



Le conditionnement des fraises fraîches sous "micro-atmosphère" à base d'huiles essentielles combinées : Effet durant le stockage

Hakima BOUZIDI, Zina LAKHLEF, Zohra HELLAL, Djamel DJENANE*

Laboratoire de Qualité et Sécurité des Aliments. Département des Sciences Alimentaires. Université Mouloud-MAMMERI, B.P. 17, 15000, Tizi-Ouzou, Algérie.

Résumé

L'étude "in vitro" de l'activité antifongique des différentes huiles essentielles (HEs) vis-à-vis d'*Aspergillus brasiliensis* CIPF1431.83 (*A. brasiliensis*) a été réalisée. Les résultats obtenus ont montré que l'HE issue de *Satureja montana* (*S. montana*) exerce un pouvoir antifongique significatif ($p < 0,05$). Cependant, une grande capacité antifongique a été enregistrée lors de différentes combinaisons des HEs. Les performances des différents traitements exprimées en termes de Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) ont donné des valeurs de l'ordre de 0,30 µl/ml, 0,63 µl/ml et 2,50 µl/ml, respectivement pour *S. montana*, *L. nobilis/S. montana* et *P. lentiscus/S. montana*. Cependant, la combinaison *P. lentiscus/L. nobilis/S. montana* a donné une CMI semblable à celle obtenue avec la combinaison *P. lentiscus/S. montana* (2,50 µl/ml). Le conditionnement sous micro-atmosphère en présence de *S. montana* et de *S. montana/P. lentiscus* comme agents bioactifs a montré une efficacité élevée à l'encontre de la moisissure étudiée et d'autres moisissures d'altération des fraises durant le stockage.

Mots-clés : Fraises, *A. brasiliensis*, conditionnement micro-atmosphère, huiles essentielles, bioconservation

Abstract:

The packaging of fresh strawberries under "micro-atmosphere" based on essential oils combination: Effect during storage

The "in vitro" study of the antifungal activity of essential oils (EOs) with respect to *Aspergillus brasiliensis* CIPF1431.83 (*A. brasiliensis*) was carried out. The results obtained indicate that the EO of *Satureja montana* (*S. montana*) showed considerable antifungal potential ($p < 0.05$). Different combinations of EOs have shown great antifungal capacity. *S. montana* EO showed a minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.30 µl/ml, the combination *L. nobilis* + *S. montana* gave a MIC of 0.63 µl/ml, whereas the combinations *P. lentiscus/S. montana*; *P. lentiscus/L. nobilis/S. montana* gave MICs of 2.50 µl/ml. The design of a micro-atmosphere conditioning of fresh strawberries in the presence of *S. montana* and *S. montana/P. lentiscus* as bioactive agents for the biopreservation of fresh strawberries showed that the combination of EO showed a high efficiency against this mold studied and other molds of strawberries deterioration.

Keywords: Strawberries, *Aspergillus brasiliensis*, micro-atmosphere, essential oils, biopreservation

1. Introduction

Les maladies post-récolte sont les principales causes de la perte de produits frais horticoles sur toute la chaîne d'approvisionnement. Dès la récolte, la préservation de ces produits nécessite d'adopter des mesures protectrices. Celles-ci sont particulièrement importantes lorsque les fruits entiers sont destinés à une commercialisation à l'état frais, ou prêt à l'emploi [1].

Dans le domaine de la conservation des aliments périssables, la tendance actuelle porte sur l'utilisation

des molécules bioactives comme un outil technologique pour augmenter la durée de vie de ces produits. Les HEs sont connues par leurs composés antimicrobiens et antioxydants naturels. Ces composés volatils présentent un moyen de base dans la conception de certains conditionnements et emballages des denrées alimentaires [2, 3]. C'est ainsi que l'emballage ne se limite pas uniquement à une enveloppe inerte qui isole l'aliment de l'environnement externe, mais, bien au contraire, il joue un rôle actif et substitue l'usage des conservateurs dans les matrices alimentaires [4].



L'avantage principal de l'incorporation des HEs dans un emballage actif repose sur la nécessité de faibles concentrations en HEs par rapport à la pulvérisation, l'immersion ou l'ajout direct dans l'aliment. Un autre avantage des HEs est, celui de leur bio-activité en phase vapeur [5-7], une caractéristique qui les converties très utiles comme conservateurs alimentaires efficaces. Bien qu'il y ait beaucoup d'études "*in vitro*" focalisées sur les propriétés biologiques des plantes aromatiques, les applications sur les aliments restent insuffisantes [8-10,11].

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y poussent spontanément.

Cette présente étude vise à mettre en évidence les propriétés antifongiques de trois HEs extraites à partir des plantes très communes en Algérie : *L. nobilis*, *P. lentiscus* et *S. montana* vis-à-vis de la souche fongique *A. brasiliensis*, ainsi que l'adoption de la technique micro-atmosphère à base de ces HEs pour le maintien des conditions optimales de conservation des fraises de saison, très sensibles aux altérations d'origine fongique.

2. Matériel et méthodes

2.1. Les huiles essentielles

Les HEs *L. nobilis*, *P. lentiscus* et de *S. montana* utilisées dans cette étude sont 100 % pures et naturelles issues à partir d'une distillation à la vapeur d'eau à basse pression au niveau du laboratoire Florame Aromathérapie (Saint-Rémy-de-Provence, France) avec une garantie biologique contrôlée et certifiée par ECOCERT (Organisme de contrôle et de certification, France). Elles ont été conservées à l'abri de la lumière et de l'oxygène à + 7 °C. Les analyses chimiques de ces HEs ont été réalisées au sein du même laboratoire par la technique chromatographique phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).

2.2. Activité antifongique « *in vitro* »

2.2.1. Méthode de contact direct

Les HEs ainsi que leurs différentes combinaisons ont été testées à des concentrations de 0,30 ; 0,40 ; 0,63 et 2,50 µl/ml dans le milieu PDA¹. L'inoculation des

boîtes a été réalisée par le dépôt au centre de chaque boîte d'un disque mycélien d'environ 6 mm de diamètre (Ø = 6 mm) prélevé d'une pré-culture jeune de trois jours (~10⁶ spores/ml). Deux boîtes témoins ont été réalisées : l'une contenant 20 ml du milieu PDA inoculée mais sans HEs (témoin négatif), l'autre boîte contenant 20 ml du milieu PDA supplémentée d'antifongique (Amphotricine B) pour servir de témoin positif. Les boîtes de Pétri sont sellées à l'aide d'un para-film, puis incubées à 25 °C pendant 7 jours. La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures.

2.2.2. Méthode de micro-atmosphère

L'intérêt de cette méthode repose sur l'évaluation de l'activité antifongique des composés volatils des HEs à une température d'incubation donnée. Des boîtes de Pétri contenant 20 ml de PDA ont été préparées. Une inoculation a été réalisée par dépôt au centre de chaque boîte d'un disque de mycélium d'environ 6 mm de diamètre, prélevé des boîtes d'une pré-culture de trois jours (~10⁶ spores/ml). Un disque stérile de papier filtre (FIORONI S.A. Italie) (Ø = 6 mm) a été placé au centre du couvercle de chaque boîte de Pétri puis à l'aide d'une micropipette, 5 µl de chaque HE ont été déposés sur le papier filtre. Les boîtes ont été scellées à l'aide d'un para-film (dépôt en position inversée, sur le couvercle de la boîte). Ces boîtes de Pétri ont été incubées à 25 °C/7 jours.

2.2.3. Concentration minimale inhibitrice

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des HEs ont été déterminées par la méthode de microdilution selon Djenane *et al.* [13]. La concentration fongique initiale était de l'ordre ~10⁶ spores/ml. Les HEs ont été diluées dans 1 % de Tween-80 (0,1-5 µl/ml).

L'indice antifongique est calculé par la formule de Wang *et al.* [12] : $IA = [1 - (D_a/D_b)] \times 100$ avec :

IA : Indice antifongique des composés volatiles de l'HE ;

D_a : Ø de la zone de croissance de l'essai ;

D_b : Ø de la zone de croissance du témoin négatif.

¹ Potato Dextrose Agar : Gélose Dextrose à la Pomme de Terre

2.3. Activité antifongique " *in vivo* "

Les fraises originaires de Jijel (Algérie) ont été achetées du marché local dans la ville de Tizi-Ouzou (Algérie) à maturité commerciale puis transportées au laboratoire de Recherche Qualité et Sécurité des Aliments (LQSA), Université de Tizi-Ouzou. Des lots homogènes basés sur l'absence de blessures, absence d'impuretés et surtout absence d'infection fongique visible à l'œil nu ont été préparés. Des barquettes (80 cm²) perforées à la base ont été utilisées pour le conditionnement des fruits. Elles sont au préalable désinfecté avec de l'éthanol puis rincées avec de l'eau distillé stérile. Chaque barquette est destinée à contenir 250 g de fraises du même calibre. Le poids de chaque barquette contenant les fruits est enregistré.

Les fraises de chaque barquette ont été immergées dans de l'eau froide javellisée (3 %) pendant 45 secondes, puis rincées avec de l'eau distillée stérile et égouttées à l'aide des compresses stériles. Après, les fruits de chaque barquette ont été inoculés avec une culture d'*A. brasiliensis* standardisée à environ 10⁶ spores/ml, obtenue à partir des jeunes cultures. L'HE de *S. montana* ainsi que la combinaison *P. lentiscus/S. montana* (v/v) sont utilisées pour le traitement des fraises. 36 barquettes ont été préparées d'une façon à obtenir 12 barquettes témoins, 12 barquettes l'huile de *S. montana* et 12 barquettes HES de *P. lentiscus/S. montana*. La méthode de conditionnement dite « *microatmosphère* » a été utilisée pour l'application de ces HES comme moyen de bioconservation des fraises. L'intérêt de cette méthode repose sur l'évaluation de l'activité antifongique des composés volatils issus des HES pendant le stockage du produit. Sur la partie interne du film plastique (espace de tête) couvrant chaque barquette contenant les fraises, trois (03) disques stériles de papier filtre (FIORONI S.A. Italie) (Ø = 6 mm) ont été placés et attachés avec un ruban adhésif sur ce film (simulation d'un emballage actif), puis à l'aide d'une micropipette, 5 µl de *S. montana* et de la combinaison *P. lentiscus/S. montana* (v/v) ont été déposés sur chaque disque. Les barquettes ont été scellées puis entreposées à 7 ± 1 °C pendant 7 jours.

2.4. Mesure du pH

Le pH de jus de fraise pour chaque barquette a été enregistré à l'aide d'un pH mètre (Hanna pH meter, 211).

2.5. Perte du poids

La perte de poids, exprimée en pourcentage de perte de poids d'origine, est obtenu par la formule suivante :

$$\text{Perte en poids (\%)} = \frac{P_o - P_t}{P_o} \times 100$$

P_o : Poids initial.

P_t : Poids final.

2.6. Analyse microbiologique

Pour le dénombrement fongique, 10 g du fruit ont été broyés puis homogénéisés dans 90 ml d'eau physiologique stérile (suspension mère 1/10). A partir de cette dilution mère, des dilutions décimales ont été réalisées pour chaque échantillon (dilution de 1ml dans 9 ml d'eau physiologique stérile). L'ensemencement de 0,1 ml de la solution mère et ses dilutions a été effectué dans des boites de Pétri contenant environ 15 ml de milieu de culture PDA. L'incubation des boites a été réalisée à 25 ± 2 °C pendant 3 à 5 jours.

2.7. Analyse statistique

Les analyses de la variance (ANOVA) ont été réalisées par un logiciel statistique STATBOX version 6.4. Les résultats sont présentés comme les moyennes de trois expériences indépendantes ± déviation standard avec trois répliques. Le test t de Student a été utilisé pour comparer l'efficacité du traitement par EO et pour déterminer les différences significatives entre les traitements à un intervalle de confiance de 95 % ($p < 0,05$).

3. Résultats et discussion

3.1. Activité antifongique : test *in vitro*

3.1.1. Méthode de contact direct

L'évaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct a révélé que les trois HES testées individuellement ont exercé un pouvoir antifongique significatif ($p < 0,05$) (Tableau 1).

Tableau 1
Croissance mycélienne (Ø mm) d'*A. brasiliensis* en présence des HEs aux différentes concentrations (moyenne ± écart type) par la méthode de contact direct

HEs	<i>S. montana</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>P. lentiscus</i>	Témoïn	
				Positif	Négatif
0,30 µl/ml	6,00 ± 0,00 ^{aw}	84,00 ± 0,00 ^{bw}	84,00 ± 0,00 ^{bw}	18,00 ± 0,00	85,00 ± 0,00
0,40 µl/ml	6,00 ± 0,00 ^{aw}	84,00 ± 0,00 ^{bw}	84,00 ± 0,00 ^{bw}		
0,63 µl/ml	6,00 ± 0,00 ^{aw}	82,50 ± 0,00 ^{bw}	83,50 ± 0,00 ^{bw}		
2,50 µl/ml	6,00 ± 0,00 ^{aw}	54,00 ± 1,28 ^{bx}	72,00 ± 0,00 ^{cx}		

^{a-c} Les valeurs suivies par des lettres différentes dans la même ligne sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^{w-x} Les valeurs suivies par des lettres différentes dans la même colonne sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Il est à noter que l'activité antifongique la plus remarquable a été enregistrée avec l'HE *S. montana*. Contrairement à nos résultats, Iauk *et al.* [14] et Benhammou *et al.* [15] ont rapporté que l'activité antifongique des extraits de *P. lentiscus* semble être beaucoup plus intéressante par rapport à son activité antibactérienne. De même, Taran *et al.* [16] ont mentionné que les extraits de feuilles de *Pistacia khinjuk* ainsi que des autres espèces sont connues pour leurs activités antibactériennes et antifongiques. Duru *et al.* [17] et Kordali *et al.* [18] ont rapporté que les extraits bruts obtenus à partir des feuilles de *Pistacia vera*, *Pistacia terebinthus* et *P. lentiscus* exercent une bonne activité antifongique contre des moisissures pathogènes des cultures agricoles (*Phythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* et *Fusarium sambucinum*). D'après Ouelhadj *et al.* [19], l'HE de *P. lentiscus* exerce une activité antifongique intéressante vis-à-vis d'*Aspergillus niger* et *Penicillium spp.*, il s'avère que ces deux souches étaient très sensibles à une concentration de 20 µl/ml d'HE du pistachier, alors qu'elles étaient extrêmement sensibles aux autres concentrations (30, 40 et 60 µl/ml). Les activités antimicrobiennes des HEs sont difficiles à corrélées à un seul composé spécifique se trouvant dans une HE en raison de leur complexité et leur variabilité. Néanmoins, certains chercheurs ont signalé qu'il existe une relation étroite entre la composition chimique en éléments les plus abondants et de l'activité antimicrobienne [13]. Barra *et al.* [20] ont examiné l'HE de *P. lentiscus* pour son activité antifongique contre *Aspergillus flavus*, *Rhizoctonia solani*, *Penicillium commune* et *Fusarium oxysporum*, le terpinenol et le α -terpinéol, deux composants principaux de l'HE de *P. lentiscus*, ont totalement empêché la croissance mycélienne d'*Aspergillus flavus*. L'analyse chromatographique de cette huile (Tableau 2) a permis d'identifier les composés les plus abondants

suivants : α -pinène (19,82 %), β -myrcène (17,27 %), 1,8-cinéole /limonène (16,04 %).

Shaaya *et al.* [21] ont démontré que 1,8-cinéole a été le composé le plus efficace contre *Rhizopertha dominica* et *Oryzaepflus surinamensis*. Castola *et al.* [22] ; Duru *et al.* [17] ; Zrira *et al.* [23] ; Bachrouch *et al.* [24] et Djenane *et al.* [25] ont rapporté que parmi les composés les plus abondants dans l'HE de *P. lentiscus* se trouvent α -pinène, 1,8-Cinéole et β -Pinène. Pour Baranowska *et al.* [26] l'activité antifongique de l'HE de *P. lentiscus* est due essentiellement au composé majeur α -pinène. De même Ouelhadj *et al.* [19] ont confirmé que d'HE de *P. lentiscus* chémotype : α -pinène et β -pinène est bien connue pour son potentiel antifongique. Peu de recherches se sont intéressées à l'étude de l'activité antifongique de *L. nobilis*. Fawzi *et al.* [27] ont testé *in vitro* l'activité antifongique de cinq extraits de plantes contre deux moisissures (*Alternaria alternata* et *Fusarium oxysporum*), ils ont signalé que *L. nobilis* avait un énorme potentiel antifongique. Ils ont également rapporté que ces extraits de plantes pourraient être utilisés comme des fongicides naturels pour le contrôle des moisissures pathogènes ce qui réduit la dépendance et l'utilisation des antifongiques synthétiques. Récemment Christos et Evanthis [28] ont rapporté que l'HE de *L. nobilis* présente une activité inhibitrice contre le développement de deux mycorhizes des plantes : *Glomus deserticola* et *Glomus intraradices*.

39 *Comparaison entre application par "contact direct" et par "microatmosphère" des huiles essentielles combinées pour la conservation des fraises fraîches pendant le stockage*

Tableau 2.
Composition chimique (%) de l'huile essentielle de *P. lentiscus*

Temps de Réétention (min.)	Identification	% Aire
8,93	Tricyclène	0,66
9,25	α -Thuyène	0,15
9,64	α-Pinène	19,82
10,21	Camphène	2,91
11,68	Sabinène/ β -Pinène (Co-élués)	6,10
12,83	β -Myrcène	17,27
13,30	α -Phellandrène	3,89
13,55	δ -3-Carène	0,15
13,98	α -Terpinène	2,91
14,47	p-Cymène	1,05
14,82	Cinéole-1,8/Limonène (Co-élués)	16,04
15,44	cis- β -Ocimène	0,22
16,06	trans- β -Ocimène	1,08
16,60	γ -Terpinène	4,47
16,77	n-Butyrate d'Isoamyle	0,11
18,37	Terpinolène	1,77
18,45	Déhydro-paracymène	0,12
18,86	2-Nonanone	0,22
19,35	Linalol	0,30
19,61	Isopentanoate d'isopentyle	0,08
19,97	2-Fenchanol	0,13
23,36	Bornéol	0,07
24,25	Terpinèn-1-ol-4	5,70
25,15	α -Terpinéol	1,89
31,28	Acétate de L-Bornyle	1,49
32,07	2-Undécanone	0,34
35,39	Acétate de Terpényle	0,09
36,77	α -Copaène	0,13
37,91	Elémène	0,20
39,43	β -Caryophyllène	2,86
40,80	Benzoate d'Isopentyle	0,18
41,43	α -Caryophyllène	0,56
41,86	Alloaromadandrène	0,10
43,16	β -Cubébène	1,19
43,41	β -Sélinène	0,06
44,44	α -Cadinène	0,37
45,83	δ -Cadinène	1,30
46,24	α -Cédrène	0,08
Total identifié (%)		96,06

Tableau 3
Composition chimique (%) de l'huile essentielle de *L. nobilis*

Temps de Réétention (min.)	Identification	% Aire
3,73	cis-3-Hexénol	0,05
5,19	Tricyclène	0,02
5,30	α -Thuyène	0,65
5,51	α -Pinène	6,10
5,93	Camphène	0,67
6,72	Sabinène	8,15
6,82	β -Pinène	4,55
7,27	Myrcène	0,75
7,77	α -Phellandrène	0,16
7,97	δ -3-Carène	0,29
8,24	α -Terpinène	0,59
8,65	p-Cymène	1,17
8,95	Limonène/1,8 Cinéole co-élués	39,98
9,13	trans- β -Ocimène	0,09
9,57	cis- β -Ocimène	0,50
10,02	γ -Terpinène	1,09
10,41	4-Thujanol trans	0,23
11,37	Terpinolène	0,27
11,59	2-Undécanone	0,04
11,89	4-Thujanol cis	0,18
12,11	Linalol	5,05
15,44	Bornéol	0,17
16,12	Terpinèn-4-ol	2,92
16,94	α -Terpinéol	2,42
17,32	Méthylchavicol	0,05
20,75	Acétate de linalyle	0,19
22,38	Acétate de bornyle	0,46
23,04	2-Undécanone	0,12
26,41	Acétate de terpényle	12,10
26,88	Eugénol	1,55
27,36	Acétate de néryle	0,12
28,76	β -Elémène	0,29
29,90	Méthyleugénol	4,04
30,21	β -Caryophyllène	0,63
32,08	Acétate de cinnamyle	0,11
32,23	α -Caryophyllène	0,08
32,64	Aromadendrène	0,04
33,88	D Germacrène	0,10
34,15	Patchoulène	0,10
36,47	δ -Cadinène	0,15
37,70	β -Bisabolène	0,05
38,75	Elimicine	0,15
39,48	Spathuléol	0,19
39,64	Oxyde de caryophyllène	0,31
43,47	β -Eudesmol	0,10
43,84	Valencène	0,06
Total identifié (%)		97,08

L'analyse chimique de l'HE de *L. nobilis* (Tableau 3) indique que parmi les composés les plus abondants : 1,8-cinéole-limonène (39,98 %), Acétate de terpényle

(12,10 %) suivi par sabinène (8,15 %), α -pinène (6,10 %), linalol (5,05 %), β -pinène (4,55 %), méthyleugénol (4,04 %) et l'eugénol (1,55 %).

Le profil chimique de l'HE de *S. montana* testée dans ce travail est caractérisé par un pourcentage élevé de carvacrol (29,19 %), thymol (15,41 %) et le *para*-Cymène (11,77 %) suivi par γ -Terpinène (6,72 %), β -Caryophyllène (5,38 %) et le farnésol (4,10 %) (Tableau 4)

Tableau 4
Composition chimique (%) de l'huile essentielle de *S. montana*

Temps de Rétention (min.)	Identification	%Aire
5,32	α -Thuyène	0,73
5,52	α -Pinène	0,79
5,94	Camphène	0,51
6,70	Sabinène	0,09
6,89	1-Octen-3-ol- β -Pinène Co-élués	0,96
7,29	Myrcène	1,04
7,77	α -Phellandrène	0,16
7,99	δ -3-Carène	0,04
8,24	α -Terpinène	1,33
8,61	para-Cymène	11,77
8,74	Limonène	0,64
8,82	Cinéole-1,8	0,46
9,13	trans- β -Ocimène	0,92
9,57	cis- β -Ocimène	0,21
10,09	γ -Terpinène	6,72
10,39	4-Thujanol trans Terpinolène	1,05
11,39	Terpinolène	0,22
12,02	Linalol	1,97
12,23	Thujone	0,49
14,17	Camphre	0,32
14,73	Menthone	0,49
15,38	Bornéol	1,75
16,04	Terpinèn-4-ol	1,04
16,82	α -Terpinéol	0,44
19,14	Nérol	0,33
19,98	Thymol méthyl éter	0,95
20,88	Farnésol	4,10
21,73	Géranial	0,42
22,48	Acétate de linalyle	0,10
23,33	Carvacrol	29,19
23,85	Thymol	15,41
26,31	α -Fenchène	0,06
28,20	β -Bourbonène	0,09
28,56	Acétate de géranyle	0,53
30,27	β -Caryophyllène	5,38
31,35	Alloaromadendrène	0,40
32,21	α -Caryophyllène	0,45
33,87	Germacrène D	0,23
34,76	γ -Elémène	0,75
35,72	β -Bisabolène	0,87
36,45	δ -Cadinène	0,23

Temps de Rétention (min.)	Identification	%Aire
39,61	Oxyde de caryophyllène	0,98
40,12	α -Bulnésène	0,19
Total identifié		94,80

Selon Radonic et Milos [33] et Mirjana et Nada [34], la propriété antimicrobienne de la sarriette est attribuée à la présence de ces composés chimiques majeurs tel que le thymol, le carvacrol. Ultee *et al.* [35] ont indiqué que de nombreux rapports ont mentionné que le carvacrol et le thymol et leurs précurseurs (*para*-cymène et γ -terpinène), sont biologiquement et fonctionnellement étroitement associés. De nombreux auteurs ; Piccaglia *et al.* [36] ; Idir [37] ; Lefsih *et al.* [38] et Djenane *et al.* [13] ont montré que ces trois HES ont également une activité antibactérienne principalement contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Selon la littérature scientifique, aucune publication n'a été rapportée concernant l'effet des HES vis-à-vis d'*A. brasiliensis*. Néanmoins, plusieurs travaux ont été réalisés concernant l'effet de ces HES sur les espèces du genre *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigates*, *A. candidus*, *A. parasiticus*) [39-43]. Vilela *et al.* [43] ont testé l'HE d'*Eucalyptus globulus* et leur composé majeur 1,8-cinéole contre *A. flavus* et *A. parasiticus*, et ont constaté que l'activité antifongique de certains composés identifiés et séparés individuellement serait moins efficace en comparaison avec l'usage de l'huile brute extraite à partir des feuilles d'*Eucalyptus globulus*. Les constituants mineurs des HES pourraient également être impliqués dans l'activité antifongique [44-46]. Pattnaik *et al.* [47] ; Daferera *et al.* [48] ; Derwich *et al.* [49] ont signalé que la nature et la proportion des différents constituants d'une HE et de leurs effets synergiques ont une influence remarquable sur l'activité antifongique de cette dernière. L'activité inhibitrice peut être due aux différents modes d'action de tous les composants de l'HE sur le micro-organisme cible [11]. Cependant, les chances de développer des résistances par les moisissures après l'application des extraits de plantes seraient réduites et le spectre de la sensibilité fongique à leurs actions serait large [50]. Le mécanisme d'action des HES contre les mycètes, jusqu'à maintenant, n'est pas complètement élucidé, cependant, la majorité des auteurs indiquent que les composés actifs attaquent la paroi et la membrane cellulaire, affectant de ce fait la perméabilité et la diffusion des

constituants intracellulaires, en interférant également avec la fonction de la membrane [46,50-54]. D'après Cosentino *et al.* [55] plus les teneurs en phénols sont élevées, plus l'efficacité antimicrobienne des HEs est grande. Le mécanisme de la toxicité phénolique est fondé principalement sur l'inhibition des enzymes fongiques contenant le groupement SH dans leur site actif. Selon Caillet et Lacroix [56], la composition des HEs d'une même espèce varie selon la localisation géographique, les conditions climatiques tel que l'ensoleillement, la nature du sol, la période de récolte, la partie de la plante utilisée, la technique d'extraction, ...etc. Par conséquent, leurs propriétés antimicrobiennes varient également.

3.1.2. Méthode de micro atmosphère

La figure 1 montre qu'une microatmosphère à base de la vapeur d'HE de *S. montana* a engendré une forte sensibilité de la souche fongique *A. brasiliensis* (taux d'inhibition ~ 98%). Contrairement, aux deux autres huiles qui ont montré des taux d'inhibition inférieurs (16,45% pour *L. nobilis* et 5,06 % pour *P. lentiscus*). Les mêmes résultats ont été observés dans le cas de la méthode de contact direct. Par opposition aux antibiotiques, les HEs sont fortement volatiles dans l'atmosphère. Cette propriété des HEs nous a poussé à déterminer leurs efficacités antimicrobiennes en phase de vapeur.

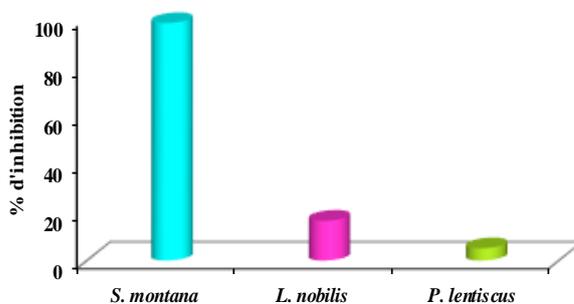


Figure 1 : Inhibition (%) de la croissance mycélienne d'*A. brasiliensis* par la méthode de micro atmosphère

Nous avons noté des différences ($P < 0,05$) au niveau de la sensibilité de la souche fongique vis-à-vis des HEs en comparaison avec la méthode de contact direct. Ces différences peuvent s'expliquer, au moins en partie, par la différence de composition entre la phase liquide de l'HE, utilisée dans la méthode de contact direct et la phase vapeur, mise en œuvre dans la technique de micro-atmosphère et d'autre part, par la concentration d'HE utilisée. Il serait probable que les vapeurs d'HEs sont moins efficaces par rapport au contact direct. L'activité antimicrobienne des HEs est principalement fonction de leurs compositions chimiques, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. Elles agissent sur les moisissures en inhibant la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines.

3.2. Effet antifongique des différentes combinaisons d'HEs : test *in vitro*

Le tableau 5 montre que les effets des différentes combinaisons d'HEs sont très significatifs ($p < 0,05$). Une activité inhibitrice de 100 % a été enregistrée pour une concentration de 2,50 $\mu\text{l/ml}$ concernant les combinaisons d'HEs : *P. lentiscus* + *S. montana* et *P. lentiscus* + *L. nobilis* + *S. montana* vis-à-vis de la souche *A. brasiliensis*. Alors que, la combinaison *L. nobilis* + *S. montana* a exercé le même effet inhibiteur, voir même à une concentration inférieure (0,63 $\mu\text{l/ml}$). Ces résultats sont en accord avec ceux de Djenane *et al.* [25] qui ont rapporté que la combinaison des HEs *P. lentiscus* avec *S. montana* a montré un effet synergique en inhibant d'avantage la croissance de *Listeria monocytogenes* CECT 935. Tunc *et al.* [57] ont également démontré que les combinaisons de certains composés aromatiques cinnamaldehyde + allylisothiocyanate et de cinnamaldehyde + carvacrol ont présenté un effet synergique et une activité inhibitrice efficace contre la croissance de *Penicillium notatum*. Boutkhil *et al.* [58] ont indiqué que la combinaison des HEs de *Seriphidium herba-alba* et *Dysphania ambrosioides* a montré un

effet synergique vis-à-vis de *Streptococcus agalactiae*. Nguefack *et al.* [59] ont signalé l'effet synergique observé par l'application d'un mélange de fraction d'HEs de *Cymbopogon citrates*, *Thymus vulgaris* et *Ocimum gratissimum* contre *Penicillium expansum*, un champignon responsable de la détérioration post-récolte des fruits et légumes et l'agent causal de la "pourriture bleu" dans les pommes. Cette synergie a été rapportée par l'effet combiné des différentes composantes de

chaque fraction d'HE. Elle est plus efficace lorsque ces dernières sont appliquées à des proportions de l'ordre de 1/1 (v/v). D'autres travaux menés par Moleyar et Narasimham [60] ont rapporté que la combinaison de cinnamaldehyde et eugénol inhibe la croissance de *Staphylococcus* spp, *Micrococcus* spp, *Bacillus* spp. et *Enterobacter*, alors que, lorsqu'elles sont appliquées séparément, les mêmes auteurs ont constaté que l'effet antibactérien est moins marqué.

Tableau 5.

Croissance mycélienne (\emptyset mm) d'*A. brasiliensis* en présence des combinaisons d'HEs aux différentes concentrations (moyenne \pm écart type) par la méthode de contact direct

HEs	<i>P. lentiscus</i> + <i>L. nobilis</i>	<i>L. nobilis</i> + <i>S. montana</i>	<i>P. lentiscus</i> + <i>S. montana</i>	<i>P. lentiscus</i> + <i>L. nobilis</i> + <i>S. montana</i>	Témoins	
					Positif	Négatif
0,30	79,00 \pm 0,00 ^{aw}	61,00 \pm 1,80 ^{bw}	67,40 \pm 0,70 ^{bcw}	67,50 \pm 0,60 ^{bcw}	18,00 \pm 0,00	85,00 \pm 0,00
0,40	67,00 \pm 0,00 ^{ax}	49,00 \pm 1,75 ^{bx}	51,00 \pm 0,60 ^{bx}	63,00 \pm 0,00 ^{cx}		
0,63	65,00 \pm 0,40 ^{ay}	6,00 \pm 0,00 ^{by}	31,40 \pm 0,00 ^{cy}	33,50 \pm 0,37 ^{cy}		
2,50	61,00 \pm 0,00 ^{az}	6,00 \pm 0,00 ^{by}	6,00 \pm 0,00 ^{bz}	6,00 \pm 0,00 ^{bz}		

^{a-c} Les valeurs suivies par des lettres différentes dans la même ligne sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^{w-z} Les valeurs suivies par des lettres différentes dans la même colonne sont significativement différentes ($p < 0,05$).

3.3. Concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Des concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées (Tableau 6) dans le but de définir les intervalles de l'acceptabilité sensorielle du produit et l'efficacité antifongique des HEs. La forte activité antimicrobienne de *S. montana* et combinée avec l'HE de *L. nobilis* a été confirmée par la méthode de la microdilution, montrant des valeurs de CMI vis-à-vis *A. brasiliensis* proches de 0,3 et 0,63 μ l/ml, respectivement.

Tableau 6.

Valeurs des CMI des différentes HEs et leurs combinaisons (μ l/ml)

Huile essentielle	CMI (μ l/ml)
<i>S. montana</i>	0,30
<i>L. nobilis</i> + <i>S. montana</i>	0,63
<i>P. lentiscus</i> + <i>S. montana</i>	2,50
<i>P. lentiscus</i> + <i>L. nobilis</i> + <i>S. montana</i>	2,50
<i>L. nobilis</i>	> 2,50
<i>P. lentiscus</i>	> 2,50
<i>P. lentiscus</i> + <i>L. nobilis</i>	> 2,50

Dans le domaine de la biopréservation à l'aide des huiles essentielles, on cherche toujours à obtenir un effet biologique escompté mais à une concentration en huile le plus faible possible, ce qu'on appelle la performance biologique d'une huile. Tout cela pour éviter l'usage d'une forte concentration qui souvent aurait un effet indésirable sur les propriétés

organoleptiques du produit. Une CMI plus faible est synonyme d'une huile plus performante.

3.4. Application sur des fraises conditionnées sous micro-atmosphère

Notre étude *in vitro* a été complétée par une étude *in vivo* sur des fraises très vulnérables aux infections fongiques surtout, après la récolte. Nous avons sélectionné pour cette étude les HEs qui ont présenté la plus grande efficacité antifongique *in vitro* à savoir *S. montana* et la combinaison *P. lentiscus*/*S. montana*. Des rapports récents sur les activités antimicrobiennes des huiles essentielles appliquées *in vitro* ou dans les matrices alimentaires ont indiqué que les niveaux nécessaires pour inhiber la croissance microbienne sont considérablement élevés *in vivo* ($\times 10$ ou plus). En conséquence, les concentrations nécessaires pour inhiber efficacement la croissance microbienne pourraient nuire de manière significative à la saveur des aliments limitant ainsi leur commercialisation. Dans ce contexte, de nombreux de nos travaux ont suggéré que leur efficacité biologique peut être renforcée par l'utilisation des méthodes combinées [13, 25]. L'application de ces méthodes pour la conservation des fruits est très bénéfique de point de vue amélioration de la qualité et sécurité des produits.

43 *Comparaison entre application par "contact direct" et par "microatmosphère" des huiles essentielles combinées pour la conservation des fraises fraîches pendant le stockage*

La perte du poids est l'une des principales causes responsables de la diminution de la qualité d'un fruit, ce qui augmente la sensibilité aux altérations fongiques [5, 61]. D'après Van Der Steen [62], la macro-perforation d'emballage expose les fruits à une perte du poids. Cette perte est due à la transpiration et la respiration du fruit (sénescence) et aussi à la multiplication fongique. La perte du poids est relativement faible dans les conditions micro-atmosphères à base de la combinaison : *S. montana* + *P. lentiscus* où la perte en poids au 7^{ème} jour de conservation était seulement de 9,19 % ($p < 0,05$). Alors que, pour les barquettes témoins et celles à base d'HE de *S. montana*, les pertes en poids ont été de 15,75 % et 11,44 %, respectivement

(Tableau 7). Les pertes du poids ont été considérablement réduites avec la combinaison d'HE *P. lentiscus*/*S. montana*. Au dernier jour de stockage, seulement 9,19 % de perte a été enregistrée pour cette combinaison. Cependant, les pertes enregistrées dans le cas de l'HE *S. montana* et le témoin sont de 11,44 % ; 15,75 % respectivement au même jour de conservation. Nos résultats sont en accord avec ceux de Martínez-Romero *et al.* [63] et Serrano *et al.* [5] qui ont rapporté que l'ajout d'eugénol, thymol ou le menthol en phase de vapeur peut réduire considérablement les pertes en poids des cerises et des raisins. Cependant, le mécanisme par lequel ces composés d'HEs ont conduit à une réduction des pertes du poids est encore inconnu.

Tableau 7
Perte du poids en % (moyenne \pm l'écart type) chez les fraises emballées sous micro-atmosphère et conservées à 7 ± 1 °C pendant sept jours.

Durée de conservation (jours)	Perte du poids (%)		
	Témoin	<i>S. montana</i>	<i>S. montana</i> + <i>P. lentiscus</i>
2 ^{ème} jour	9,58 \pm 0,20 ^{aw}	4,77 \pm 0,44 % ^{bw}	2,22 \pm 0,45 % ^{cv}
3 ^{ème} jour	13,58 \pm 0,13 ^{ax}	8,52 \pm 0,56 % ^{bx}	4,06 \pm 0,65 % ^{cx}
7 ^{ème} jour	15,75 \pm 0,45 ^{ax}	11,44 \pm 0,38 % ^{by}	9,19 \pm 0,16 % ^{cy}

^{a-c} Les valeurs suivies par des lettres différentes dans la même ligne sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^{w-z} Les valeurs suivies par des lettres différentes dans la même colonne sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Autre attribut de la qualité est celui de la détermination du pH. La valeur du pH initial des fraises est de 3,50 (Tableau 8) lors de stockage à une température de 7 ± 1 °C. Il s'avère d'après ces résultats que les différents traitements n'ont pas engendré des différences significatives ($p > 0,05$). Le pH est en relation avec l'intensité respiratoire qui dépend elle-même de la température. Selon Kartal *et al.* [64], le pH augmente avec l'augmentation de la durée de conservation et de la concentration de CO₂ dans l'espace de tête entourant l'aliment. Ainsi, la macro-perforation et l'augmentation de la température pourrait accélérer

d'avantage la respiration des fruits dans les barquettes ce qui a induit à l'augmentation de la concentration de CO₂ et du pH du fruit. Les valeurs du pH ont des valeurs acides et selon Caillet et Lacroix [56], l'efficacité de l'huile augmente avec la diminution du pH de l'aliment et la quantité d'oxygène dans l'emballage. Il a été établi que l'efficacité de l'HE augmente avec la diminution du pH. À des valeurs de pH inférieures, l'hydrophobicité des HEs augmente, ce qui engendre une bonne solubilisation dans les lipides de la membrane cellulaire des micro-organismes [65].

Tableau 8
Effet du conditionnement en micro-atmosphère à base d'HEs sur le pH (moyenne \pm l'écart type) des fraises conservées à une température de 7 ± 1 °C

Durée de conservation (Jours)	pH		
	Témoin	<i>S. montana</i>	<i>S. montana</i> + <i>P. lentiscus</i>
0		3,50 \pm 0,00^a	
2	3,29 \pm 0,05 ^a	3,49 \pm 0,03 ^a	3,10 \pm 0,05 ^a
3	3,51 \pm 0,01 ^a	3,47 \pm 0,03 ^a	3,58 \pm 0,03 ^a
7	3,49 \pm 0,06 ^a	3,34 \pm 0,07 ^a	3,62 \pm 0,03 ^a

^a Les valeurs suivies par la même lettre en exposant ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

La figure 2 montre les résultats de développement de la flore fongique (*A. brasiliensis*) sur des fraises conservées à 7 ± 1 °C en présence des HEs de *S. montana* et *S. montana*/*P. lentiscus*. D'après ces résultats, il ressort que l'effet antifongique exercé par la combinaison *S. montana*/*P. lentiscus* est très considérable ($p < 0,05$). Afin d'approfondir les aspects scientifiques concernant l'application des HEs pour la conservation alimentaire, la conception d'une technique en micro-atmosphère à base des HEs pour la prolongation de la durée de conservation des fraises s'avère intéressante. Cependant, l'effet d'un conditionnement des fraises fraîches sous micro-atmosphère à base uniquement de l'HE *S. montana* n'a pas donné des résultats escomptés, voire même l'efficacité antifongique était considérée trop basse ($p > 0,05$) après 7 jours de conservation. Cependant une combinaison *P. lentiscus*/*S. montana* a montré une bonne efficacité antifongique ($p < 0,05$). Cela pourrait s'expliquer par la façon dans laquelle les HEs se diffusent dans la matrice alimentaire, et à la variation

dans la composition chimique de chaque HE. Ceci pourrait engendrer un effet synergique entre les différents composants. Le dénombrement fongique après contamination avec *A. brasiliensis* a révélé lors de la conservation des fraises à 7 ± 1 °C, une charge fongique de 5,65 au 2^{ème} jour de conservation \log_{10} UFC/g pour les témoins, cinq jours plus tard (7^{ème} jour), la charge a atteint une valeur de 7,25 \log_{10} UFC/g (Après traitement avec les HEs et, au 2^{ème} jour de conservation, une baisse de la charge fongique a été enregistrée: 3,98 \log_{10} UFC/g pour *S. montana* et 4,09 \log_{10} UFC/g pour la combinaison *P. lentiscus*/*S. montana*. Au dernier jour de conservation (7^{ème} jour), la charge a atteint une valeur 6,41 \log_{10} UFC/g pour *S. montana* et seulement 4,94 \log_{10} UFC/g pour la combinaison *P. lentiscus*/*S. montana*.

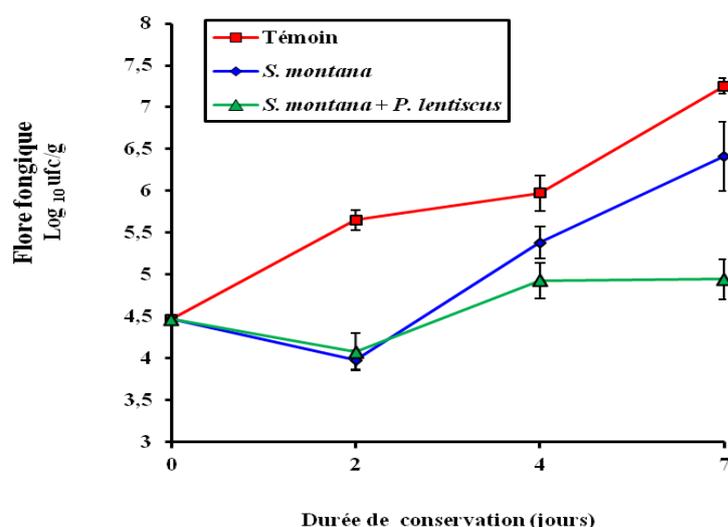


Figure 2 : Effet antifongique du conditionnement micro-atmosphère sur des fraises conservées à une température 7 ± 1 °C pendant sept jours

El-Mogy et Alsanious [66] ont étudié l'efficacité de l'HE de cassia contre *Botrytis cinerea* des fraises. Cette huile a complètement inhibé la croissance de *B. cinerea* *in vitro*, le pourcentage d'altération des fruits artificiellement inoculés avec la souche fongique est significativement réduit par l'application de cette HE. Ces auteurs ont observé également que ce traitement n'avait aucun effet négatif sur la qualité organoleptique du produit et que le pourcentage de la perte du poids des fraises a été diminué avec toutes les concentrations

de l'HE appliquée. Plusieurs HEs ont montré une activité antimicrobienne *in vitro*, mais elles sont moins efficaces lorsqu'elles sont appliquées dans des matrices alimentaires, le même avis est partagé par Rodriguez *et al.* [7] qui ont signalé le risque d'avoir des différences importantes concernant l'effet inhibiteur des HEs vis-à-vis des micro-organismes dans les aliments par rapport à des supports synthétiques. Contrairement aux résultats de l'étude "*in vitro*" vis-à-vis d'*A. brasiliensis*, l'HE de *S. montana* n'a pas montré une activité inhibitrice.

Comme il n'y avait pas de contact direct entre l'HE et la flore fongique inoculée sur des fraises, les composés volatiles de cette huile pourraient se trouver emprisonner dans l'espace de tête des barquettes contenant les fraises et l'effet de diffusion de ces composés est probablement long en comparaison à la croissance fongique très rapide. Burt [67] a rapporté que les valeurs des CMI des HEs obtenues *in vitro* doivent être affectées d'un coefficient correcteur allant de 2 à 100, pour qu'elles aient le même effet dans une matrice alimentaire. L'inefficacité de cette HE pourrait être expliqué par le choix de ce coefficient qui serait probablement insuffisant pour l'étude *in vivo*. Mohammadi *et al.* [68] ont montré que l'application *in vitro* des HEs de fenouil (*Foeniculum vulgare*), anis (*Pimpinella anisum*), et Cannelle (*Cinnamomum verum*) à des concentrations, 400, 600 et 800 µl/l a inhibé complètement la croissance de la moisissure grise *B. cinerea* et, les résultats de l'étude *in vivo* sur des fraises ont montré également une augmentation de la durée de conservation et une inhibition totale de *B. cinerea*. Tian *et al.* [69] ont rapporté que l'application de l'HE *Cicuta virosa* (200 µl/ml) a induit une diminution de pourcentage d'infection de 11,1 % pour *A. flavus* ; 11,1 % pour *A. oryzae* ; 8,6 % pour *A. niger* et de 2,80 % pour *A. alternata* après l'inoculation des tomates par rapport aux échantillons témoins. Cependant, les résultats de l'application de l'HE d'origan en phase de vapeur sur des tomates [70] ont montré une baisse de viabilité des spores de 22%. Soylu *et al.* [71] ont rapporté que l'application de l'HE d'*Origanum syriacum* L. var. *bevanii* sur des tomates a montré une efficacité élevée et une bonne protection contre la pourriture grise causée par *B. cinerea*. Selon Serrano *et al.* [5], la perte du poids est l'une des principales causes responsables de la diminution de la qualité d'un fruit, ce qui augmente la sensibilité aux altérations fongiques. En effet, les pourcentages de la perte du poids sont très faibles lors de la conservation à une température de réfrigération. Il ressort de ces résultats que la combinaison *P. lentiscus*/*S. montana* est plus efficace vis-à-vis de l'inhibition de *A. brasiliensis*. Il est très intéressant de signaler que les conditions de conservation peuvent jouer aussi un rôle très important dans l'efficacité antifongique des HEs appliquées. En effet, un grand pouvoir antifongique a été observé durant la conservation à $7 \pm 1^\circ\text{C}$ par rapport à celle de température ambiante ($30 \pm 1^\circ\text{C}$; résultats non affichés).

En accord avec ces résultats, Caillet et Lacroix [56] ont observé qu'une HE n'est efficace que lorsqu'il y a diminution de température de stockage des denrées. Cependant, de nombreuses études portées sur l'incorporation de différentes HEs dans les systèmes d'emballage actif ont été rapportées. Le cas par exemple du travail de Serrano *et al.* [5] qui ont développé un emballage actif avec l'utilisation de certains composés antifongiques naturels d'HEs pures (eugénol, thymol, menthol et d'eucalyptol) pour améliorer l'atmosphère modifiée à l'intérieur de l'emballage et ainsi, maintenir la qualité des cerises durant l'entreposage à froid et s'étendre leurs durées de vie. Ils ont montré que l'ajout de l'eugénol, le thymol ou du menthol a amélioré la durée de conservation des cerises. Rodriguez *et al.* (7) ont rapporté l'efficacité de l'utilisation des HEs (*Syzygium maticum*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Origanum vulgare*) comme une solution antimicrobienne dans les papiers d'emballages des fraises. Tzortzakis [70] a indiqué que l'exposition des fruits et légumes (fraise et tomate) à des vapeurs d'HEs d'eucalyptus/cannelle a amélioré considérablement la qualité de ces fruits en termes de protection antimicrobienne et un impact minimal sur leurs caractéristiques organoleptiques durant le stockage. Manso *et al.* [72] ont analysé l'influence de plusieurs matériaux d'emballage contenant l'HE de cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) comme agent actif vis-à-vis d'*A. flavus*. Ils ont démontré que les films plastiques : Polyéthylène téréphtalate (PET), polypropylène (PP) et polyéthylène/éthylènevinyl-alcool (PE/EVOH) ont nécessité une faible concentration en cette huile par rapport à un emballage en papier. Ils ont indiqué également que l'interaction des constituants de cette huile avec la surface du polymère (absorption, dégradation) est négligeable. L'effet de quelques constituants d'HEs comme le thymol, eugénol, menthol et carvacrol dans les réductions d'altérations fongiques des raisins et des cerises a été bien déterminé dans les conditions micro-atmosphères [73, 74].



Figure 3 : Photos illustrant l'effet de traitement antifongique à base d'HE sur la qualité des fraises pendant le stockage réfrigéré.

Nos résultats ont démontré que la combinaison *P. lentiscus/S. montana* a présenté une efficacité élevée (Figure 3). D'après Parish et Davidson [75] ; Djenane *et al.* [25, 76], l'utilisation d'agents combinés offre pratiquement un plus grand spectre d'activité et une augmentation d'activité antimicrobienne contre les organismes pathogènes ou d'altération. López *et al.* [77] ont démontré l'utilité d'incorporation dans des emballages en plastiques des HEs de cannelle, l'origan, le clou de girofle ou l'HE de cannelle combinée avec le cinnamaldehyde comme des antifongiques. Les études ont montré que ces films conservent leurs propriétés antimicrobiennes pendant plus de deux mois, et leurs utilisations en contact avec des denrées alimentaires n'ont pas montré des effets nocifs pour la santé des consommateurs. Cependant, Dikbas *et al.* [78] ont signalé que l'HE *S. hortensis* appliquée en phase de vapeur pour la conservation des fraises et des raisins a montré une efficacité antifongique importante. D'autre part, Serrano *et al.* [5] ont signalé que certains composés d'HEs appliqués sur des cerises ont montré une efficacité élevée dans la réduction de la prolifération des micro-organismes.

4. Conclusion

Les trois espèces végétales ayant fait l'objet de notre étude, à savoir le laurier, le lentisque et la sarriette sont fréquemment utilisées dans la région de la Kabylie (Algérie) à des fins thérapeutiques. L'HE *S. montana* a montré une importante activité antifongique "in vitro" à l'encontre d'*A. brasiliensis* par rapport aux deux autres HEs. Une possible combinaison entre les HEs pourrait accentuer cette activité antifongique, ce qui laisse

penser à des effets synergiques entre les différents constituants de ces HEs.

Le rôle clé que pourrait jouer un conditionnement sous micro-atmosphère dans le maintien de la qualité des fraises en réponse à la demande légitime des consommateurs pour des denrées alimentaires sains et sans additifs chimiques, nous ont incités à développer ce travail. Les résultats antifongiques obtenus indiquent que la combinaison d'HE *P. lentiscus/S. montana* a été la plus efficace. Du même a permis le maintien de la qualité du produit durant le stockage réfrigéré.

Remerciements

Ce travail rentre dans le cadre d'un projet de recherche financé par le Ministère Algérien de l'Enseignement Supérieur et Recherche Scientifique (Code du projet F00520140089).

Références

- [1] Brat P., Cuq B., Transformation et conservation des fruits - Préservation de la structure initiale. L'expertise technique et scientifique de référence f 6272, 2007. Éditions Techniques de l'Ingénieur. Paris. France.
- [2] Serrano M., Martínez-Romero D., Guillén F., Valverde J.M., Zapata P.J., Castillo S., Valero D., The addition of essential oils to MAP as a tool to maintain the overall quality of fruits. *Trend. Food Sci. Technol.*, 19 (2008) 464-471. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.01.013>.
- [3] Cagnon T., Méry A., Chalier P., Guillaume C., Gontard N., Fresh food packaging design: A requirement driven approach applied to strawberries and agro-based materials, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 19 (2013) 1-34. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.05.009>.
- [4] Gontard N., Les emballages actifs, Tech.et Doc. Editions, Lavoisier, 2000, Paris, France.
- [5] Serrano M., Martínez-Romero D., Castillo S., Guillén D., Valero D., The use of the natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 6 (2005) 115-121. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2004.09.001>

- [6] Camo J., Lorés A., Djenane D., Beltrán J.A., Roncalés P., Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. *Meat Sci.*, 88 (2011) 174–178. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.12.019>.
- [7] Rodriguez A., Batlle R., Nerin C., The use of natural essential oils as antimicrobial solutions in paper packaging. *Prog. Org. Coat.*, 60 (2007) 33-38. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2007.06.006>
- [8] Raza S.A., Rehman A., Adnan A., Qureshi F., Comparison of antioxidant activity of essential oil of *Centella asiatica* and *Butylated hydroxyanisole* in sunflower oil at ambient conditions. *Biharean Biol.*, 3 (2009) 71-75. <http://biologie-oradea.xhost.ro/BihBiol/index.html>.
- [9] Foda M.I., El-Sayed M.A., Hassan A.A., Rasmay N.M., El-Moghazy M.M., Effect of spearmint essential oil on chemical composition and sensory properties of white cheese, *J. Am. Sci.*, 6 (2010) 272-280. [http://www.americanscience.org](http://www.americanscience.org/editor@americanscience.org)
- [10] Ghasemi P.A., Rahimi E., Moosavi S.A., Antimicrobial activity of essential oils of three herbs against *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters, *Acta agric. Slov.*, 95 (2010) 219-223. <https://doi.org/10.2478/v10014-010-0013-1>.
- [11] Bouguerra A., « Eude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire ». Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Université Mentouri Constantine (2012). Algérie. URL : <https://bu.umc.edu.dz/theses/agronomie/BOU6092.pdf> (Consulté le 02/01/2018)
- [12] Wang S.Y., Chen P.F., Chang S.T., Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophleoum*) leaves against wood decay fungi, *Biores. Technol.*, 96 (2005) 813-818. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.07.010>.
- [13] Djenane D., Lefsih K., Yanguela J., Roncales P., Composition chimique et activité anti-*Salmonella Enteritidis* CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, *Lavandula angustifolia* et *Satureja hortensis* ; Tests in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à 7 ± 1 °C. *Phytothérapie*, 9 (2011a) 343-353. <https://doi.org/10.1007/s10298-011-0664-z>.
- [14] Iauk L., Ragusa S., Rapisarda A., Franco S., *In vitro* antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. extracts: preliminary report, *J. Chemother.*, 8 (1996) 207-209. <https://doi.org/10.1179/joc.1996.8.3.207>.
- [15] Benhammou N., Bekkara F.A., Panovska T.K., Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts, *Afri. J. Pharm. Pharmacol.*, 2 (2008) 022-028. <http://www.academicjournals.org/ajpp> (Consulté le 19/07/2018)
- [16] Taran M., Sharifi M., Azizi E., Khanahmadi K., Antimicrobial Activity of the Leaves of *Pistacia khinjuk*, *J. Med. Plant.*, 6 (2009) 81-85. URL: http://jmp.ir/browse.php?a_code=A-10-412-1&sid=1&slc_lang=en (Consulté le 19/07/2018)
- [17] Duru M.E., Cakir A., Kordali S., Zengin H., Harmandar M., Izumi S., Hirata T., Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species, *Fitoterapia*, 74 (2003) 170-176. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00318-0](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00318-0).
- [18] Kordali S., Cakir A., Zengin H., Duru M.E., Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey, *Fitoterapia*, 74 (2003) 164-167. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00320-9](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00320-9)
- [19] Ouelhadj A., Beddar K., Djenane D., Chemical composition and Antifungal activity of the *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus* essential oils of Mediterranean regions in laboratory medium and Strawberry fruit. In proceeding of 42nd International symposium of essential oils. Izmir, 2010. Turkey.
- [20] Barra A., Coroneo V., Dessi S., Cabras P., Angioni A., Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity, *J. Agric. Food Chem.*, 17 (2007) 7093-7098. <https://doi.org/10.1021/jf071129w>
- [21] Shaaya E., Ravid U., Paster N., Juven B., Zisman U., Pissarev V., Fumigant toxicity of essential oils against four major stored products insects, *J. Chem. Ecol.*, 17 (1991) 499-504. <https://doi.org/10.1007/BF00982120>
- [22] Castola V., Bighelli A., Casanova J., Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica, *Biochem. System. Ecol.*, 28 (2000) 79-88. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(99\)00038-1](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(99)00038-1)
- [23] Zrira S., Elamrani A., Benjlili B., Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Morocco – A seasonal variation. *Flav. Frag. J.*, 18 (2003) 475-480. <https://doi.org/10.1002/ffj.1221>.
- [24] Bachrouch O., Mediouni-Ben J., Waness Wissem A., Talou T., Marzouk B., Abderraba M., Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephesia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), *J. Stored Prod. Res.*, 46 (2010) 242-247. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2010.07.001>.
- [25] Djenane D., Yanguela J., Montané L., Djerbal M., Roncalés P., Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media; efficacy and synergistic potential in minced beef, *Food Control*, 22 (2011b) 1046-1053. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.12.015>.
- [26] Baranowska M.A., Mardarowicz M., Wiwart M., Pობlocka L., Dynowska M., Antifungal Activity of the Essential Oils from Some Species of the Genus *Pinus*, *Naturforsch.*, 57 (2002) 478-482. PMID: 12132688. <https://doi.org/10.1515/znc-2002-5-613>
- [27] Fawzi E.M., Khalil A.A., Afifi A.F., Antifungal effect of some plant extracts on *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum*, *Afr. J. Biotechnol.*, 8 (11) (2009) 2590-2597. DOI [10.4314/ajb.v8i11.60778](https://doi.org/10.4314/ajb.v8i11.60778)
- [28] Christos N.H., Evanthia I.D., The effects of laurel (*Laurus nobilis* L.) on development of two mycorrhizal fungi, *Int. Biodeter. Biodeg.*, 65 (2011) 628-634. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.03.006>.
- [29] Caceres A., Alvarez A.V., Ovando A.E., Ovando A.E., Samayoa B.E., Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory-diseases. 1. Screening of 68 plants against Gram-positive bacteria, *J. Ethnopharmacol.*, 31 (1991) 193-208. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90005-X](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90005-X).
- [30] Ciani M., Menghini L., Mariani F., Pagiotti R., Menghini A., Faticenti F., Antimicrobial properties of essential oil of *Satureja montana* L., *Pathog. Spoil. Yea. Biotechnol. Lett.*, 22 (2000) 1007-1010. <https://doi.org/10.1023/A:1005649506369>
- [31] Vagionas K., Graikou K., Ngassapa O., Runyoro D., Chinou I., Composition and antimicrobial activity of the essential oils of three *Satureja* species growing in Tanzania, *Food Chem.*, 103 (2007) 319-324. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.051>
- [32] Bougandoura N., Bendimerad N., Effet antifongique des extraits aqueux et méthanolique de *satureja calamintha* ssp, *Rev. Biores.*, 2 (2012) 1-7. <http://dSPACE.univouargla.dz/jspui/handle/123456789/6701>.
- [33] Radonic A., Milos M., Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from *Satureja montana* L., *Free Rad. Res.*, 37 (2003) 673-679. <https://doi.org/10.1080/1071576031000105643>
- [34] S. Mirjana, Nada B., Chemical composition and antimicrobial variability of *Satureja montana* L. essential oils produced during ontogenesis, *J. Ess. Oil Res.*, 16 (2004) 387-391. <https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698751>
- [35] Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R., The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*., *Appl. Environ. Microbiol.*, 68 (2000) 1561-1568. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.4.1561-1568.2002>.
- [36] Piccaglia R., Marotti M., Giovannelli E., Antibacterial and antioxidant properties of Mediterranean aromatic plants, *Indus. Crops Prod.*, 2, (1993) 47-50. [https://doi.org/10.1016/0926-6690\(93\)90010-7](https://doi.org/10.1016/0926-6690(93)90010-7).

- [37] Idir L., « Activité antibactérienne de quelques huiles essentielles extraites à partir des espèces végétales de la région de la Kabylie ». Mémoire de Magister. Université M'Hamed Bougara. Boumerdes, Algérie, 2010.
- [38] Lefsih K., Roncalés P., Yanguela J., Djenane D., Biological effects of Algerian essential oils and their application in liquid eggs. New challenges in food preservation. Processing-Safety-Sustainability 11-13 Nov. Budapest, 2010. Hongrie.
- [39] Souza E.L.D., Lima E.D.O., Freire K.R.L., de Sousa C.P., Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods, Brazilian Archives of Biology and Technology, 48 (2005) 245-250 <http://dx.doi.org/10.1590/S151689132005000200011>
- [40] Magro A., Carolino M., Bastos M., Mexia A., Efficacy of plant extracts against stored products fungi., Rev. Iberoam. Micol., 23 (2006) 176-178. PMID: 17196025. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(06\)70039-0](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(06)70039-0)
- [41] Kumar R., Mishra A.K., Dubey N.K., Tripathi Y.B., Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxicogenic and antioxidant activity, Int. J. Food Microbiol., 115 (2007) 159-164 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.017>
- [42] Singh G., Maurya S., De Lampasona M.P., Catalan C., Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract, Food Control, 17 (2006) 745-752. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.03.010>
- [43] Vilela G.R., De Almeida G.S., D'arce M.A.B.R. et al., Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cinéole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare, J. Stored Prod Res., 45 (2009) 108-111. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.10.006>
- [44] Jantan I.B., Moharam B.A.K., Santhanam J., Jamal J.A., Correlation between chemical composition and antifungal activity of the essential oils of eight *Cinnamomum* species, Pharmac. Biol., 46 (2008) 406-412. <https://doi.org/10.1080/13880200802055859>
- [45] Sidhu O.P., Chandra H., Behl H.M., Occurrence of aflatoxins in mahua (*Madhuca indica* Gmel.) seeds: synergistic effect of plant extracts on inhibition of *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production, Food Chem. Toxicol., 47 (2009) 774-777. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.001>
- [46] Bajpai V.K., Kang S.C., Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu, J. Am. Oil Chem. Soc., 87 (2010) 327-336. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1500-6>
- [47] Pattnaik S., Subramanyan V.R., Bapaji M., Kole C.R., Antibacterial and antifungal activities of aromatic constituents of essential oils. Microbios., 89 (358) (1997) 39-46. PMID: 9218354.
- [48] Daferera D., Ziogas B., Polissio M., The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*, Crop Protec., 22 (2003) 39-44. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(02\)00095-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(02)00095-9)
- [49] Derwich E., Manar A., Benziane Z., Boukir A., GC/MS Analysis and *in vitro* Antibacterial Activity of the Essential Oil Isolated from Leaf of *Pistacia lentiscus* Growing in Morocco, World App. Sci. J., 8 (2010). 1267-1276. <http://www.idosi.org/14.pdf>
- [50] Da Cruz Cabral L., Fernández Pinto V., Patriarca A., Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods, Int. J. Food Microbiol., 166 (2013) 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.026>
- [51] Rasooli I., Owlia P., Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production, Phytochemistry, 66 (2005) 2851-2856. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.09.029>
- [52] Pinto E., Pina-Vaz C., Salgueiro L., Gonçalves M.J., Costa-de-Oliveira S., Cavaleiro C., Palmeira A., Rodrigues A., Martinez-de-Oliveira J., Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species, J. Med. Microbiol., 55 (2006) 1367-1373. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46443-0>
- [53] Carmo E.S., Lima E.D.O., De Souza E.L., The potential of *Origanum vulgare* L. (*Lamiaceae*) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species, Braz. J. Microbiol., 39 (2008) 362-367. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822008000200030>
- [54] Koul O., Walia S., Dhaliwal G.S., Essential oils as green pesticides: potential and constraints, Biopes. Int., 4 (2008) 63-84.
- [55] Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils, Letters App. Microbiol., 29 (1999) 130-135. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1999.00605.x>
- [56] Caillet S., Lacroix M., Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, Université de Laval. Québec, 2007.
- [57] Tunc S., Angellier H., Cahyana Y., Chalier P., Gontard N., Gastaldi E., Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. J. Memb. Sci., 289 (2007) 159-168. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.11.050>
- [58] Boutkhil S., El Idrissi M., Chakir S., Derraz M., Amechrouq A., Chbicheb A., Antibacterial and antifungal activity of extracts and essential oils of *Seriphidium herba-alba* (Asso) Soják and their combination effects with the essential oils of *Dysphania ambrosioides* (L) Mosyakin & Clemants, Acta Bota. Gal., 158 (2011) 425-433. <https://doi.org/10.1080/12538078.2011.10516284>
- [59] Nguefack J., Tamgue O., Lekagne Dongmo J. O., Dakole C. D., Leth V., Vismer H. F., Amvam Zollo P. H., Nkengfack A. E., Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. Food Control, 23 (2) (2012) 377-383. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.08.002>
- [60] Moleyar V., Narasimham P., Antibacterial activity of essential oil components, Int. J. Food Microbiol., 16 (1992) 337-342. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(92\)90035-2](https://doi.org/10.1016/0168-1605(92)90035-2)
- [61] Almenar E., Auras R., Wharton P., Rubino M., Harte B., Release of acetaldehyde from b-cyclodextrins inhibits postharvest decay fungi *in vitro*, J. Agric. Food Chem., 55 (2007). 7205-7212. <https://doi.org/10.1021/jf071603y>
- [62] Van Der Steen C., Jaxsens L., Devlieghere F., Debever J., Combining high oxygen atmospheres with low oxygen modified atmosphere packaging to improve the keeping quality of strawberries and raspberries, Posthar. Biol. Technol., 26 (2002) 49-58. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(02\)00005-4](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00005-4)
- [63] Martínez-Romero D., Castillo S., Valverde J.M., Guillén F., Valero D., Serrano M., The use of natural aromatic essential oils helps to maintain postharvest quality of 'Crimson' table grapes, Acta Hort., 682 (2005) 1723-1729. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.682.230>
- [64] Kartal S., Seckin Aday M., Caner C., Use of microperforated films and oxygen scavengers to maintain storage stability of fresh strawberries, Posthar. Biol. Technol., 71 (2012) 32-40. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.04.009>
- [65] Juven B.J., Kanner J., Schved F., Weisslowicz H., Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents, J. App. Bacteriol., 76 (1994) 626-631. PMID: 8027009.
- [66] El-Mogy M.M., Alsanous B.W., Cassia oil for controlling plant and human pathogens on fresh strawberries, Food Control, 28 (2012) 157-162. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.04.036>
- [67] Burt S., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, Int. J. Food Microbiol., 94 (2004) 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- [68] Mohammadi S., Aroiee H., Hossein Aminifard M., Jahanbakhsh V., *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against strawberry grey mould disease agent

- Botrytis cinerea*, Arch. Phytopathol. Plant Protec., 45 (2012) 2474-2484. <https://doi.org/10.1080/03235408.2012.729422>.
- [69] Tian J., Ban X., Zeng H., He J., Huang B., Wang Y., Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisecta* Celak. Int. J. Food Microbiol., 145 (2011) 464-470. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.023>.
- [70] Tzortzakis N.G., Ethanol, vinegar and *Origanum vulgare* oil vapour suppress the development of anthracnose rot in tomato fruit, Int. J. Food Microbiol., 142 (2010) 14-18. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.05.005>.
- [71] Soylu E.M., Kurt Ş., Soylu S., *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*, Int. J. Food Microbiol., 143 (2010) 183-189. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.08.015>.
- [72] Manso S., Cacho-Nerin F., Becerril R., Nerin C., Combined analytical and microbiological tools to study the effect on *Aspergillus flavus* of cinnamon essential oil contained in food packaging, Food Control., 30 (2013) 370-378. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.018>.
- [73] Valverde J.M., Guillén F., Martínez-Romero D., Castillo S., Serrano M., Valero D., Improvement of table grapes quality and safety by the combination of modified atmosphere packaging (MAP) and eugenol, menthol or thymol, J. Agric. Food Chem., 53 (2005) 7458-7464. <https://doi.org/10.1021/jf050913i>.
- [74] Valero M., E. Frances, Synergistic bactericidal effect of carvacrol, cinnamaldehyde or thymol and refrigeration to inhibit *Bacillus cereus* in carrot broth. Food Microbiol., 23 (2006) 68-73. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2005.01.016>.
- [75] Parish P.E., Davidson P.M., Methods for evaluation. In: Antimicrobials in Foods, Davidson, P. M., Branem, A. L., New York, Marcel Dekker INC, 597-615, 1993.
- [76] Djenane D., Yanguela J., Amrouche T., Boubrat S., Boussad N., Roncalés P., Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef, Food Sci. Technol. Int., 17 (2011c) 505-515. <https://doi.org/10.1177/1082013211398803>.
- [77] López P., Sánchez C., Batlle R., Nerin C., Vapor-Phase Activities of Cinnamon, Thyme, and Oregano Essential Oils and Key Constituents against Food borne microorganisms, J. Agric. Food Chem., 55 (2007) 4348-4356. <https://doi.org/10.1021/jf063295u>.
- [78] Dikbas N., Dadasoglu F., Kotan R., Cakir A., Influence of Summer Savory Essential Oil (*Satureja hortensis*) on Decay of Strawberry and Grape, J. Essen. Oil Bear. Plant., 14 (2013) 151-160. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2011.10643915>.
-