

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Temouchent*



*Faculté des sciences*  
*Département des sciences de la nature et de la vie*

**Mémoire de fin d'étude**  
**Pour l'obtention du Diplôme de Master en science biologie**  
**Option : Microbiologie appliquée**

**Thème**

**Analyses Physico-Chimiques et Microbiologiques des Olives de  
Table Vertes Commercialisées au Niveau de la Wilaya d'Ain  
Temouchent**

**Présenté et soutenu par :**

**Le : 24/06/2019**

*M<sup>elle</sup>. BENZINA BERROUA Hayet*

*M<sup>elle</sup>. BOULANOUAR Malika*

Devant le jury :

**Président : Dr ZIANE.M.**

Maître de Conférences ACUBBAT

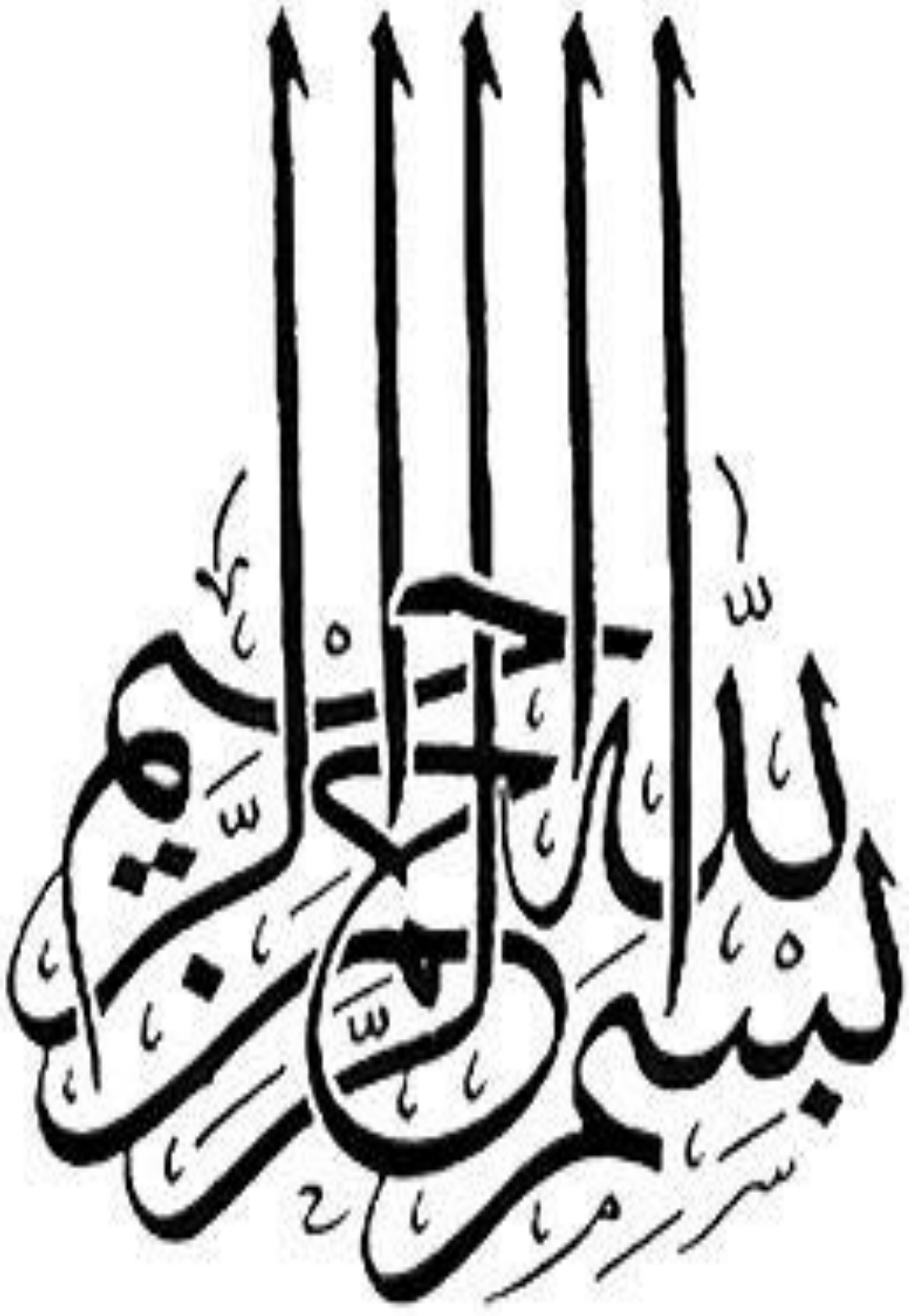
**Examineur: Dr CHERIF .N.**

Maître de Conférences B CUBBAT

**Encadrant : Dr ZERRIOUH.M.**

Maître de Conférences BCUBBAT

*Année universitaire : 2018/ 2019*



## **Remerciements**

*On remercie avant tout le bon Dieu qui nous a illuminé nos idées, donné la santé, patience surtout la volonté pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à adresser nos sincères remerciements et le grand respect à **M<sup>lle</sup> ZERRIOUH Meriem**, maitre de conférences d'avoir proposé ce sujet si intéressant et avoir accepté de nous encadrer et de nous orienter tout au long de la réalisation de ce travail*

*Nos vifs remerciements sont adressés aux membres de jury (**Monsieur ZIANE Mohamed et Monsieur CHERIF Najib**),  
De nous avoir honorés De leur présence et d'avoir voulu évaluer ce travail.*

*Nous remercions vivement nos familles pour leur soutien tout,*

*Un grand et spécial remerciement à tous les membres du Centre Universitaire Belhadj BOUCHAIB - Ain Temouchent, pour leurs soutiens et leurs aides.*

*En fin, nous remercions également tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

## *Dédicace*

*Je remercie tout d'abord, Allah, le tout puissant et clément de m'avoir aidé à réaliser ce travail, Je dédie ce mémoire :*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis à toi mon père « **Mohamed** ».*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman « **Khadidja** » que j'adore.*

*A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon fiancé « **Hamza** ».*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à toute ma famille « **BENZINA BERROUA** et **BOUCHAIB** » sans oublier mes grands-mères.*

*A la mémoire de mes grands-parents, j'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde.*

*A ma collègue du travail **Malika***

*A mon encadreur **M<sup>lle</sup>. ZERRIOUH.M** qui mérite tous mon respect et tribut.*

*Tous les remerciements et le respect à Mes professeurs **Mr MOUADANE.R** et **Mr ZIANE.M** pour leur soutien, de leurs assistants et leurs conseils qui m'ont beaucoup aidé au cours de la préparation de mon mémoire.*

*Atout la promotion 2019 de Magister - microbiologie appliquée*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

**B.B.Hayet...**

## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à celle; qui s'est sacrifiée pour ma réussite et mon bonheur, à ma mère Puisse Dieu de m'aider à la rendre plus fière de moi; merci maman Zahraa.*

*Mon père Rabah symbole de tendresse, qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager ; m'aider et me protéger Je t'aime papa.*

*Aussi mes deuxième parents Djilali et Rabha qui m'ont donné la vie.*

*Merci ma grand-mère Yakout et mon grand-père Boujamaade m'avoir comblé de tant de tendresse, d'amour et de générosité ; que Dieu te prête longue vie.*

*A mon adorable sœur et ma jumelle Karima à qui je souhaite tout le bonheur du monde.*

*A mes frères Abed el Kader et Boumediene, A leurs femmes Fouzia et Aicha pour m'encourager aux mes études.*

*Aux fils de mes frères Mostapha, Ibisseme, Houda, Ritaj, Doaa et Ayoub à qui je souhaite beaucoup de succès.*

*A ma collègue du travail et mon amis Hayat.*

*A ma cousine Ghania qui j'aime beaucoup je souhaite de réussir dans tes études.*

*A tous mes chère sœurs Imène, Amina, Jihan, Ikram et Meriem ; En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. A mes meilleurs amis Abdo, Hamadi, Naji pour les bons moments que nous avons partagés ensemble*

*A toute ma promotion, Master, 2018-2019, je vous souhaite beaucoup de réussite dans vos vies.*

***B.Malika.***

# SOMMAIRE

Liste des tableaux page	Page
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	01
<b>Synthèse Bibliographique</b>	
I. les olives de table.....	02
I.1. Origine de l'olivier et production mondiale des olives.....	02
I.2. L'olive de table.....	03
I.2.1.Définition d'olive de table.....	03
I.2.2.Composition biochimique des olives de table.....	03
I.2.3.Procéder de fabrication des olives de table.....	04
I.2.4.Dénomination de produit.....	05
I.2.4.1.Type d'olive.....	05
I.2.4.2.Préparation commercial.....	06
I.2.5.Facteurs essentiel de composition et de qualité.....	06
II. Fermentation des olives verts et contrôle microbiologique..	07
II.1. Fermentation lactique des olives de table.....	07
II.1.1.Définition et rôle.....	07
II.1.2.Conditions.....	07
II.1.3.Les phases de fermentation lactique.....	08
II.1.4.Conservation des olives de table.....	09
II.2.Contrôle microbiologique.....	10
<b>Partie expérimentale</b>	
I. Cadre d'étude et présentation des unités.....	12
II. Echantillonnage.....	12
III. Méthode d'analyse.....	12
III.1. Analyses physico-chimiques d'eau d'olive.....	13
III.1.1. Détermination du pH. ....	13
III.1.2. Détermination de l'acidité titrable.....	13
III.2. Analyse microbiologique d'eau d'olive et l'olive de table.	14
III.2.1.Préparation des olives verte de table.....	14
III.2.2. Préparation des dilutions.....	14
III.2.2. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale.....	15
III.2.3. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	16
III.2.4. Recherche et dénombrement des <i>staphylocoques aureus</i>	17
III.2.5. Recherche et dénombrement des salmonelles.....	18
III.2.6.Recherche et dénombrement des levures et moisissures..	19
III.2.7.recherche et dénombrement des bactéries lactique.....	20

## Résultats

I. Résultats et discussion des analyses physico-chimiques.....	21
I.1.pH.....	21
I.2.Acidité titrable.....	21
II. Les résultats et discussion des analyses microbiologiques la saumure d'olive et l'olive de table.....	22
II.1. Flore totale mésophile aérobie.....	22
II.2.Coliformes totaux et fécaux.....	23
II.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	24
II.4.Salmonelles.....	26
II.5.Moisissure et levure.....	26
II.6.Bactérie lactique.....	28
Conclusion.....	29
Références bibliographiques.....	30
Annexe.....	36

## Résumé

Le présent travail a porté sur l'analyse physicochimique et microbiologique de dix échantillons d'olives vertes de table (la saumure de conditionnement et l'olive lui-même) prélevés des magasins d'alimentation dans la région d'Ain Temouchent.

Les analyses physico-chimiques (pH et acidité), ainsi que les analyses microbiologiques qui avait comme objectif la recherche et le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale, des coliformes totaux et fécaux, *staphylococcus aureus* et salmonella, des levures et des moisissures, ainsi que des bactéries lactiques, nous révèlent que les olives vertes de tables ainsi que leur saumure de conditionnement ont une qualité physico-chimique satisfaisante mais une qualité microbiologique non satisfaisante.

**Mots clés :** Olive de table, saumure de conditionnement, qualité microbiologique, qualité physico-chimique, Ain Temouchent.

## Summary

This work has focused on the physicochemical and microbiological analysis of ten samples of table green olives (the packing brine and olive itself) taken food stores in the region of Ain Temouchent.

The physicochemical analyzes (pH and acidity) and microbiological analyzes that had as objective the detection and enumeration of total mesophilic aerobic flora, total and fecal coliforms, *Staphylococcus aureus* and *salmonella*, yeasts and molds as well as lactic acid bacteria, we show that green olives tables and their packing brine have a satisfying physicochemical quality, but not satisfying microbiological quality.

**Keywords:** Table olive, packing brine, microbiological quality, physico-chemical quality, Ain Témouchent

## الملخص

ركز العمل الحالي على التحليل الفيزيائيوكيميائيوميكروبيولوجي لعشرة عينات من زيتون المائدة الخضراء (محلول ملحي للتكييف والزيتون نفسه) مأخوذة من متاجر الأغذية في منطقة عين تموشنت .

التحاليل الفيزيائية والكيميائية (الرقم الهيدروجيني والحموضة) ، وكذلك التحاليل الميكروبيولوجية التي تهدف إلى البحث والتعداد من مجموع البيكتيريا الهوائية ، والبيكتيريا القولونية الكلية والبرازية ، والمكورات العنقودية الذهبية والسلمونيلا والخمائر والعفن و أيضاالبيكتيريا اللبنية ، تكشف أن زيتون المائدة الخضراء ومحلولها الملحي يمتازون بجودة فيزيائية وكيميائية مقبولة، ولكن جودةميكروبيولوجية غيرمقبولة.

**الكلمات المفتاحية :** زيتون مائدة ، محلول ملحي للتكييف ، جودة ميكروبيولوجية ، جودة فيزيائية ، عين تموشنت.



## *Liste des tableaux*

<b>Tableau n° 01</b>	Différents type d'olives.....	<b>05</b>
<b>Tableau n° 02</b>	Principales bactéries de la phase 1 de la fermentation.....	<b>08</b>
<b>Tableau n° 03</b>	Principales bactéries de la phase 2 de la fermentation.....	<b>09</b>
<b>Tableau n° 04</b>	Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.....	<b>10</b>
<b>Tableau n° 05</b>	Résultats des analyses physico-chimiques de la saumure de conditionnement.....	<b>21</b>
<b>Tableau n° 06</b>	Dénombrement de la FAMT dans les différents échantillons de la saumure et les olives de table.....	<b>23</b>
<b>Tableau n° 07</b>	Dénombrement des <i>S.aureus</i> dans la saumure et les olives vertes de table.....	<b>25</b>
<b>Tableau n° 08</b>	dénombrement des moisissures et levures dans la saumure et les olives vertes de table.....	<b>27</b>
<b>Tableau n° 09</b>	Dénombrement des bactéries lactiques dans la saumure et les olives vertes de table.....	<b>28</b>

## *Liste des figures*

<b>Figure n °01</b>	Olivier ( <i>Oléaeuropéa L.</i> ).....	<b>02</b>
<b>Figure n °02</b>	Section transversale et composition physique de l'olive.....	<b>04</b>
<b>Figure n °03</b>	Procédé d'élaboration des olives de table (style espagnol).....	<b>04</b>
<b>Figure n °04</b>	Schéma récapitulatif de la procédure expérimentale.....	<b>13</b>
<b>Figure n °05</b>	Préparation des dilutions décimales dans l'eau physiologique à 0.9%.....	<b>15</b>
<b>Figure n °06</b>	Aspect macroscopique des colonies de FMAT sur gélose standard PCA.....	<b>22</b>
<b>Figure n °07</b>	Absence des colonies des coliformes totaux sur milieu Mac conkey.....	<b>24</b>
<b>Figure n °08</b>	Absence des colonies des coliformes fécaux sur milieu Mac conkey.....	<b>24</b>
<b>Figure n °09</b>	Aspect macroscopique des colonies <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Baird Parker.....	<b>25</b>
<b>Figure n °10</b>	Absence des colonies des <i>Salmonella</i> sur milieu Salmonella-Shigella.....	<b>26</b>
<b>Figure n °11</b>	Aspect macroscopique des colonies de levures sur milieu Sabouraud.....	<b>26</b>
<b>Figure n °12</b>	Observation microscopique des cellules des levures (G ; 10×40).....	<b>27</b>
<b>Figure n °13</b>	aspect macroscopique des colonies des bactéries lactique sur la gélose MRS.....	<b>28</b>
<b>Figure n °14</b>	Détermination d'acidité libre.....	<b>Annexe</b>
<b>Figure n °15</b>	Mesure le pH. ....	<b>Annexe</b>
<b>Figure n °16</b>	Préparation boîte de pétri.....	<b>Annexe</b>
<b>Figure n °17</b>	Préparation des dilutions décimales.....	<b>Annexe</b>
<b>Figure n °18</b>	Recherche les germes aérobies mésophiles totaux.....	<b>Annexe</b>
<b>Figure n °19</b>	Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>Annexe</b>
<b>Figure n °20</b>	Recherche des coliformes totaux et des coliformes fécaux.....	<b>Annexe</b>
<b>Figure n °21</b>	Recherche des bactéries lactiques.....	<b>Annexe</b>
<b>Figure n °22</b>	Recherche de levure et moisissure.....	<b>Annexe</b>
<b>Figure n °23</b>	Recherche de <i>Salmonella</i> .....	<b>Annexe</b>

## *Liste des abréviations*

<i>Abréviation</i>	<i>Signification</i>
°C	Degré Celsius
FAMT	Flore Aérobie Mésophile totale
JORA	Journal Officiel de la République Démocratique Algérienne
G	Gramme
L	Litre
Min	Minute
UFC	Unité formant colonie
ml	Milliliter
PCA	Plate Count Agar
Ph	Potentiel d'Hydrogène
%	Pourcentage
Gr	Grossissement
CT	Coliforme totaux
CF	Coliforme fécaux
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
MRS	Man Rogosa et Sharpe
mm	Millimètre
sec	Seconde
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>

Les olives de table font partie du régime méditerranéen depuis des siècles et leur consommation augmente dans le monde entier en raison de leur valeur nutritionnelle. Les olives de table sont obtenues à partir de fruits *d'Olea europea L.*, qui est une drupe contenant un principe amer, l'oleuropéine, une faible teneur en sucres, et une forte teneur en huile. Ces caractéristiques font de l'olive un fruit qui ne peut pas être consommé directement, il doit être soumis à des traitements qui varient considérablement d'une région à l'autre et qui dépendent également de la variété.

Il existe plusieurs procédés de préparation des olives de table, le plus populaire est le style espagnol, dans lequel les olives sont traitées en premier lieu avec une solution diluée de lessive (hydroxyde de soude) pour éliminer et transformer l'oleuropéine et les sucres, former des acides organiques et augmenter la perméabilité du fruit. En second lieu, ces olives subissent une fermentation, qui par le biais de microorganismes, permet l'obtention d'un produit final avec des caractéristiques organoleptiques convenables à la consommation.

Les olives vertes fermentées correctement sont conservées pendant longtemps, dans un milieu de couverture, appelé la saumure de conditionnement, caractérisé par un pH et une concentration en sels convenables pour la conservation et la commercialisation. Des mesures d'hygiène doivent être prises en considération à fin d'éviter toute contamination ou altération, qui peuvent être responsables des modifications indésirables des olives, que soit organoleptiques, nutritionnelles, ou microbiologiques.

L'objectif principal consiste à l'étude et l'évaluation de la qualité microbiologique d'olives de table vertes provenant de divers magasins de la wilaya d'AinTemouchent.

Pour cela nous avons ciblé les points suivants :

- ✚ Analyse physico-chimiques de la saumure de conditionnement des olives de tables vertes.
- ✚ Analyse microbiologiques de la saumure de conditionnement ainsi que des olives vertes par recherche et dénombrement des germes de contamination (flore totale, coliformes totaux, coliformes fécaux, levures et moisissures), des germes pathogènes (*Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*), et des bactéries lactiques.

### Chapitre 1 : Les olives de tables

#### 1. Origine de l'olivier et production mondiale des olives

L'olivier (*Olea europaea L.*) (**figure n°1**), est un arbre fruitier qui produit les olives, dont il existe plus que 1500 variétés, qui sont cultivées dans les pays suivants (**Therios, 2009**):

**Europe** : Espagne, Italie, Portugal, France, Albanie, Monténégro, Grèce, Chypre.

**Asie** : Turquie, Syrie, Liban, Jordanie, Palestine, Iran, Iraq, Japon, Chine.

**Afrique** : Tunisie, Algérie, Maroc, Egypte, Afrique du Sud.

**Amérique** : États-Unis d'Amérique, Mexique, Pérou, Chili, Argentine, Uruguay

**Océanie** : Australie, Nouvelle Zélande

Parmi ces pays, la région méditerranéenne est considéré comme la plus importante zone oléicole, couvrant plus de 80 % de la production mondiale (**Iannucci et al., 2004**). Selon la superficie cultivée, l'Espagne est le premier producteur des olives dans le monde avec 2 572 500 ha, suivie de la Tunisie, avec 1 780 000 ha, et l'Italie avec 1 212 000 ha. La Grèce (900 000 ha), la Turquie (778 000ha) et le Maroc (735 000ha), sont en positions 4<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> respectivement. (**Kiritsakis et Shahidi, 2017**).

En Algérie, les superficies occupées par l'olivier sont de l'ordre de 315 000 hectares avec 35 millions d'oliviers et une production moyenne annuel de 35000 tonnes (**ITAFV, s.d**). L'Algérie est considérée comme le 9<sup>e</sup> producteur de l'huile d'olive dans le monde, elle possède plusieurs variétés parmi lesquelles ; Aghenfas, Akerma, Blanquette de Guelma, Bouchouk Soumman, Bouricha, Chemlal, Ferkani, Limli, NebDjemel, Tabelout and ChemlalTazmalt(**Laincer et al., 2014**).

Selon Guinard, 2004, la classification Botanique de l'olivier (**figure n°1**) est la suivante:

**Embranchement** : Spermaphytes

**Sous embranchement**: Angiospermes

**Classe**: Dicotylédones

**Sous classe**: Astéridées

**Ordre**: Lamiales

**Famille**: Oléacées

**Genre**: *Oléa*      **Espèce**: *Oléa européa L.*



**Figure n°1 : Olivier** (*Olea europaea L.*)

### 2. Les olives de tables

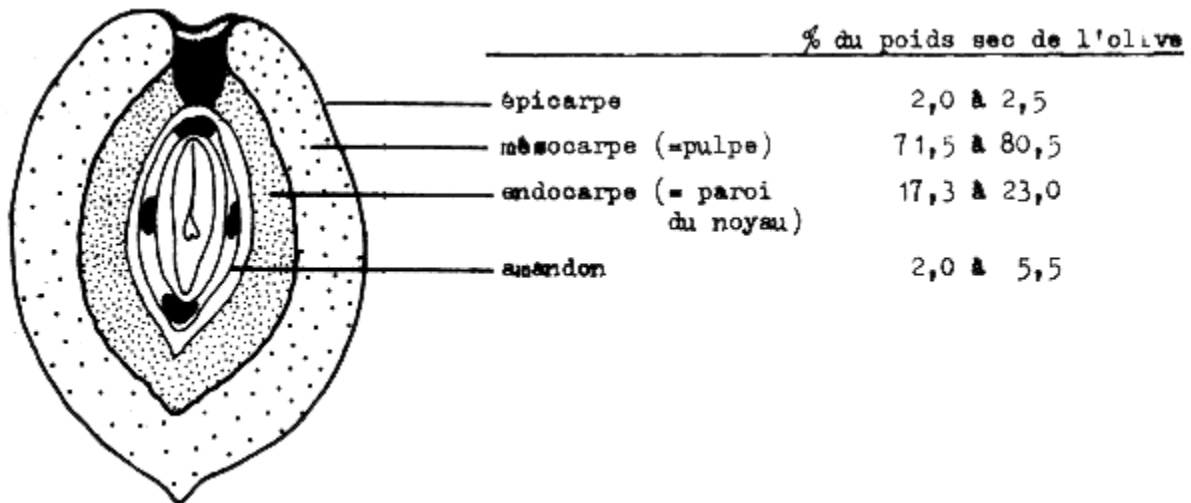
#### 2.1. Définition

L'olive de table désigne le produit préparé à partir des fruits sains de variétés de l'olivier cultivé (*Olea europaea* L.), ayant atteint le stade de maturité approprié, choisis pour leur production de fruits aptes à la confiserie (volume, forme, saveur,...). L'olive de table est soumise à des traitements de désamérisation et de conservation (comme la fermentation naturelle et/ou traitement thermique), à fin d'obtenir un produit stable dans des conditions d'entreposage appropriées avec ou sans agent de conservation, conditionnés avec ou sans un liquide de couverture approprié (Codex, Stan, 1981).

#### 2.2. Composition biochimiques des olives de tables

L'olive est une drupe, d'une forme ovale, très riche en huile qui se concentre principalement dans le péricarpe (96 à 98 %) (Kiritsakis et Shahidi, 2017). Beaucoup de recherches ont montré que les olives et l'huile d'olives sont très riches en molécules bénéfiques pour la prévention et le traitement de plusieurs maladies comme les maladies cardiovasculaires et certains cancers (Estruch, Ros, & Salas-Salvadó, 2014; Owen et al., 2004; Psaltopoulou et al., 2004). Des études ont montré aussi leur effet antimicrobien (Laincer et al., 2014).

L'olive est composée principalement de 3 parties (figure 2), la pulpe, contient 60% d'eau, 30% d'huile, jusqu'à 4% de sucres, 3% de protéines, et le reste sont des fibres et des minéraux. Endocarpe contient 10% d'eau, 30% de cellulose, 40 % d'autres sucres, et 2% d'huile. Le noyau, est composé de 30% d'eau, 27% d'huile, 27% de sucres et 10% de protéines. L'olive contient aussi des minéraux ( $K^+$ ,  $Ca^{+2}$ , P,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$ ), des vitamines (ex ; vitamine E), pigments (ex ;  $\beta$ -carotène, chlorophylle), des polyphénols (ex ; oleuropéine, qui lui confère son goût amer caractéristique) (Kiritsakis et Shahidi, 2017). La composition biochimique d'un fruit d'olive, dépend de plusieurs facteurs notamment, la variété et le stade de maturité (Kiritsakis et Shahidi, 2017).



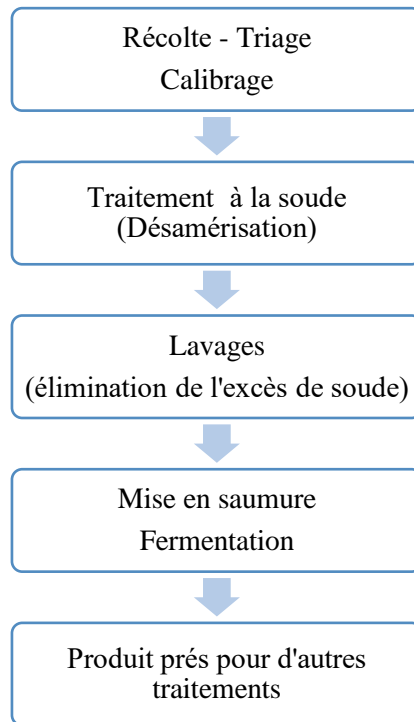
**Figure n°2** : Section transversale et composition physique de l'olive (Sansoucy, 1984).

### 2.3. Procédé de fabrication des olives de tables

L'olive est le seul fruit qui ne peut pas être consommé directement après maturité, en raison de son goût amer dû à l'oleuropéine.

Pour rendre les olives consommables, il existe plusieurs procédés, le style espagnol est le plus utilisé en Algérie (**figure n°3**). Après élimination des feuilles et triage, les olives de bonnes calibres (sphériques et arrondies), et avec un rapport pulpe/noyau élevé (proche de 5), sont traitées par une solution concentrée de soude (1 à 6%), ce qui permet d'éliminer l'oleuropéine, et rendre l'épiderme plus perméable. Ensuite plusieurs lavages sont nécessaires pour éliminer la soude collante à la surface et qui a pénétrée à l'intérieur de la pulpe. La troisième étape c'est la fermentation, qui consiste au trempage des olives dans une saumure dont la concentration en chlorure de sodium est de 6 à 8%. Le but de la fermentation est de créer des conditions pour le développement de bactéries lactiques, qui consomment le sucre qui diffusent dans la saumure, et produisent l'acide lactique (**El Khaloui et Nouri, 2007**).

A la fin de la fermentation les olives vertes deviennent jaune, avec un goût consommable, on peut ainsi les conditionnées directement ou leur faire subir t'autres traitements comme le dénoyautage, le découpage, ...



**Figure n° 3 :** Procédé d’élaboration des olives de table (style espagnol).

#### **2.4. Dénomination du produit**

Les olives de table sont classifiées selon les catégories suivantes: types d’olives, préparations commerciales et variété (**Codex Stan 66, 1981**).

##### **2.4.1. Types d’olives**

Il existe trois types d’olives, selon le degré de maturité (tableau n°1).

**Tableau n°1 :** Différents type d’olives (**Codex Stan 66 ,1981**), **MADRPM, 2007**)).

<b>Type d’olive</b>	<b>Couleur</b>	<b>Moment de la cueillette</b>
Vertes	Vert franc à vert –jaune	Développement complet avant véraison
Tournantes	Rose clair à violet	Véraison avant maturité complète
Noire mûres	Noire brillant ou violacé	Maturité complète (riche en huile)



### **2.4.2. Préparations commerciales**

Il existe plusieurs préparations pour les olives, nous citons les préparations suivantes :

- Olives confites: olives vertes ou tournantes ou noires ayant subi un traitement alcalin.
- Olives au naturel: olives vertes ou tournantes ou noires traitées directement à la saumure dans laquelle elles subissent une fermentation totale ou partielle et conservées par adjonction d'agents acidifiants ou non **Codex Stan 66 (1981)**

### **2.5. Facteurs essentiels de composition et de qualité**

Des olives de bonne qualité, doivent contenir l'ingrédient de base, qui est l'olive, tel défini précédemment, d'autres ingrédients peuvent être utilisés tels que : eau ; vinaigre ; huile d'olive ; sucres, miel, denrée comestible (piment, oignon, anchois...), des épices et des plantes aromatiques. Toute addition de produit quelconque doit régir par les normes appropriés (**Codex Stan, 1981**).

### Chapitre 2 : Fermentation des olives vertes et contrôle microbiologique

#### 1. Fermentation lactique des olives de tables

##### 1.1. Définition et rôle

La fermentation dérive du mot latin “*fervere*”, qui a été défini par Louis Pasteur, comme “La vie sans l’air”, d’un point de vue biochimique, c’est un processus de production d’énergie à partir de composés organiques sans agents oxydant extérieur (**Bourdichon et al., 2012**). Dans l’industrie agroalimentaire, le but de la fermentation, est l’obtention d’un produit final avec des caractéristiques qualitatives et organoleptiques convenables à la consommation, et aussi d’assurer une bonne conservation durant le stockage et la commercialisation. Ceci est possible grâce à l’action des microorganismes notamment les bactéries lactiques et les levures qui vont se développer dans le milieu de fermentation et vont produire des molécules comme les acides (acide lactique, acide acétique, acide formique, propionique), des alcools (éthanol) et des bactériocines (**Bourdichon et al., 2012**).

##### 1.2. Conditions

La fermentation lactique des olives, est un procédé qui consiste à la mise des olives vertes préalablement traitées par de la soude (la désamérisation), dans une solution de Na Cl. Pour réussir cette fermentation les conditions suivantes doivent être appliquées (**Delgado et al., 2009**) :

- Utilisation de récipient de qualité alimentaire, bien fermés, pour assurer des conditions d’anaérobiose.
- La présence de sel est très importante au développement des bactéries lactiques, elle ne doit pas être inférieure à 8%, sinon il y a risque de développement de microbes indésirables, de même cette concentration est élevée (plus que 10%), les olives peuvent se rider en raison de pertes importantes de nutriments
- Les olives doivent être bien recouvertes de saumure, sinon au contact de l’air, des moisissures et des levures, se développent d’une façon importante, ce qui peut altérer les olives.
- Les olives doivent contenir une quantité suffisante de sucres, même après le traitement alcalin et les lavages répétés, ces sucres sont importants comme une source d’énergie pour les microorganismes. au cas où ils ne se trouvent pas en quantités suffisantes, il convient d’enrichir la saumure.
- La présence dans la saumure d’une population microbienne mixte pour que les bactéries puissent prédominer progressivement.

- La température : si la température est élevée, le processus fermentaire est stimulé.
- Les traitements correcteurs d'acidité (CO<sub>2</sub>, acide chlorhydrique, acide lactique, acide citrique, acide acétique) et ceux correcteurs de sucres.

### 1.3. Les phases de la fermentation lactique

Une fois les olives mises en saumures, le processus de fermentation est déclenché spontanément, il se déroule en trois phases :

#### ◆ La phase 1

Le but de la première phase est le développement des bactéries lactiques, elle dure 7 à 10 jours. Dans cette phase, les échanges osmotiques, permettent de baisser le pH de 10 à 6, et la concentration en Na Cl de 8-10% à 5-6%, et d'augmenter le taux des acides libres de 0 à 0.1-0.2%. Il y a aussi libération des sucres, acides aminés et de vitamines (**Delgado et al., 2009**). La saumure devient ainsi un milieu de culture favorable au développement de bactérie Gram+ et Gram-, ainsi que des levures et moisissures (**Tassou, Panagou, & Katsaboxakis, 2002**)(Tableau n°2) Au début de la première phase de la fermentation, les bactéries gram + et gram – prédominent, puis leur population commencent à diminuer, et en parallèle les bactéries lactiques se croissent pour prédominer à la fin de la phase (**Paramithiotis, 2017**).

**Tableau n°2 : Principales bactéries de la phase 1 de la fermentation (Delgado et al., 2009 ; Paramithiotis, 2017).**

Groupe	Genre	Caractéristiques
Bactéries Gram-	Enterobacter Citrobacter Klebsiella Escherichia.	Production de CO <sub>2</sub> (formation de poches de gaz)
Les coques lactiques Gram+	Micrococcus Pediococcus Leuconostoc.	Production de l'acide lactique (action antibactérienne)
Les bactéries Gram+ sporulées	Clostridium	Production de l'acide butyrique (mauvaises odeurs)
	Bacillus	Activité pectinolytique (ramollissement des olives)

◆ **La phase 2**

Cette phase dure 10 à 15 jours, elle est caractérisée par une baisse du pH de 6 à 4,5, une stabilisation de la teneur en sel de la saumure à 5-6 %, une augmentation de l'acidité libre de 0,2 à 0,4%. Au cours de cette phase, il y a croissance importante de certains microorganismes notamment les lactobacilles (**tableau n°3**) (**Delgado et al., 2009**).

**Tableau n°3** : Principales bactéries de la phase 2 de la fermentation (**Delgado et al., 2009** ; **Paramithiotis, 2017**).

Microorganisme	Caractéristiques
<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Lactobacillus brevis</i>	Croissance exponentielle Production de : Acide lactique (pouvoir antimicrobien) Composés aromatiques Bactériocines
Bactéries Gram- Des coques Gram+ Des bactéries Gram+ sporulées,	Diminution de croissance En cas de développement altération des olives
<i>Debaryomyces hansenii</i> <i>Pichia anomala</i> , <i>P.</i> <i>Membranifaciens</i> <i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Croissance Composants importants d'un point de vue organoleptiques

◆ **Phase 3**

Cette phase dure de 1 à 3 mois, elle est caractérisée par une baisse du pH 4,5 à 4 une stabilité en sel de la saumure à 5-6%, et une augmentation de l'acidité libre 0.4 à 0.7%. D'un point de vue microbiologique, cette phase est caractérisée par la disparition des bactéries Gram -, avec fort développement de lactobacilles, présence de levures et de coques lactiques (**Delgado et al., 2009**).

- A noter qu'une 4<sup>e</sup> phase indésirable, peut se déclencher, au cas où l'acidité n'est pas bien maintenue, ce qui favorise le développement de bactérie qui consomme l'acide lactique et augmente le pH (de 4 à 4,7-4,8), comme les bactéries propioniques, et les moisissures aérobies (**Delgado et al., 2009**).

**1.4. Conservation des olives de tables**

Une fois la fermentation achevée, les olives vertes sont conservées dans un milieu de couverture (saumures de conditionnement) : c'est de l'eau potable qui contient des sels alimentaires, avec

ou sans adjonction dans lequel les olives sont conditionnés. Le milieu doit répondre à des règles d'hygiène bien définies, exempte de matières étrangères, et doit présenter une couleur, une saveur et une odeur caractéristique. Il peut contenir des microorganismes notamment les bactéries lactiques et les levures. Les propriétés physico-chimiques doivent être bien respectées ; pour les olives confites et les olives naturelles, la concentration minimale en chlorure de sodium est de 5% et 6% respectivement, avec un pH de 4,3 (Codex Stan, 1981).

## 2. Contrôle microbiologique des olives de tables

Vu les décrets ministériels visant à contrôler les produits alimentaires, et fixant les modalités d'échantillonnage, et les analyses microbiologiques pour les olives destinés à la consommation de la population algérienne, les tests mentionnés dans le **tableau n°4** doivent être pris en considération.

**Tableau n°4** : Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (JORA N°39,2017).

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ Métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)	
		N	c	M	M
Semi-conserves d'origine végétale	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	1	10
	Salmonella	5	0	Absente dans 25g	

**n** : nombre d'unité composant l'échantillon ; **c** : le nombre limite des individus défectueux ; **m** : critère fixé par arrêté ; **M** : seuil limite d'acceptabilité (M= 10m, lors du dénombrement effectué en milieu solide).

- **Interprétation des résultats (Plan d'échantillonnage à 3 classes) (JORA,2017).**

L'interprétation des résultats s'effectue selon un plan à trois classes, dans le cas où la valeur «c » est différente de zéro (0). Les résultats s'expriment de la façon suivante :

- si le résultat de l'analyse est inférieur ou égal « m » : le résultat du critère microbiologique est satisfaisant ;
- si le résultat de l'analyse n'excède pas «M » et si le nombre d'unités de l'échantillon donnant un résultat supérieur à « m » et compris entre « 1 » et «2 » le résultat du critère microbiologique est acceptable ;
- si le résultat de l'analyse excède « M » ou si le nombre d'unités de l'échantillon donnant un résultat compris entre « m » et «M » est supérieur à « c », le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant.

Dans ce chapitre, il s'agit de présenter de façon substantielle la démarche qui nous a conduits aux résultats de notre recherche.

### **1. Cadre d'étude et présentation des unités**

Le but principal du présent travail est l'évaluation des qualités physico-chimiques et microbiologiques des olives de table vertes commercialisées dans la wilaya d'Ain Temouchent. L'étude a été menée durant la période s'étalant de février à Mai 2019, sur dix échantillons, d'olives de table vertes (n=5) et leur saumure de conditionnement (n=5).

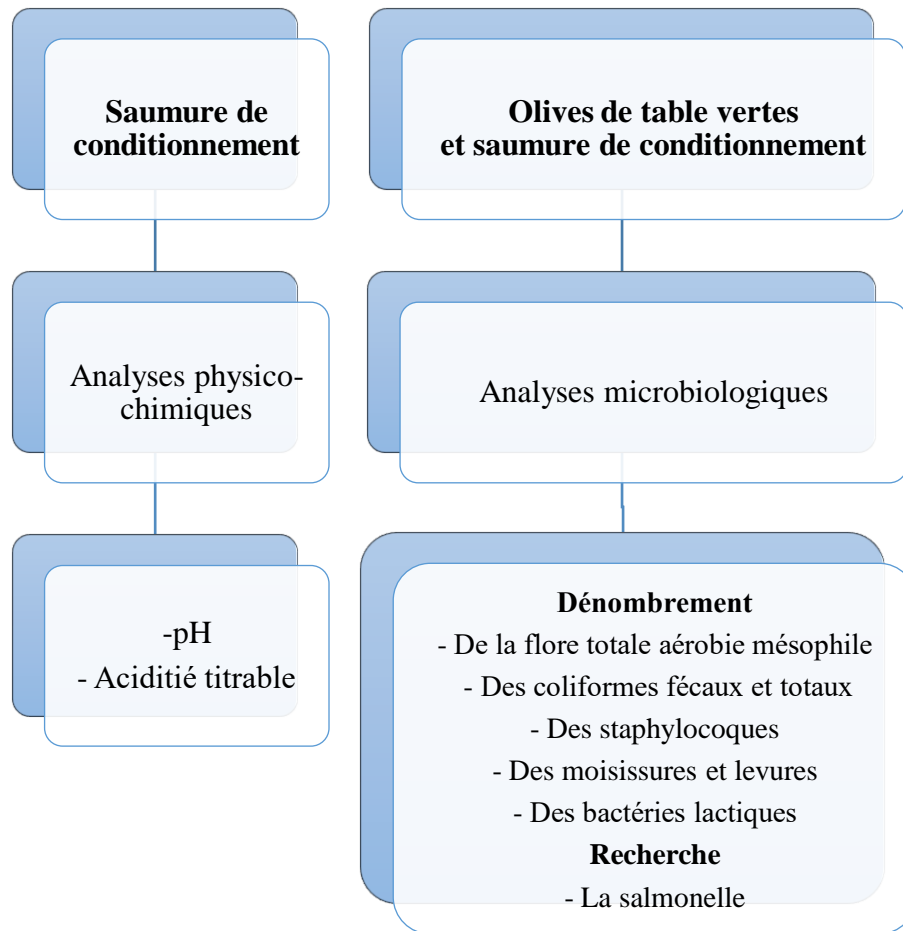
Les olives de table achetées ont été préparées au niveau de la zone industrielle Sig, située au niveau de la wilaya de Mascara, et commercialisée au niveau des magasins de la wilaya Ain Temouchent.

### **2. Échantillonnage**

Les dix échantillons (olives de table et leurs saumures de conditionnement) ont été collectés dans des flacons stériles de 50 ml d'une façon aseptique au niveau de chaque magasin, puis acheminés immédiatement dans une glacière vers le laboratoire de microbiologie du Centre Universitaire Belhadj Bouchaib - Ain Témouchent. Dès leur arrivée au laboratoire les échantillons ont fait l'objet d'une série d'analyses physico-chimiques et microbiologiques.

### **3. Méthode d'analyse**

La méthodologie de travail adoptée dans cette étude est récapitulée dans **la figure n°4**.



**Figure n°4:** Schéma récapitulatif de la procédure expérimentale.

### **3.1. Analyses physicochimiques**

#### **3.1.1. Détermination du pH**

Le pH est une valeur comprise entre 0 et 14, qui traduit l'acidité (ou la basicité) d'une solution, cette dernière est acide si son  $\text{pH} < 7$  et basique si son  $\text{pH} > 7$ . Dans notre étude, la mesure du pH est réalisée avec un pH-mètre (**Boneh type, ORP, BPH-231**) en introduisant la sonde à l'intérieur de l'échantillon (la saumure de conditionnement), le résultat est directement lu sur l'écran de l'appareil.

#### **3.1.2. Acidité titrable**

L'acidité titrable, représente la concentration des acides organiques présents dans un volume d'un échantillon, ici c'est la saumure de conditionnement. L'acidité peut être déterminée par une réaction de neutralisation, avec de la soude en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré, la procédure est la suivante (**Sadler et Murphy, 2010**) :

- Prenez 10 ml de la saumure de conditionnement et placez-les dans un bécher de 100 ml en présence de 0,1 ml de phénolphtaléine à 1% préparé dans l'alcool à 95%.



- La soude (0,1N) est ajoutée à la burette jusqu'au virage au rose de l'échantillon ; la coloration rose doit persister au moins 10 secondes.

L'acidité de la saumure est exprimée en pourcentage d'acide organique présent dans la saumure, en utilisant l'équation suivante (**Sadler & Murphy, 2010**):

$$\text{Acidité}\% = \frac{N \cdot V_1}{V_2 \cdot 10}$$

**N** : Normalité de la soude (0.1N)

**V<sub>1</sub>** : Volume du titrant (la soude)

**V<sub>2</sub>** : Volume de l'échantillon (la saumure, 10ml)

### 3.2. Analyse microbiologique des olives de table vertes et de leurs saumures de conditionnement

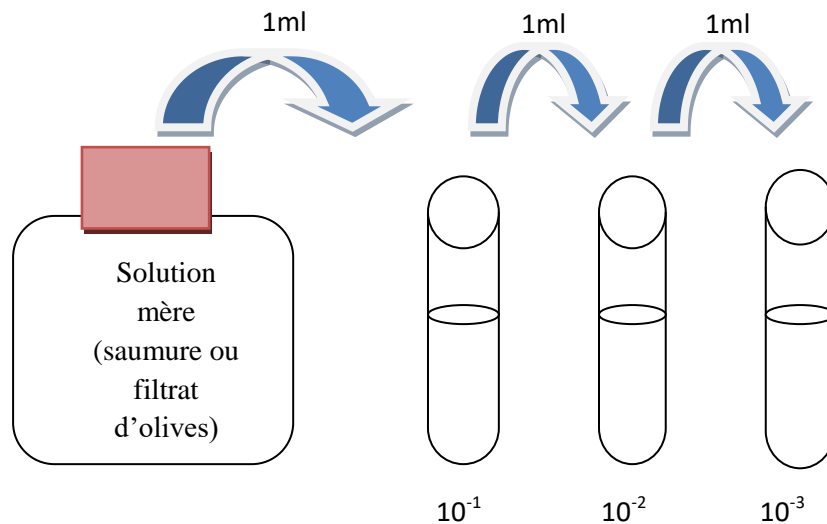
#### 3.2.1. Préparation des olives vertes de table

On a prélevé aseptiquement 1g d'échantillon d'olives, puis broyées dans un mortier stérile jusqu'à l'obtention d'une pâte et enfin diluées dans 9 ml d'eau physiologique stérile (**Guiraud et Rosec, 2004**). La solution obtenue après filtration aseptique représente la solution mère qu'on appelle filtrat d'olives.

#### 3.2.2. Préparation des dilutions

La préparation des dilutions pour les analyses microbiologiques se fait dans des conditions aseptiques ; par la mise en évolution d'un 1ml de solution mère (saumure ou le filtrat d'olives) dans 9ml de solution d'eau physiologique (**figure n°5**).

Les dilutions sont obtenues en mélangeant un volume mesuré de la suspension mère avec un volume neuf fois égal de diluant et en répétant cette opération sur les dilutions suivantes, jusqu'à obtention d'une gamme de dilutions décimales appropriées pour l'inoculation des milieux de culture (**JORAS, 2014**).



**Figure n°5 :** Préparation des dilutions décimales dans l'eau physiologique à 0.9%.

### 3.2.3. Dénombrement de la flore aérobique mésophile totale (FTAM)

La flore totale aérobique mésophile (FTAM) est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux flores banales et de contamination (**Guiraud et Rosec, 2004**).

#### ➤ Principe

Le dénombrement de la FTAM est réalisé sur gélose standard PCA (Plate Count Agar) par étalement de 1ml des dilutions  $10^{-1}$  à  $10^{-7}$ . La lecture des boîtes est faite après 48h à 72h d'incubation à 30°C (**Afifet *al*, 2008**).

#### ➤ Mode opératoire

Le dénombrement de la flore aérobique mésophile totale est effectué à partir des dilutions  $10^{-1}$  jusqu'à dilutions  $10^{-7}$ . Porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri vide, puis ajouter 15 ml de gélose PCA fondue et refroidie à  $45 \pm 1$  °C. Pour homogénéiser l'inoculum à la gélose, faire des mouvements circulaires de va-et-vient. Laisser solidifier, puis incuber à 30 °C pendant 72h (**Ghazi et Niar, 2011**).

#### ➤ Lecture

Ces bactéries apparaissent sous forme de colonies des différentes couleurs en masse à la surface de la gélose PCA. Le comptage des colonies se fait sur les boîtes qui ont un nombre compris entre

30 et 300 colonies et le nombre de micro-organismes par ml est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{V \times (n_1 + 0,1 \times n_2) \times d}$$

$\sum C$  : somme totale des colonies comptées.

$n_1$  : nombre de boîtes comptées dans la première dilution entre 30 et 300 colonies.

$n_2$  : nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

$V$  : volume de solution déposée (1ml).

$d$  : le facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été réalisés.

#### **3.2.4. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux**

Les coliformes sont des entérobactéries, leur développement est freiné par l'abaissement du pH, leur croissance est stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5. (**Le Minor et Richard, 1993**).

##### **➤ Principe**

Les coliformes sont des entérobactéries capables de se multiplier en présence de sels biliaires et peuvent fermenter le lactose en acide et avec production du gaz (CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>). Ces bactéries sont révélées en présence de rouge neutre par la formation de colonies roses ou rouges sur Mac conkey (**Institut de l'élevage, 2009**).

##### **➤ Mode opératoire**

Le dénombrement des coliformes a été réalisé sur milieu Mac-Conkey. La séparation entre coliformes totaux (CT) et coliformes fécaux (CF) est basée sur la température d'incubation qui est 37 °C pendant 24 heures pour le dénombrement des coliformes totaux et 44 °C pour les coliformes fécaux (**Afif et al., 2008**). L'ensemencement est effectué en profondeur des dilutions de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-3</sup>.

➤ **Lecture**

Les coliformes apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé sur la surface de la gélose de Mac conkey

**3.2.5. Recherche et dénombrement des *staphylocoques aureus***

*S. aureus* est une bactérie Gram positif de 1µm de diamètre, donnant des colonies jaune doré caractéristiques due à la production de pigments caroténoïdes (**Bhunia, 2008**).

➤ **Principe**

La mise en évidence de *Staphylococcus aureus* est réalisée en effectuant un ensemencement par étalement de l'échantillon sur un milieu gélosé Baird-Parker, ce milieu contient du chlorure de lithium et de tellurite de potassium inhibant la flore secondaire. La réduction de la tellurite en tellure produit une coloration noire. Une forte concentration en pyruvate et la glycine agissant comme accélérateur de croissance des staphylocoques (**Lapied et al., 1981**).

➤ **Mode opératoire**

Le milieu utilisé était le Baird-Parker additionné de jaune d'œuf et de tellurite de potassium (1%). Il a été préalablement coulé dans les boîtes de Pétri, et 0,1 ml de la dilution  $10^{-2}, 10^{-3}$  a été ensemencé en surface. Une pipette pasteur stérile a été utilisée pour étaler les 0,1 ml sur toute la surface. Après incubation des boîtes à 37 °C pendant 24 à 48 heures (**Hamiroune et al., 2017**).

➤ **Lecture**

Les colonies des *S. aureus* apparaissent des colonies noires avec un halo transparent.

- **Test de coagulase**

Le test de la coagulase est utilisé pour différencier *S.aureus* (positif) de *S.aureus* négatif à la coagulase, il se fait par l'addition de 0,5 ml de plasma de lapin à 0,5 ml de la culture bactérienne et l'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures. La formation d'un coagulum indique la présence d'une coagulase (**Tankeshwar, 2013**).

### 3.2.6. Recherche et dénombrement les salmonelles

Les Salmonelles sont des entérobactéries qui se présentent sous forme de bacilles Gram négatif (-), ne fermentant pas le lactose mais du glucose avec production de gaz et de H<sub>2</sub>S (Pechère et al., 1982).

#### ➤ Principe

- La gélose SS est un milieu modérément sélectif où l'inhibition des microorganismes à Gram positif est due à la présence de sels biliaires, de vert brillant et de citrate de sodium.
- Les concentrations élevées en citrate et thiosulfate de sodium limitent le développement des coliformes et évitent l'envahissement du milieu par les Proteus.
- La fermentation du lactose en acide est révélée, en présence de rouge neutre, par la formation de colonies rouges. Les microorganismes lactose-négatif présentent des colonies incolores.
- En présence de thiosulfate et de citrate ferrique, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent des colonies à centre noir (Biokar Diagnostics ,2009).

#### ➤ Mode opératoire

##### Pré-enrichissement de l'échantillon

Au terme de cette phase non sélective, qui utilise un milieu riche (EPT), toutes les bactéries (dont les Salmonelles) se sont multipliées. Les bactéries soumises à des conditions d'environnement très éloignées de celles de leur milieu de prédilection (ex: le tube digestif), récupèrent à l'issue de cette phase, leur faculté à se multiplier rapidement.

##### Enrichissement de l'échantillon

Afin de minimiser la croissance des autres bactéries associées au prélèvement et de poursuivre la multiplication sélective des Salmonelles, on utilise la gélose sélective (MSRV), qui contient comme agents sélectifs, la verte malachite et le chlorure de magnésium. Ce milieu est basé sur la capacité des Salmonelles à migrer de façon sélective. De plus, "incubation à 41.5°C est également un critère de sélection. (Ces étapes n'ont pas été réalisées, dans ce travail : manque des produits).

La recherche de salmonelle est effectuée à partir de la solution mère. Porter aseptiquement 0,1 ml de la solution mère dans une boîte de Pétri contenant la gélose SS solidifiée, puis incubé à 37 °C pendant 24h à 48h.

### ➤ Lecture

Les *Salmonella* qui ne fermentent pas le lactose présentent des colonies incolores, transparentes, avec ou sans centre noir (production d'H<sub>2</sub>S).

### 3.2.7. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

Les levures et les moisissures sont très largement répandues dans l'environnement grâce à leur grande capacité de croître sur de nombreux substrats (Boutin-Forzano, 2006).

### ➤ Principe

Le dénombrement de cette flore permet d'apprécier la capacité de conservation des produits fermentés (Bouzida, 2011).

### ➤ Mode opératoire

Le milieu utilisé était Sabouraud de pH acide électif pour les levures, il a été préalablement coulé dans les boîtes de Pétri et 0,1 ml de la dilution 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> ont été ensemencés en surface dans la boîte de Pétri. Une pipette pasteur stérile a été utilisée pour étaler les 0,1 ml sur toute la surface. Après les boîtes de Pétri sont incubés à 25-30°C pendant 5 jours.

### ➤ Lecture

Après incubation, observer la croissance fongique. Dénombrer les boîtes contenant un nombre de colonies inférieur à 150. Faire les observations microscopiques et les tests spécifiques appropriés pour confirmer les résultats.

### - Test de confirmation : Coloration au bleu de méthylène

La coloration au bleu de méthylène est une coloration rapide, économique et d'usage courant, simple et rapide qui permet d'apprécier la morphologie des moisissures (thalle filamenteux) et levure (thalle levuriforme). Le protocole de coloration au bleu de méthylène est :

1. On réalise un frottis sur une lame de microscope à partir d'une suspension de microorganismes, à l'aide d'une anse préalablement stérilisée (en le passant sous le bec benzène).

2. On dépose ensuite ce prélèvement au milieu de la lame en faisant des rotations jusqu'à séchage.
3. On verse quelques gouttes bleu de méthylène phéniqué sur la lame et on laisse 20 à 30 sec : rincer à l'eau distillé et sécher devant le bec benzène.

### 3.2.8. Recherche et dénombrement des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont définies comme des microorganismes, hétérotrophes et chimioorganotrophes (Zergoug, 2017). Elles forment un groupe ou un ensemble d'espèces hétérogènes dont le trait commun est celui de produire de l'acide lactique comme métabolite final de la fermentation des glucides (Doan, 2011).

#### ➤ Principe

Le dénombrement des bactéries lactiques est effectué sur milieu de Man Rogosa et Sharpe (MRS) par ensemencement en surface de 0,1ml de l'échantillon pure, et des dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$ . La lecture des boîtes est faite après 3 jours à 5 jours d'incubation à 37°C). Après incubation, les colonies rondes ou lenticulaires sont dénombrées (ISO 15214 :2007 (NM)).

#### ➤ Mode opératoire

Le dénombrement des bactéries lactiques est effectué à partir des dilutions pures et  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ . Porter aseptiquement 0,1 ml de chaque dilution dans une boîte qui contient la gélose MRS solidifié mettait les boîtes dans la jarre, puis incuber à 37 °C pendant 3 jours à 5 jours.

#### ➤ Lecture

Les colonies *Lactobacillus casei* mesurant environ 1 mm de diamètre et apparaissent de couleur blanche sur la gélose MRS.

### 1. Analyses physicochimiques

Les résultats d'analyses physicochimiques réalisées pour les saumures de conditionnement des olives vertes commercialisées au niveau de la wilaya d'Ain Temouchent, sont représentés dans **le tableau n°5**.

**Tableau n°5:** Résultats des analyses physico-chimiques de la saumure de conditionnement

Echantillon		PH	Acidité titrable (%)
Saumures de conditionnement	E1	3,76	$2 \times 10^{-3}$
	E2	3,55	$2,5 \times 10^{-3}$
	E3	4,09	$6,5 \times 10^{-3}$
	E4	3,46	$6,5 \times 10^{-3}$
	E5	4,22	$3,25 \times 10^{-3}$

#### ➤ pH

Le pH de la saumure de conditionnement des olives vertes de table est compris entre 3,46 et 4,22, qui est une valeur proche de celle exigée par les normes qui est de 4,3 (**Codex Stan, 1981**). Ce pH avec la salinité de la saumure qui est de 5% à 6% sont utilisés pour inhiber la croissance bactérienne, bien que, des bactéries lactiques et des levures peuvent y exister.

#### ➤ Acidité titrable

Les résultats obtenus, ont montré un taux d'acides organiques libres faible, compris entre  $2 \times 10^{-3}$  et  $6,5 \times 10^{-3}$ . L'augmentation de l'acidité est due à la fermentation des sucres en acides organiques par les bactéries lactiques et les levures (**Chorianopoulos et al., 2005**), cette acidité faible peut indiquer une élimination des sucres fermentescibles dans le fruit au cours de leur traitement, de plus il a été démontré que la présence des acides organiques dans la saumure du produit final sont considérés comme un facteur majeur pour accroître l'hygiène microbienne (**MOUMENE et al., 2013**).



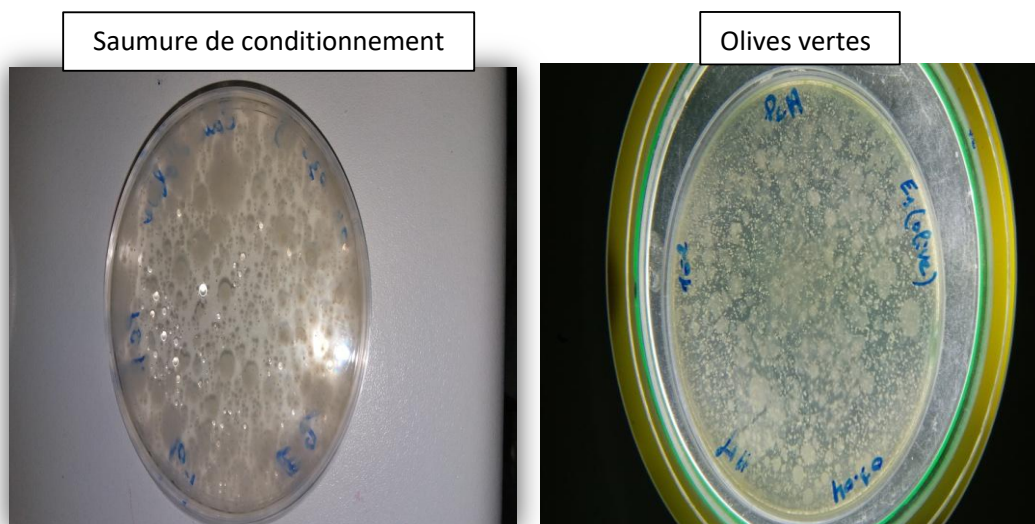
### 2. Les résultats des analyses microbiologiques

L'analyse microbiologique des produits finis est une pratique indispensable, elle permet de détecter des produits dangereux ou non conformes et ainsi arrêter leur commercialisation et leur consommation.

Les analyses microbiologiques réalisées dans l'étude présente, reposent sur le prélèvement de cinq échantillons d'olives vertes de table et de cinq de leurs saumures de conditionnement. Les résultats de cette analyse sont comparés avec les normes citées dans le Journal Officiel de la République Algérienne n°39 du 02 juillet 2017 (JORA, 2017).

#### 2.1. La flore aérobie mésophile totale

Le nombre de bactéries mésophiles aérobies est un bon indicateur d'hygiène générale, permettant d'apprécier la pollution microbienne et la qualité générale du produit (Abdoul-latif Fatouma et al., 2017). On observe différents types de colonies de la flore aérobie mésophile totale (FAMT) sur milieu PCA. Ces colonies sont de petite et de grande taille avec différentes couleurs : blanche ou jaune de forme circulaire en masse et lisse (figure n°6).



**Figure n°6 :**Aspect macroscopique des colonies de FAMT sur gélose standard PCA.

Le **tableau n°6**, représente les résultats du dénombrement de la flore mésophile totale dans les différents échantillons. La saumure d'olive contient une charge variable de la FAMT, entre les échantillons prélevés, située entre  $1,62 \times 10^4$  et  $7,75 \times 10^4$  UFC/ml, ces valeurs sont ainsi comprises entre  $10^4$  et  $10^5$  UFC/ml. En revanche, trois des cinq échantillons collectés à partir d'olives de table contiennent une charge variable de la FAMT entre  $1,75 \times 10^4$  UFC/ml et  $5,30 \times 10^4$  UFC/ml, qui sont aussi situés entre  $10^4$  et  $10^5$  UFC/ml alors que dans les deux autres échantillons le dénombrement était impossible.

De même une étude réalisée dans la région Marrakech-Tensift El Hawz, a trouvé une FAMT de  $6,60 \times 10^6$  UFC/ml, qui dépasse largement leurs normes (**MOUMENE et al., 2013**).

Nos résultats ne sont pas conformes avec les normes du Journal Officiel, qui exigent une valeur de FAMT inférieure à  $10^4$  par millilitre, pour indiquer un produit de qualité satisfaisante. De ce fait, nous pouvons conclure que les olives de table et leurs saumures de conditionnement sont de mauvaise qualité hygiénique.

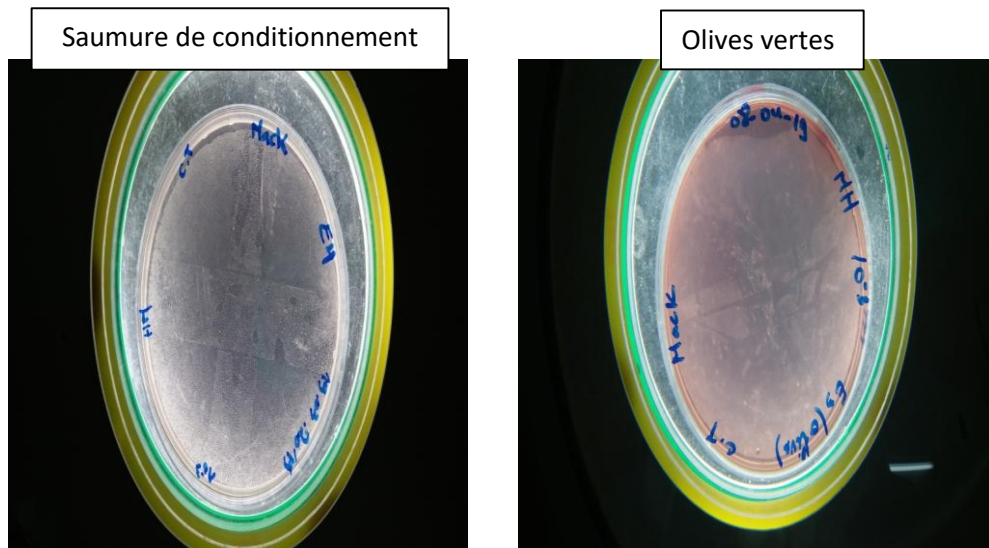
**Tableau n°6** : Dénombrement de la FAMT dans les différents échantillons de la saumure et les olives de table.

Echantillon	Nombre N	
	Saumure $\times 10^4$ (UFC/ml)	Olive de table $\times 10^4$ (UFC/ml)
<b>E1</b>	2,04	5,30
<b>E2</b>	1,62	1,75
<b>E3</b>	7,75	Indénombrable
<b>E4</b>	2,21	2,5
<b>E5</b>	6,37	Indénombrable
<b>Moyenne</b>	3,06	3,18

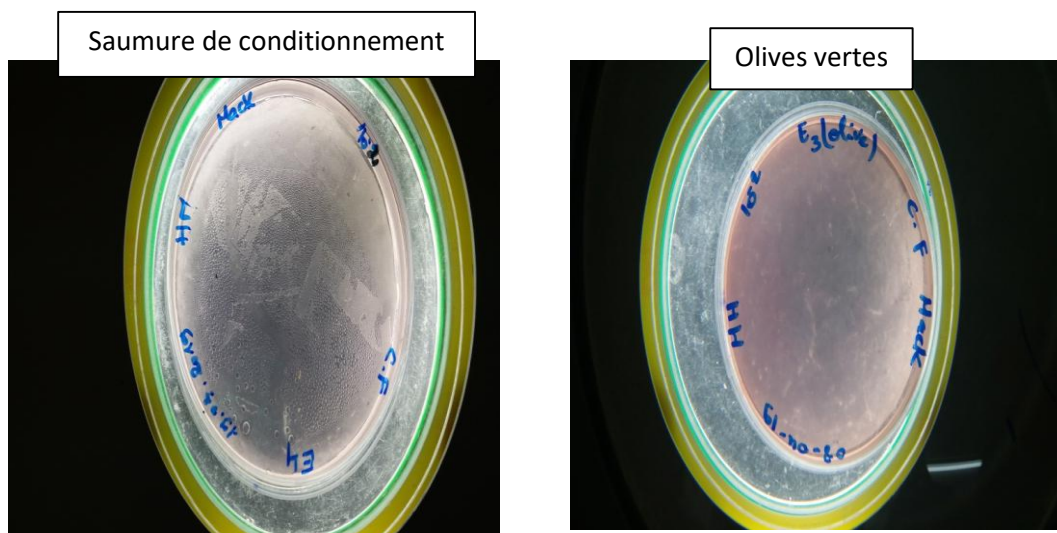
### 2.2. Coliformes totaux et fécaux

Le dénombrement des coliformes est considéré comme un indice de contamination fécale. Sur les **figures n°07 et n°8**, on observe l'absence des colonies de coliformes totaux et aussi l'absence des coliformes fécaux (*E. Coli*) dans les olives vertes de table et leurs saumures. Nos résultats sont conformes avec ceux d'une étude réalisée au centre nord du Maroc (**Hanane et al., 2010**). Dans le journal officiel, un seuil de  $10^2$  UFC/ml, d'*E.coli* peut-être accepté dans une analyse microbiologique

d'une semi-conserve d'origine végétale. Les coliformes fécaux n'apparaissent qu'à un pH de 5,9, ils sont les plus sensibles aux pH acide (MOUMANE *et al.*,2013).



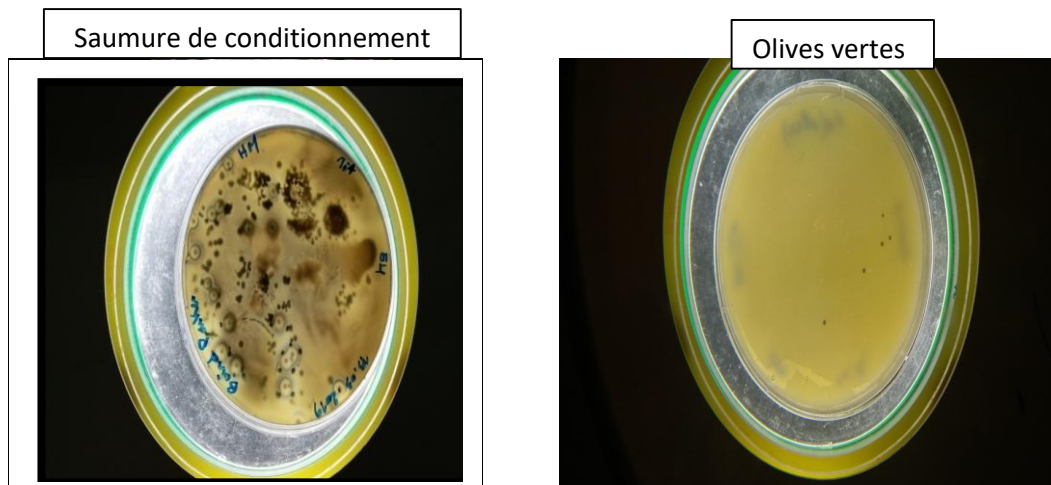
**Figure n°7** : Absence des colonies des coliformes totaux sur milieu de Mac conkey.



**Figure n°8** : Absence des colonies des coliformes fécaux sur milieu de Mac conkey .

### 2.3. *Staphylococcus aureus*

La figure n° 9, représente les colonies de *S. aureus* sur milieu de Baird Parker, qui apparaissent sous forme de colonies noires entourées d'un halo transparent.



**Figure n° 9** : Aspect macroscopique des colonies *Staphylococcus aureus* sur milieu Baird Parker.

L'observation des deux échantillons, nous permet de révéler la présence de *S. aureus* dans deux échantillons de la saumure de conditionnement et absence dans les olives vertes de table (**tableau n°7**). Pour la saumure de conditionnement, les échantillons E1 et E4, représente une charge en *S.aureus* de  $2,72 \times 10^3$  UFC/ml et  $3,09 \times 10^3$  UFC/ml respectivement, ce qui dépasse le seuil d'acceptabilité de  $10^3$  donné dans le journal officiel. Un taux de *S.aureus* de  $2.10^4$  UFC/ml a été trouvé dans l'étude réalisée dans Marrakech-Tensift El Hawz (**MOUMENE et al., 2013**).

Dans les aliments transformés, la présence de *S.aureus* indique habituellement une contamination post-traitement suite à des manipulations de la peau humaine, de sécrétions buccales ou nasales (**Bennett, 2003**).

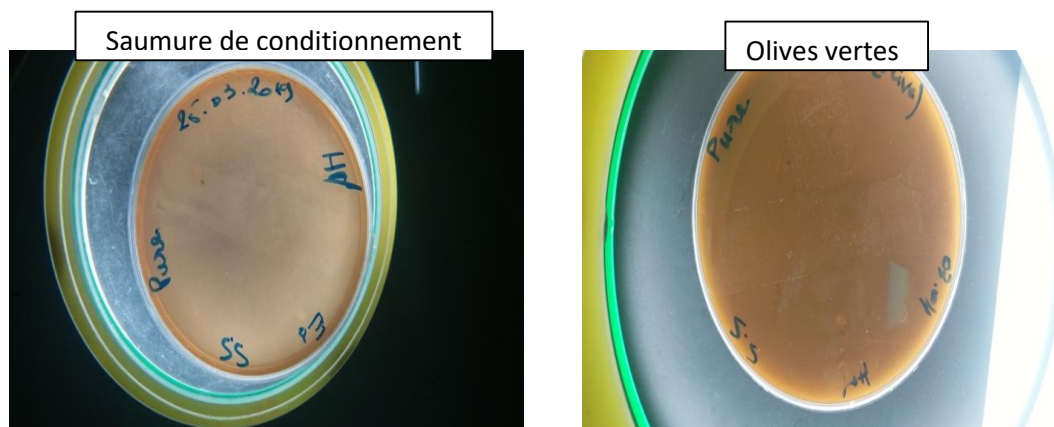
**Tableau n°7** : Dénombrement des *S.aureus* dans la saumure et les olives vertes de table.

Echantillons	Saumure	Olive de table
	<i>S.aureus</i> × $10^3$ UFC/ml	<i>S.aureus</i> × $10^3$ UFC/ml
<b>E1</b>	2,72	Abs
<b>E2</b>	Abs	Abs
<b>E3</b>	Abs	Abs
<b>E4</b>	3,09	Abs
<b>E5</b>	Abs	Abs
<b>Moyennes</b>	2,90	Abs

Les résultats du test de la coagulase, ont montré que les colonies de *Staphylococcus aureus* repérées dans la saumure de conditionnement des olives vertes de tables sont des cocci à coagulase positive.

### 2.4. Salmonelle

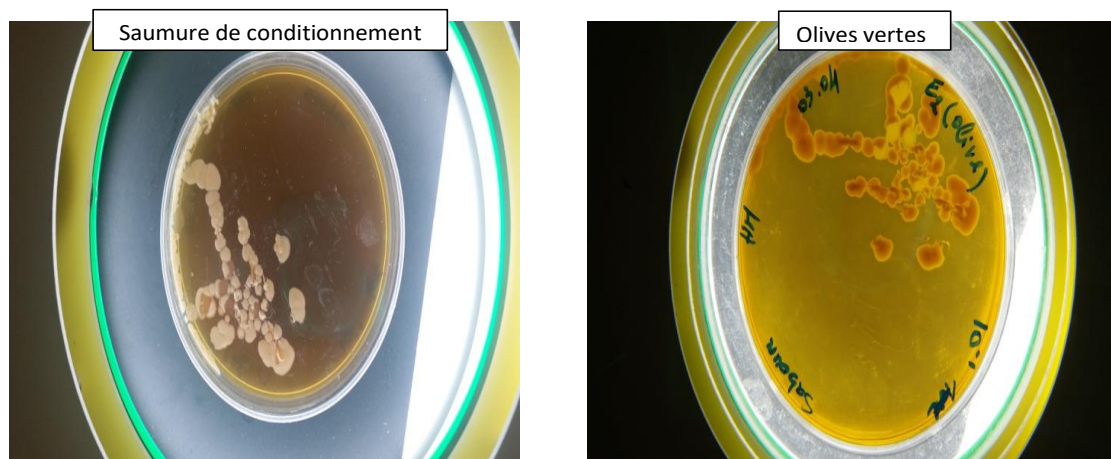
Les salmonelles représentent un problème important dans la microbiologie alimentaire. La recherche de ces germes s'effectue par des tests présence ou absence et la norme est de 0 germe par 25g d'aliment. Pour les Salmonelles on remarque l'absence totale de ce germe dans les deux composants : l'olive de table et sa saumure. Ces résultats concordent bien avec les normes du Journal Officiel (**figure n°10**).



**Figure n°10** : Absence des colonies des Salmonella sur milieu Salmonella-Shigella.

### 2.5. Levures et les moisissures

La **figure n°11**, représente l'aspect des colonies de levure sur milieu Sabouraud, qui apparaissent colorées en crème.



**Figure n°11** : Aspect macroscopique des colonies de levures sur milieu Sabouraud.



D'après les analyses effectuées pour les olives vertes et leur saumure, ils contiennent des charges en levures égaux à  $1,19 \times 10^4$  UFC/ml et à  $1 \times 10^4$  UFC/ml respectivement. Par contre la charge microbienne des levures calculée dans d'autres travaux marocains été beaucoup plus importante que la nôtre ; de  $6,76.10^7$ UFC/ml (Marrakech-Tensift El Hawz) (MOUMENE et al., 2013) et de  $2,16.10^5$ UFC/ml (Kénitra), (Bousmaha et al.,2009).

Les levures sont reconnues pour leur effet bénéfique dans la fermentation (MOUMENE et al., 2013), mais elles peuvent également être des microorganismes occasionnant des détériorations lors de la fermentation ou durant le stockage et l'emballage de l'olive, ce qui provoque des poches de gaz « l'alambrado », des récipients gonflés, des saumures troubles, des arômes et des mauvaises odeurs (Garrido-Fernandez et al., 1997).

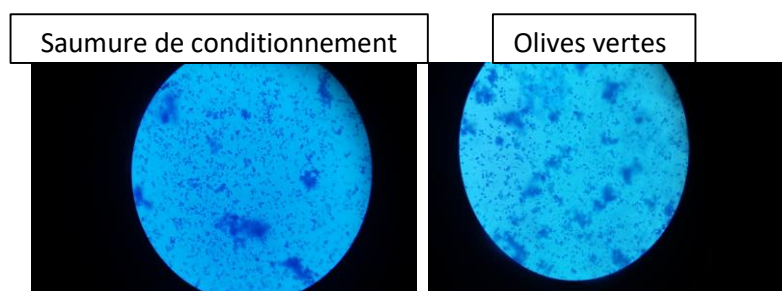
Aucune présence significative des moisissures n'a pu être enregistrée dans les deux échantillons. La contamination des aliments par les moisissures est actuellement considérée avec beaucoup d'attention en raison des mycotoxines que ces microorganismes sont capables de synthétiser.

**Tableau n° 8:** Dénombrement des moisissures et levures dans la saumure et les olives vertes de table.

Echantillon	Saumure		Olives de table	
	Moisissures	Levures	Moisissures	Levures
E5	Abs	$1 \times 10^4$ UFC/ml	Abs	$1,19 \times 10^4$ UFC/ml

### ➤ Test de confirmation : Coloration au bleu de méthylène

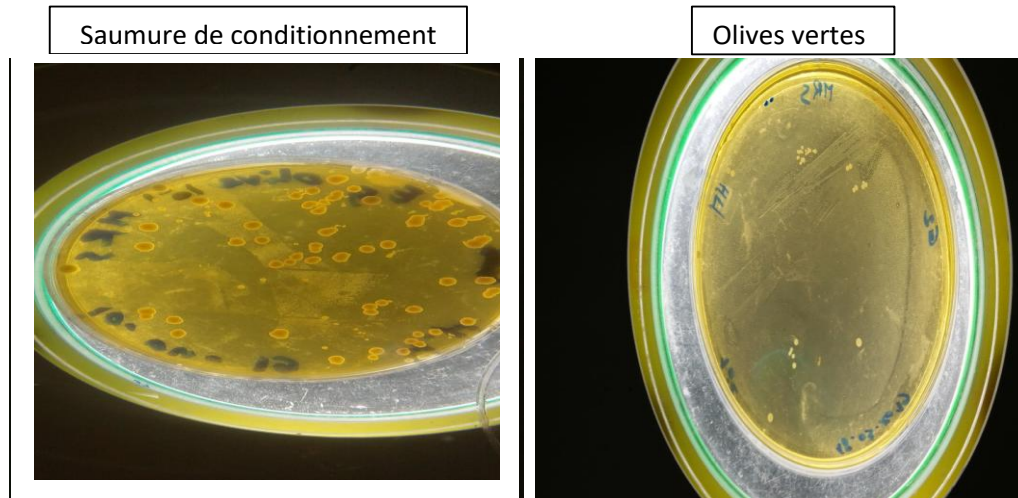
Dans la figure n°12, sont donnés les résultats du test de confirmation des levures, avec la coloration au bleu de méthylène.



**Figure n°12 :** Observation microscopique des cellules des levures (G ;  $10 \times 40$ ).

## 2.6. Bactéries lactiques

Dans la **figure n°13**, sont représentées les colonies des bactéries lactiques, sur la gélose MRS et qui ont une coloration blanche.



**Figure n°13** : Aspect macroscopique des colonies des bactéries lactique sur la gélose MRS.

Selon le **tableau n°09**, on remarque que la saumure contient  $7,9 \times 10^3$  UFC/ml et les olives de table  $7,09 \times 10^3$  UFC/ml de bactéries lactiques, par contre une étude réalisée au Maroc, a trouvé une valeur supérieure de  $4,5 \cdot 10^4$  UFC de bactéries lactiques par millilitre (**Bousmaha et al.,2009**).

Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel dans la conservation des aliments et sont largement utilisés en fermentations végétales (**Bousmaha et al.,2009**), elle jouent aussi un rôle dans l'inhibition des flores non lactiques.

**Tableau n°9**: Dénombrement des bactéries lactiques dans la saumure et les olives vertes de table.

Echantillon	Saumure	Olive de table
	Bactéries lactiques	
E5	$7,9 \times 10^3$ UFC/ml	$7,09 \times 10^3$ UFC/ml

Ce modeste travail a porté sur l'évaluation de la qualité physicochimique et microbiologique des échantillons des olives vertes de table commercialisées dans la région d'Ain Temouchent.

Le principe de contrôle de la qualité des semi-conserves végétales est très simple, il suffit de comparer les résultats obtenus avec les normes citées dans la réglementation officielle. Cette comparaison a pour but de juger de l'acceptation ou le refus du produit en question.

Les résultats obtenus lors des analyses physico-chimiques effectuées sur nos échantillons montrent des valeurs normales dans tous les tests effectués dans la saumure de conditionnement.

Selon les limites de conformité indiquées dans les normes microbiologiques auxquelles doivent répondre les semi-conserves de la réglementation algérienne, les échantillons des olives vertes de table et leurs saumures analysés se sont montrés d'une qualité satisfaisante pour les coliformes totaux et fécaux ainsi que pour *salmonella*, et d'une qualité non satisfaisante pour la FMAT et *S. auréus*. Ce résultat nous pousse à considérer qu'il y a un problème au niveau des étapes de la préparation des olives de tables, et qui doit être pris en considération par les responsables.

La présence des bactéries lactiques et les levures en faible quantité, et qui sont des composants essentielles à la fermentation des olives, nous incite à évoquer la qualité biochimique du produit fini ainsi que de sa stabilité industriel, qui doivent être conservés au cours du processus de préparation des olives vertes de tables.



### A

1. **Abdoul-latif Fatouma, M., Somda, M.K., Fourreh, A. E., Okieh, A.A., Said, C.N., Mérito A. et Yagi, S. (2017).** Evaluation of microbiological quality of raw milk from farmers and dairy producers in six districts of Djibouti. *J Food Microbiol Saf Hyg* 2 (124), 2-7.
2. **Afif A, Faid M. et Najimi M. (2008).** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Institute agronomique et vétérinaires Hassan II, Rabat, Maroc.*, 7(1), 2-7.

### B

3. **Bennett, A.F., 1998, 2003.** - Linkages in the Landscape: The Role of Corridors and Connectivity in Wildlife Conservation. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 254 pp.
4. **Bhunia AK. (2008).** Staphylococcus aureus. In: Foodborne Microbial Pathogens. Edition: Springer Science, Business Media LLC. Springer. New York. 276p.
5. **Biokar Diagnostics (2009).** Gélose SS repéré à : [http://solabia.com/solabia/produitsDiagnostic.nsf/0/9595FA29E8E57272C12574970049198A/\\$file/FT\\_BK022\\_v6.pdf](http://solabia.com/solabia/produitsDiagnostic.nsf/0/9595FA29E8E57272C12574970049198A/$file/FT_BK022_v6.pdf)
6. **Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J. C., Gerds, M. L., Hammes, W. P., . . . Ouwehand, A. (2012).** Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. *International journal of food microbiology*, 154(3), 87-97.
7. **BOURGEOIS C.M et LEVEAU J.Y, 19.** Techniques d'analyse & de contrôle dans les industries agroalimentaire. Contrôle microbiologique Tome 3.2<sup>ème</sup> éditions, paris, imprimé en France, Technique et documentation. Lavoisier, 454p.
8. **Bousmaha, L., El Yachioui, M., & Ouhsine, M. (2009).** Amélioration du procédé de fermentation traditionnelle des olives vertes. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5(1).
9. **Boutin-Forzano S. (2006).** Moisissures domestiques, Mycotoxines et risques sanitaire. *Environnement, risque et santé* 5 Suppl,5 :S 389-389.

- 10. Bouzida S, 2011.** Suivi de l'évaluation des paramètres physico-chimiques et microbiologiques des olives de conserverie au cours de leur préparation.

### C

- 11. Chorianopoulos, N., Boziaris, I., Stamatiou, A., & Nychas, G.-J. (2005).** Microbial association and acidity development of unheated and pasteurized green-table olives fermented using glucose or sucrose supplements at various levels. *Food Microbiology*, 22(1), 117-124.
- 12. Codex Stan 66. (1981).** Norme codex pour les olives de table. Repéré à [http://www.fao.org/input/download/standards/243/CXS\\_066f.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/243/CXS_066f.pdf)

### D

- 13. Delgado, A., Laurent, A., Peres, C., Brito, D. (2009).** Amélioration de la qualité des olives de table par le contrôle du processus fermentaire, tout en réduisant les risques d'altérations. Repéré à <https://afidol.org/wp-content/uploads/QOmarsavril2009.pdf>.
- 14. Doan, T., L. (2011).** Identification et Caractérisation des Déterminants Physicochimiques et Biologiques mis en jeu dans l'Adhésion de *Lactococcus lactis* à la Mucine Modèle PGM, Thèse de Doctorat, Spécialité : Microbiologie et Biocatalyses Industrielles, Université de Toulouse, p.9.

### E

- 15. El Khaloui, M., Nouri, A. (2007).** Procédés d'élaboration des olives de table à base des variétés Picholine marocaine et Dahbia. Repéré à : [https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta\\_152.pdf](https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_152.pdf)
- 16. Estruch, R., Ros, E., & Salas-Salvadó, J. (2014).** Prévention primaire des maladies cardiovasculaires par une alimentation de type méditerranéen. *Minerva*, 13(1), 8-9.

### G

- 17. Garrido-Fernández, A., Fernandez-Diez, M. J., and Adams, M. R (1997).** Table Olives: Production and Processing. London: Chapman & Hall.
- 18. Ghazi, K. et Niar, A. (2011).** Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura.*, 29(4) ,193-196.
- 19. Guinard, J.L., Dupont, F. (2004).** Abrégé de botanique : Systématique moléculaire (13<sup>e</sup> éd) : Paris : Masson.
- 20. Guiraud JP et Rosec JP. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p.

### H

- 21. Hamiroune, M., Benyahia, M., Chatouh, O., Bensefia, S., Saidani, K., Foughalia, A. et Berber, A. (2017).** Mammites staphylococciques des vaches laitières: prévalence dans la région d'Alger et risques sur la santé publique. *Livestock Research for Rural Development* ,1-9.
- 22. Hanane, T. R. I. R. A. C. H., EL OUALI LALAMI, A., Rachida, C. H. A. B. I. R., Hicham, D. O. U. I. E. B., & Faouzi, E. R. R. A. C. H. I. D. I.** Contrôle hygiénique des conserves et semi-conserves animales et végétales.

### I

- 23. Iannucci, E., Lanza, B., D'Andria, R., Lavini, A., Morelli, G., Marsilio, V., & Russi, F. (2004).** *Irrigation effects on fruit yield, phenolic composition and fermentation of naturally green olive processing from cv.'ascolana tenera'*. Paper presented at the V International Symposium on Olive Growing 791.
- 24. Institut de l'élevage, (2009).** Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1<sup>ere</sup> Edition France Agricole. Produire mieux.
- 25. Institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAFV).** La culture de l'olivier Repéré à <https://www.itafv.dz/brochure.php>

### J

- 26. JORA N °38(2014).** Arrêté du 28 Rajab 1435 correspondant au 28 mai 2014 rendant obligatoire la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique. Repéré à : <https://www.commerce.gov.dz/reglementation/arrete-du-28-mai-2014>
- 27. JORA N °39(2017).** Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. Repéré à : <https://www.commerce.gov.dz/reglementation/arrete-interministeriel-du-4-octobre-2016>

### K

- 28. Kiritsakis, A., et Shahidi, F. (2017).** Olives and Olive Oil as Functional Foods: Bioactivity, Chemistry and Processing. : Chichester, UK : John Wiley & Sons Ltd.

### L

- 29. Laincer, F., Laribi, R., Tamendjari, A., Arrar, L., Rovellini, P., & Venturini, S. (2014).** Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas y Aceites*, 65(1), 001.
- 30. Lapied L., Petransxiene D. (1981).** La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers. Edition : Tech et Doc, Lavoisier. Paris. P: 228.
- 31. Le Minor L et Richard C. (1993).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut Pasteur.

### M

- 32.MADRPM, 2007.** Rapport sur les réalisations du Plan National Oléicole 1998-2010, Rabat, Maroc
- 33.Ministère de l'agriculture du développement rural et des pêches maritimes. (2007).** Guide de bonnes pratiques de fabrication des olives de tables. Repéré à : <http://www.agrimaroc.net/guide-olive-table-AAI.pdf>
- 34.Ministère du commerce (2017)** les critères microbiologiques relatif aux denrées alimentaires. Repéré à : <https://www.commerce.gov.dz/telecharger/reglementation/838/article>
- 35.MOUMENE, H., HASIB, A., Soumia, A. M. I. R., & JAOUAD, A.** Qualité Hygiénique des olives de table vendus en vrac dans la région Marrakech-Tensift El Hawz. *Les technologies de laboratoire*, 8(32).

### N

- 36.Normes NM ISO 15214 (2007)** Microbiologie des aliments -Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles — Technique par comptage des colonies à 30°C ; (IC 08.0.160) : 11p.

### O

- 37.Owen, R., Haubner, R., Würtele, G., Hull, W., Spiegelhalder, B., & Bartsch, H. (2004).** Olives and olive oil in cancer prevention. *European Journal of Cancer Prevention*, 13(4), 319-326.

### P

- 38.Paramithiotis, S. (2017).** *Lactic Acid Fermentation of Fruits and Vegetables*: Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- 39.Pechère. J. C., Acar. J., Grenier. B., et Nihoul. E. (1982).** Reconnaître, comprendre et traité les infections. 4ème édition. Edisem ST-Hyacinthe. Québec. 509p.

- 40. Psaltopoulou, T., Naska, A., Orfanos, P., Trichopoulos, D., Mountokalakis, T., & Trichopoulou, A. (2004).** Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *The American journal of clinical nutrition*, 80(4), 1012-1018.

### S

- 41. Sadler G. D. et Murphy P. A., 2010.** pH and Titratable Acidity. In : Nielsen S S. Food Analysis. Springer Science+Business Media, pp: 219-225.
- 42. Sansoucy, R. (1984).** Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin Méditerranéen. Repéré sur le site de l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture : <http://www.fao.org/3/X6545F/X6545F00.htm#TOC>.

### T

- 43. Tankeshwar, A. (2013).** Coagulase Test: Principle, procedure and interpretation. Bacteriology. <http://www.microbeonline.com>.
- 44. Tassou, C., Panagou, E., & Katsaboxakis, K. (2002).** Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. *Food Microbiology*, 19(6), 605-615.
- 45. Therios, I. N. (2009).** *Olives* (vol. 18): UK: Crop Production Science in Horticulture Series CABI.

### Z

- 46. Zergoug, A. (2017).** Effet des Probiotiques et Bactériocines Vis-à-vis des Pathogènes Responsables des Infections Urinaires, Thèse de Doctorat, Spécialité : Microbiologie Appliquée, Université de Mostaganem, p.4.

**Annexe 01 : Milieux de culture pour les analyses microbiologiques.****1. Gélose Mac- Conkey**

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de caséine	15
Extrait de viande	3
Lactose	10
Chlorure de sodium	5
Sels biliaire	5
Rouge neutre	0,07
Agar	20
Cristal violet	0,001
Dissoudre 58 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 20 min à 121°C.	

**2. Gélose PCA (plate count agar)**

Constituants	Quantité en g/l
Digestion enzymatique de caséine	5
Extrait de levure	2,5
Glucose	1
Agar bactériologie	15
Dissoudre 23,5g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 20 min à 121°C.	

**3. Baird Parker**

Constituants	Quantité en g/l
Glycine	12
Digestion pancréatique de caséine	10
Pyruvate de sodium	10
Bœuf Extrait	5
Chlorure de Lithium	5
Extrait de levure	1
Agar	20
Dissoudre 63 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 20 min à 121°C.	

**4. Gélose Sabouraud**

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de gélatine	10
Glucose	20
Agar-agar	17
Dissoudre 47g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 20 min à 121°C.	

### 5. MRS (Gélose de Man, Rogosa, Sharpe)

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	10
Extrait de viande	10
Extrait de levure	5
Glucose	20
Acétate de sodium	5
Citrate de sodium	2
Tween 80	1ml
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2
MgSO <sub>4</sub>	0,2
MnSO <sub>4</sub>	0,05
Agar	15

Dissoudre 62 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 20min à 121°C.

### 6. Gélose SS (salmonella -shigella)

Constituants	Quantité en g/l
Polypeptone	5
Extrait de viande de bœuf	5
Lactose	10
Citrate de sodium	10
Citrate de ferrique	1
Sels biliaires	8,5
Vert brillant	0,003
Rouge neutre	0,025
Thiosulfate de sodium	8,5
Agar	12

Dissoudre 60 g dans un litre d'eau distillée ; Ne pas autoclaver, porter à ébullition 1 ou 2min en agitant fréquemment.

### 7. Eau physiologique

Constituants	Quantité en g/l
Chlorure de sodium	9

Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 20 min à 121°C.



**Annexe 02 : Préparation des solutions pour les analyses physico-chimiques.**

**Préparation de bleu méthylène**

Bleu de méthylène.....0,05g.  
L'eau distillée .....100ml.

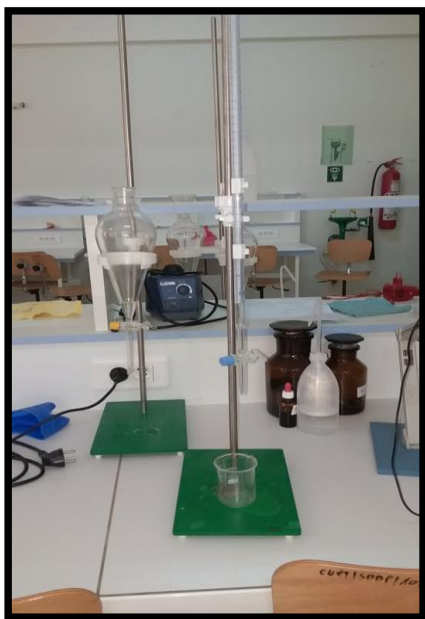
**Préparation de la phénophtaléine**

Phénophtaléine .....1g.  
Alcool 95% .....120ml.  
L'eau distillée .....80ml.  
NaOH(0,1N).....quantité de titrage.

**Préparation de la solution NaOH(0,1N)**

(0,1N) Na OH.....1g.  
L'eau distillée .....250ml.

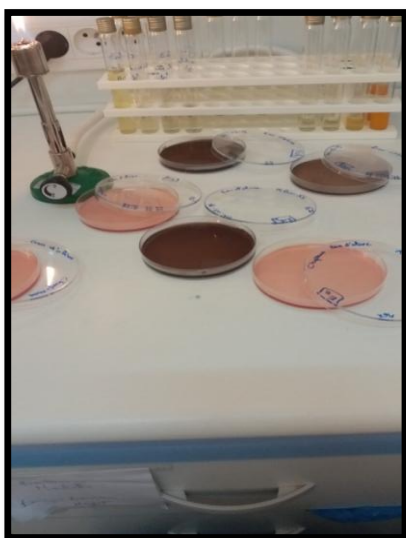
**Annexe 04** : les principales étapes des analyses physico-chimiques et microbiologiques de saumure de conditionnement.



**Figure n°14:** Détermination d'acidité libre.



**Figure n°15 :** Mesure le pH.



**Figure n°16 :** Préparation des dilutions et l'écoulement des milieux.



**Figure n° 17 :** Préparation des boîtes de pétrie.

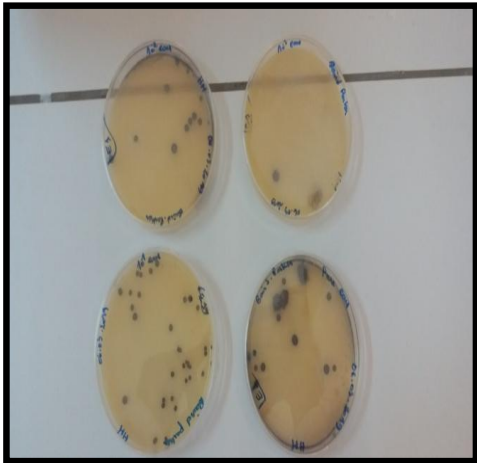


Figure n°18 : Recherche des *S. aureus*.

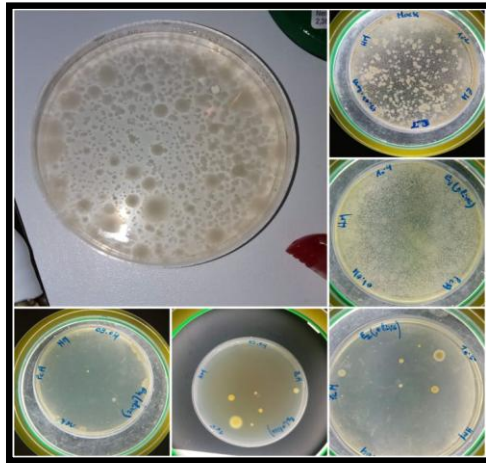


Figure n°19 : Recherche des FMAT.



Figure n°20 : Recherche des CF.

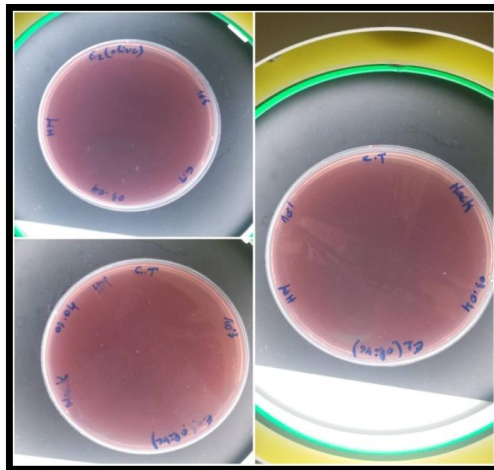


Figure n°21 : Recherche des CT.

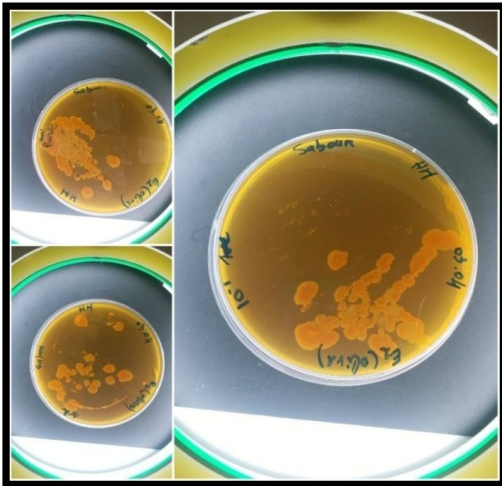


Figure n°22 : Recherche des levures et moisissures.



Figure n°23 : Recherche des bactéries lactiques.

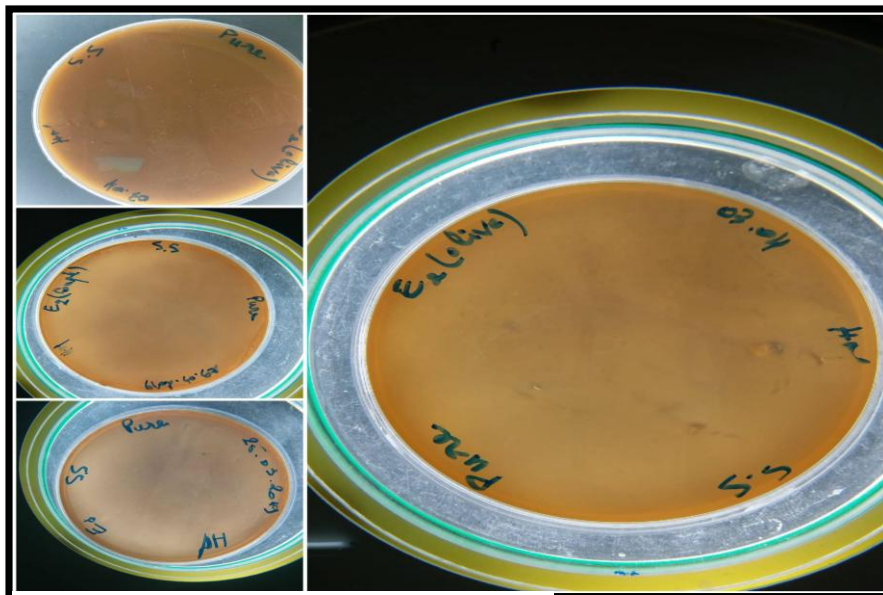


Figure n°24 : Recherche des salmonelles

8 Chaoual 1438 2 juillet 2017		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39				21
7- Conserves et semi-conserves						
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)		
		n	c	m	M	
Semi-conserves pasteurisées d'origine animale <sup>(1)</sup>	Germes aérobies à 30 °C	5	1	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	
	Coliformes totaux	5	0	Absence		
	Anaérobies sulfito-réducteurs	5	0	Absence		
	Staphylocoques à coagulase +	5	0	Absence		
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
Semi-conserves non pasteurisées d'origine animale (anchois au sel ou à l'huile...) <sup>(1)</sup>	Germes aérobies à 30 °C	5	1	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	
	Coliformes totaux	5	0	Absence		
	Anaérobies sulfito-réducteurs <sup>(2)</sup>	5	0	Absence		
	Staphylocoques à coagulase +	5	0	Absence		
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
Semi-conserves d'origine végétale	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
Conserves	Epreuves de stabilité	Se reporter à la procédure prévue par la réglementation en vigueur				

<sup>(1)</sup> Revivification de la suspension mère pendant deux (2) heures à la température du laboratoire pour les semi-conserves pasteurisées et pendant 30 mn à 45 mn pour les semi-conserves non pasteurisées.

<sup>(2)</sup> Cas particulier des anchois au sel : Anaérobies sulfito-réducteurs : m = M = moins de 10 ufc/g.