite de projets de recherche-développement,

Les primes d'investissement sont fixées comme suit :

- 50% du coût total des études avec un plafond de la prime fixé à **25000 dinars**,
- 50% du coût des réalisations des expériences et des essais techniques de prototypes ainsi que les expérimentations sur le terrain et de l'acquisition d'équipements scientifiques de laboratoire nécessaires à la conduite de projets de recherche-développement et les projets de recherches appliquées avec un plafond de la prime fixé à **100000 dinars**.

Le Directeur Général du CTAA

À la demande de l'office de l'élevage et du pâturage (Ministère de l'agriculture et des ressources hydrauliques), la commission technique 14 – Lait et produits laitiers est entrain **d'élaborer une norme tunisienne relative au lait cru de chamelle destiné à la transformation.**

Le Lait de Chamelle, plus digeste que le lait de vache

Doux, légèrement âpre, un peu salé et acide, le lait de chamelle est un aliment complet avec une teneur en vitamine C plus élevée que dans tous les autres produits lactés. Sa couleur

est d'un blanc mat. Depuis peu, le lait de chamelle a acquiert la reconnaissance des scientifiques qui soulignent sa faible teneur en matière grasse (40% de cholestérol de moins que dans le lait de vache) et en sucre.

Des vertus thérapeutiques révélées facile à digérer, le lait de chamelle est réputé pour ses vertus thérapeutiques. Véritable laxatif, il soigne les maux de ventre, les diarrhées. Il est bon contre l'obésité, les rhumatismes et contribue à arrêter l'évolution du goitre. **«Celui qui boit du lait de chamelle est plus résistant que celui qui prend du lait de vache»**, disent les éleveurs Tchadiens.

Une nourriture si peu connue qui suscite de plus en plus l'intérêt des nutritionnistes et des promoteurs. Contrairement au lait de vache et des petits ruminants qui accompagnent les plats de couscous ou de bouillies de céréales, le lait de chamelle se prend généralement à sec. «Séché au soleil, fermenté, pasteurisé stérilisé ou transformé en fromage,

Moins gras, moins sucré et plus digeste que le lait de vache jusqu'à présent exploité dans un contexte traditionnel, le lait de chamelle pourrait donner naissance à une filière industrielle.

EFFET DES HUILES ESSENTIELLES SUR *Pseudomonas aeruginosa* PSYCHROTROPHES ISOLÉS À PARTIR DU STEAK HACHÉ APRÈS DLC

Travail réalisé aux laboratoires du CTAA dans le cadre d'un projet de fin d'études en co-encadrement avec ESIAT

Introduction

L'industrie de transformation des viandes rouges constituent aujourd'hui un maillon très important de la filière. En effet, cette branche d'activité assure une production bien diversifiée qui assurera son développement et sa croissance dans les années à venir. Toutefois, cette branche fait face à un problème de qualité freinant son dynamisme et limitant son développement. En effet, les problèmes d'altération rapide des viandes rouges constituent désormais, l'handicap essentiel pour le bon développement de la filière. A titre d'exemple, le steak haché est considéré parmi les produits carnés transformés extrêmement périssable. Même au cours de sa conservation au réfrigérateur, il subit des diverses altérations par les germes psychrotrophes essentiellement le genre *Pseudomonas* et plus particulièrement *Pseudomonas aeruginosa*.

C'est dans cette optique que nous avons entamé notre étude intitulée «Effet des huiles essentielles sur

***Pseudomonas aeruginosa* psychrotrophes isolés à partir du steak haché après DLC» qui a pour but (i) d'identifier le pouvoir protéolytique (facteur d'altération) des isolats de *Pseudomonas aeruginosa* psychrotrophes, (ii) de tester l'effet inhibiteur des huiles essentielles sur les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* (iii) d'évaluer l'effet des huiles essentielles sur l'activité protéolytique et (iv) d'augmenter la durée de vie du steak haché moyennant les huiles essentielles (marjolaine, origan, clou de girofle, cannelle et cumin).**

Méthodologie

Echantillons et échantillonnage

Pour la réalisation de cette étude, **20 échantillons de steak haché** ont été collectés le jour même de leur production, à partir d'une entreprise tunisienne implantée dans la région grand Tunis, spécialisée dans la transformation et la vente des viandes rouges. **Ces échantillons ont été conservés à -20°C et analysés selon une séquence chronologique XP V 01003 (1998) jusqu'à après DLC.**

Isolement et identification

Le prélèvement et la préparation des échantillons pour analyse ont été effectués respectivement selon **la norme générale ISO 6887-1(2003) et la norme ISO 6887-2 (2003) spécifique pour la préparation des produits carnés.**

L'isolement et l'identification des souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été effectués selon le protocole de **la norme NF V 04-504 (2006)**, par l'intermédiaire des tests biochimiques classiques (test de l'oxydase, de production de pyoverdine, de production de pyocyanine, test de fermentation des sucres...) et par identification de fluorescence sous UV (366 nm) après isolement sur Cétrimide, purification et réensemencement sur gélose CN-Agar.

Activité enzymatique

La Caractérisation enzymatique des isolats a été réalisée par mesure de l'activité enzymatique ; protéolytiques et lipolytiques, qui ont été mise

évidence en ajoutant à la gélose nutritive ; 4% (m/v) de gélatine pour la recherche des gélatinases, 10% (v/v) de lait écrémé pour la recherche des caséinases selon Guiraud, 1998, 1% (v/v) de Tween 20 et 1% (v/v) de Tween 80 pour la recherche des lipases. L'incubation a été faite au réfrigérateur à 4°C et la lecture a été réalisée à partir du 2^{ème} jour et suivie durant 28 jours. La production de gélatinases se traduit par l'apparition d'une zone opaque autour de l'inoculum, la production de caséinases et des lipases par une zone de clarification.

Effet des HE sur la croissance des *Pseudomonas aeruginosa* (Aromatogramme)

Les huiles essentielles utilisés sont La marjolaine (feuilles séchées) « *Origanum majorana* » et l'origan (feuilles séchées) « *Origanum vulgare* », « *Syzygium aromaticum* », la cannelle « *Cinnamomum cassia* » et le cumin « *Cuminum cyminum* » ont été collectés à partir du marché local situé dans la région du grand Tunis et qui ont été

Résultats et discussions

Parmi 195 isolats Gram négative psychrotrophes, 68 souches ont été identifiées appartenant au genre de *Pseudomonas* spp dont 16 souches sont des *Pseudomonas aeruginosa*; présentant des colonies caractéristiques fluorescentes sous UV, et répondant aux tests biochimiques pour l'identification de *Pseudomonas aeruginosa* indiquées dans la norme en vigueur Fig 1-2.

Les 16 souches ont montré une activité enzymatique très importante au réfrigérateur (à 4°C) représentée par la sécrétion des gélatinases, des caséinases et des lipases. La production de gélatinases s'est traduit par l'apparition d'une zone opaque autour de l'inoculum fig 3, la production de caséinases et des lipases par une zone de clarification Fig 4.

La totalité des souches étudiées ont sécrété des gélatinases et des halots autour des colonies ont apparu dès la première lecture après deux jours. Un diamètre maximal de 2,5 cm a été atteint dès le 14^{ème} jour d'incubation. 93.7% des souches produisent des

extraites par la méthode de soxhlet au laboratoire de physico-chimie du CTA.

L'effet de ces huiles sur la vitalité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* a été déterminé par l'aromatogramme (méthode des puits et de diffusion dans la gélose).

Détermination du pouvoir inhibiteur des HE sur l'activité protéolytique

L'effet des huiles essentielles sur l'activité protéolytique est déterminé par incorporation des différents volumes (0.5 ml, 0.75 ml et 1ml) des huiles qui ont montré un pouvoir inhibiteur élevé sur la vitalité des souches et par l'ajout de 1% (v/v) de lécithine dans les géloses nutritives à 4% (m/v) de gélatine et à 10% (v/v) de lait écrémé.

L'inoculum de *Pseudomonas aeruginosa* préparée à partir des souches identifiées précédemment hyper productrices de protéases a été repiqué en surface. L'incubation a été faite pendant 14 jours à 4°C. L'effet des huiles se traduit soit par l'absence de la zone de production

protéolytique soit par la diminution de leurs diamètres par rapport à l'activité initiale.

Effet de HE sur la flore microbienne du Steak Haché

Pour évaluer l'effet de l'huile essentielle identifiée comme le plus inhibiteur sur la conservation du steak Haché cru on a procédé par l'ajout de 0.5 ml d'huile essentielle inhibiteur au 10 g de steak haché prélevé le jour même de sa fabrication à partir du marché local, Après homogénéisation, la préparation a été incubée à 4°C pendant 72 heures avec un échantillon témoin cru. Et en se référant à la réglementation en vigueur concernant la qualité du steak haché (règlement CE 365/2010), les analyses suivantes ont été réalisées : GAMT germes aérobies mésophiles totaux (NF EN ISO 4833, 2003), *Escherichia coli* β -glucuronidase positive (NF EN ISO 16649-2, 2001), coliformes totaux à 30°C (ISO 4832, 2006), Staphylocoques à coagulase positive (NF EN ISO 6888-1, 1999) et *Salmonella* (NF EN ISO 6579, 2002).

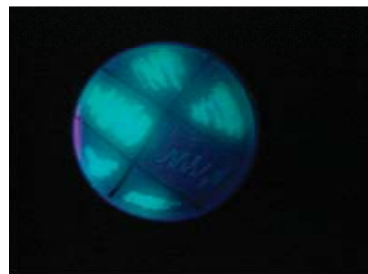


Fig 1 - Production de pyoverdine sur Gélose king B

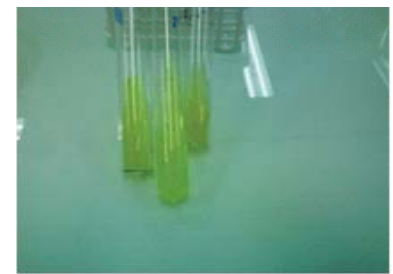


Fig 2 - La culture caractéristique fluorescente de *Pseudomonas aeruginosa* sur gélose CN

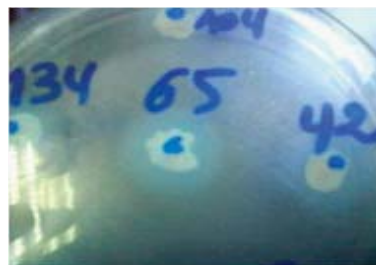


Fig 3 - Les halots des gélatinases



Fig 4 - Les halots des caséinases

caséinases mais en très faible quantité (01<D<09 cm) Fig 5. Cette production a été maintenue stable jusqu'à le 28^{ème} jour. Sur milieu Tween 20 et 80, la production des lipases a été faible tout au long du suivi. En effet, 62.5% des souches ont une activité lipolytique très

faible (01<D<0.9 cm) Fig 6 et 12.5% ne produisent plus des lipases. Ainsi, on constate que même au sein du réfrigérateur, l'activité enzymatique des souches de *Pseudomonas aeruginosa* se poursuit et que la sécrétion des gélatinases (l'activité protéolytique) était la plus intense Fig 5.

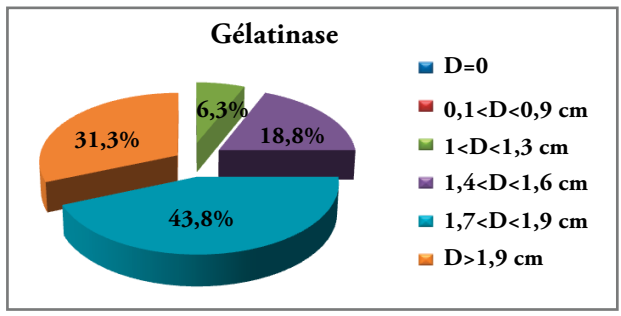
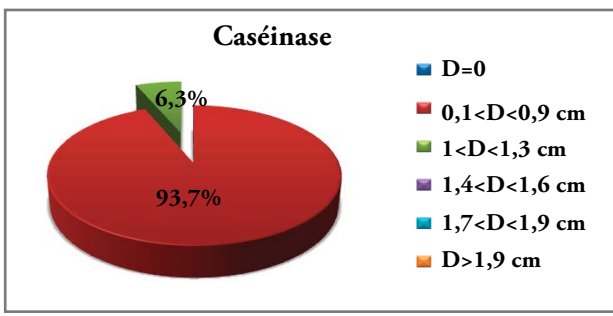


Fig 5 - Pourcentage de production des protéases sur les géloses à 10% (v/v) de lait écrémé et 4% de gélatine

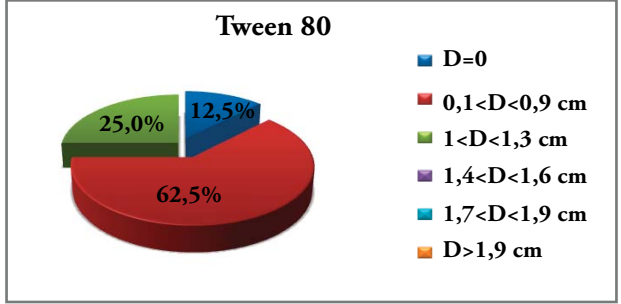
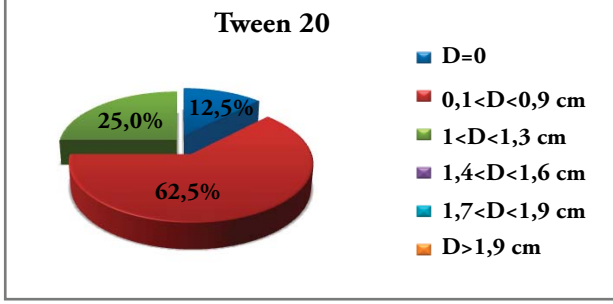


Fig 6 - Pourcentage de production des lipases sur gélose à 1% de tween 20 et tween 80

L'effet des cinq huiles sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, se traduit par l'apparition des halots d'inhibition de croissance autour des puits. Ce qui confirme l'effet inhibiteur des huiles essentielles vis-à-vis des souches et l'absence de cette zone se traduit par la résistance totale des souches vis à vis des HE appliquées comme indiqué dans la figure ci dessous Fig 7.

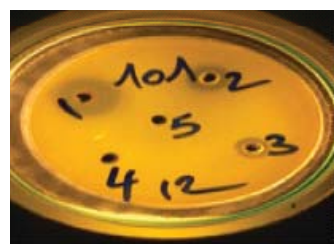
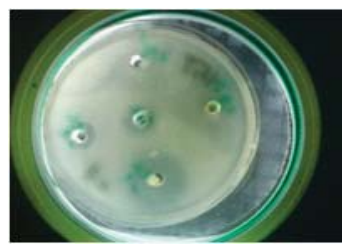


Fig 7 - Les zones d'inhibition des HE de : Clou de girofle (1), cannelle (2), cumin (3), marjolaine (4) et origan (5) après incubation à 4°C

Les huiles étudiées ont montré un effet antimicrobien variable envers les souches comme l'indique la figure ci-dessous Fig 8, on a trouvé qu' les HE de clou de girofle et de cannelle ont agit au 12ème jour sur la totalité des souches.

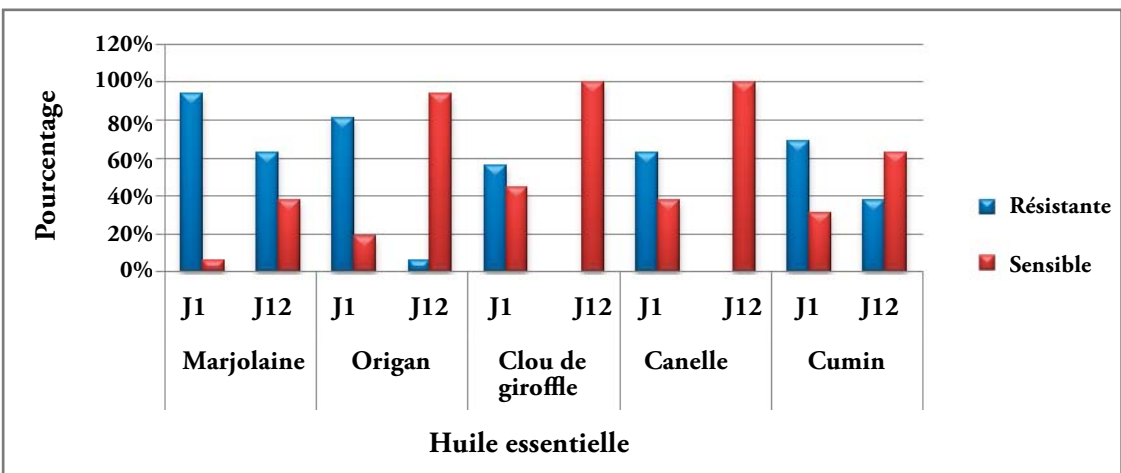


Fig 8 - Action du pouvoir inhibiteur des huiles essentielles au premier (J1) et au dernier jour (J12)

L'huile de clou de girofle a agit sur environ 50% des souches au bout de 24 heures et sur la totalité après 48 heures. Le diamètre maximal de la zone d'inhibition était de 3.1 cm (au 10ème jour).

L'HE de cannelle a inhibé la totalité des souches au bout de 72

heures. Ce résultat est en accord avec celui du laboratoire de l'INRS-IA qui a conclu que cette huile a une bonne efficacité vis-à-vis de plusieurs souches pathogènes. L'HE d'origan a réussi à inhiber presque la totalité des souches mais les diamètres d'inhibition ont été très faibles. Environ 40% des souches ont

été résistantes à l'huile essentielle de cumin et 60% des souches ont été résistantes à l'huile essentielle de marjolaine même au 12ème jour.

D'après Les résultats obtenus sur l'effet inhibiteur des HE sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, on

a constaté que le clou de girofle possède un pouvoir inhibiteur remarquable sur les 16 souches suivit par le HE de cannelle et en appliquant ces deux huiles sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* SH38 qui a présenté une activité protéolytique très élevée, Il s'est avéré que pour stopper totalement la production des gélatinases au bout de 14 jours, il suffit d'utiliser 0.75 ml de l'huile essentielle de clou de girofle ou 1ml de l'huile essentielle de cannelle. Mais pour inhiber

totalemment la production des caséinases, un volume de 0.5 ml d'huile de clou de girofle ou de cannelle a été suffisant.

Sur la base de leur effet sur la souche la plus productrice de protéases identifiée précédemment, on a pu classer par ordre décroissant les huiles utilisées selon leurs pouvoirs inhibiteurs L' HE de clou de girofle> L' HE de cannelle,> L' HE d'origan> L' HE de cumin> L' HE de marjolaine.

L'effet d'HE de clou de girofle sur la flore microbienne du steak haché cru, figure dans le tableau ci-dessous (tableau -1-)

A 4°C, durant 3 jours, on a remarqué une évolution importante de la charge microbienne qui ressort à travers l'évolution de la charge en GAMT de 102 ufc/g et de la charge en coliforme totaux de 103 ufc/g. Par contre la charge en *E.coli* a été marquée presque stable.

Tableau -1- : Evolution de la flore microbienne du steak haché additionné de 0,5 ml HE de clou de girofle

Germes/ECH	Echantillon Témoin cru (J0)	Echantillon Témoin Cru (J0+3)	Echantillon Cru+huile (J0+3)
Germes aérobies mésophiles totaux (ufc/g)	1.2 10 ⁶	7.1 10 ⁸	1.4 10 ⁵
CT (ufc/g)	2.5 10 ²	10 ⁵	<10
Staphylocoque à coagulase positive (ufc/g)	<100	<100	<100
<i>Escherichia. coli</i> (ufc/g)	2.2 10 ²	3.4 10 ²	<10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ufc/g)	<100	1.5 10 ⁴	8.8 10 ³
Salmonella (/10g)	absence	absence	absence

Supplémenté d'huile essentielle de clou de girofle, la microflore totale a baissée de 10 ufc/g après 3 jours d'incubation. Par contre les coliformes totaux et l'*E.coli* ont été totalement inhibés en présence de clou de girofle. Ainsi, on conclut que l'huile de clou de girofle a pu ralentir la multiplication des germes et qu'elle a un pouvoir bactéricide envers les germes de contamination fécale. De plus, on

constate que l'huile essentielle de clou de girofle a pu ralentir la multiplication de la flore psychrotrophe à savoir les *Pseudomonas*.

Conclusion

Ainsi, la conservation par une simple réfrigération ne protège plus les produits contre les dégradations microbiennes due à la flore psychrotrophe dotée d'activités enzymatiques intenses. C'est le cas des *Pseudomonas aeruginosa* isolées du

steak haché qui ont montré une activité protéolytique intense. L'application des huiles essentielles de cannelle et de clou de girofle ont montré une incidence sur leurs croissances à 4°C. et l'huile essentielle de clou de girofle a été identifiée la plus efficace contre la sécrétion des enzymes protéolytiques et leur adjonction dans le steak haché a permis d'améliorer sa qualité microbiologique au cours de la réfrigération.

AMÉLIORANTS POUR PAIN

Les améliorants de boulangerie désignent l'ensemble des ingrédients ou auxiliaires technologiques entrant, généralement en faible quantité et dans un but technologique, dans la fabrication du pain, des pains spéciaux, de la viennoiserie et de la boulangerie fine (pain de mie, brioche).

Pour tous les types de produits à base de levure. Les améliorants pour pain retardent le processus de vieillissement du produit et lui gardent longtemps sa fraîcheur et son

moelleux. La tolérance de la pâte est améliorée et un excellent volume est atteint. Le produit fini a une mie moelleuse et élastique, régulière et poreuse.



L'améliorant de panification est ajouté volontairement pendant une fabrication pour :

- réguler les effets des variations externes (hygrométrie, température, matériel ...),
- faciliter le processus de production (diminution du collant, régularité de l'allongement),
- préserver, rétablir ou renforcer la qualité d'un produit (amélioration de la tolérance, du volume, de l'aspect),
- permettre éventuellement la création de produits ou de procédés nouveaux (tolérance pour les pains spéciaux, cru surgelé, précuit).

HEXANAL : UN PARAMÈTRE INTÉRESSANT POUR LE CONTRÔLE DES HUILES AROMATISÉES

Les huiles aromatisées bénéficient d'une popularité grandissante sur le marché. Elles sont produites à partir d'huiles vierges ou raffinées, par ajout d'herbes, d'épices et d'autres parfums.

Pour évaluer la qualité de telles huiles, des critères similaires à ceux des huiles alimentaires sont adoptés. Pour les huiles pures, une oxydation est facilement détectable par la présence de défauts sensoriels (par exemple note rance) et par des paramètres chimiques (les indices de peroxyde et anisidine par exemple).

Cependant ces méthodes rencontrent des difficultés dans le cas des huiles aromatisées. En effet le seuil de détection des défauts sensoriels est plus élevé, car les composants aromatisants apportent une saveur forte et un goût nouveau dans le produit.

Par ailleurs, des ingrédients colorants peuvent fausser le résultat du dosage de l'indice d'anisidine.

D'autres paramètres fournissant des indications sur l'état d'oxydation des huiles aromatisées sont donc requis. L'hexanal est un produit secondaire de l'oxydation des matières grasses et il est décrit dans la littérature scientifique comme un marqueur de début de dégradation. Il faut toutefois noter que l'hexanal est aussi naturellement présent dans l'huile d'olive



et fait partie de son profil aromatique typique.

Aucune limite légale n'a été définie pour la teneur en hexanal, mais une organisation non-gouvernementale allemande a récemment utilisé ce paramètre pour évaluer les huiles et huiles aromatisées.

Eurofins Analytik a mis au point une nouvelle méthode analytique pour la détermination de l'hexanal.

Les composés volatils provenant de l'huile sont concentrés sur un matériel adsorbant par une technique d'espace de tête dynamique, puis séparés par chromatographie gazeuse et déterminés par spectrométrie de masse. Cette méthode performante permet de déterminer des teneurs en hexanal à partir de 10µg/kg.

Source: Eurofins par Nadja Liebmann et Dr. Torben Küchler, Eurofins Analytik GmbH – Wiertz-Eggert-Jörissen, Allemagne

THÈMES DE FORMATION EN INTER-ENTREPRISES (SEPTEMBRE - DÉCEMBRE 2010)

Thèmes	Nombre de jours
Les programmes préalables – sécurité des denrées alimentaires	02
Les outils de la qualité	02
L'audit interne des systèmes de management de sécurité sanitaire, de la qualité et de l'environnement	02
Protocoles de validation de DLC et de DLUO des produits	02
Dégustation de l'huile d'olive	10
Les contaminants, réglementations nationale et internationale, échantillonnages et Méthodes d'analyses	01
Étiquetage des denrées alimentaires, allégations nutritionnelles et allégations de santé	1,5
Le contrôle statistique des préemballés, réglementation et plan de contrôle	01



SIAL 2010
The Global Food Marketplace

17 > 21 Oct. 2010

**NOUVELLES TENDANCES :
Gardez une longueur
d'avance !***

Commandez votre badge d'entrée sur www.sial.fr



An event by
comexposium

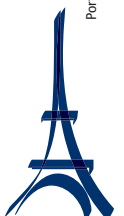
SIAL a subsidiary of Comexposium Group

Paris 17 – 21 octobre 2010
Paris Nord Villepinte 🌐 France - www.sial.fr

*** New Trends: Catch them all!**

Promosalons Tunisie/CTFCI - Tel : 71 844 310 - Fax : 71 845 962

Email : natalie.zribi@ctfci.org



Porter Novelli