



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



جامعة الشاذلي بن جديد  
UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشاذلي بن جديد  
UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID

Université Chadli Bendjedid El Tarf

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Agronomiques

## Mémoire de Fin de Cycle

présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master II

**Spécialité:** Sécurité Agro-Alimentaire et Assurance Qualité

### Thème

Elaboration d'un produit laitier par les plantes  
aromatiques

Réalisé par :

**M<sup>elle</sup> CHaoua Selma**

Soutenu le : 8 Juillet 2019

Devant le jury composé de :

Présidente: Dr. BENRACHOU N. MCA

UCB El-Tarf

Examinatrice: Mme BENCHEIKH A. MAA

UCB El-Tarf

Promotrice: Dr. BENABDALLAH A. MCB

UCB El-Tarf

Année universitaire : 2018 / 2019

## **REMERCIEMENTS**

- *Tout d'abord, je dois remercier Dieu le tout puissant qui m'a donné ,la santé et la volonté , jusqu'à l'accomplissement de ce travail.*
- *je voudrais remercier mes promotrices de ce mémoire **Dr. BENABDALLAH Amina** ; et **Dr. BETINA-BENCHERIF Soumeya** pour leur aide, pour la qualité de leur encadrement, leur disponibilités, leur conseils fructueux et pour les directives précieuses. Il m'est aussi d'un agréable devoir de vous adresser un grand merci pour la sympathie, la confiance et la liberté d'action dont j'ai bénéficié tout au long de ce mémoire.*
- *Je remercie vivement **Dr. BENRACHOU Nora** qui a accepté de présider ce jury et je lui exprime ma profonde reconnaissance pour son aide précieuse.*
- *Mes sincères remerciements vont à **Madame BENCHEIKH Amel** d'avoir accepté d'examiner ce travail à qui j'exprime ma haute considération.*
- *Je tiens à remercier aussi l'équipe du laboratoire **GIPLAIT de Constantine** de m'avoir aidé à réaliser la partie expérimentale de ce projet et de m'avoir donné de leur temps afin de me faire mieux comprendre quelque notions ce qui m'a aidé dans mon travail.*
- *Enfin j'adresse mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# Dédicace

*Je dédie ce travail à*



*Mon chère père , qui m'a donné les moyens d'aller aussi loin, qui m'a beaucoup aidé dans ma vie et durant mes études pour avoir créé le personne que je suis,. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*« J'espère mon père que tu es fier de moi »*



*A la mémoire de Ma mère Qui auraient voulu avoir la chance de me voir en tant que femme accomplie que je suis devenue maintenant, que dieu les accueille dans son vaste paradis.*



*je dédier ce travail aussi à mes sœurs et leur époux et mon frère et ma grande famille*

*A ma nièce et mon neveu : Mirane et Djawed*

*A mes très chère amies et collègues leur soutien et leur encouragement*



*La cerise sur le Gâteau C'est une personne Chère à mon coeur et qui a donné un sens à ma vie, mon homme « REDA » qui m'a beaucoup soutenue et ce depuis longtemps...Merci REDRECHE*

*Chaoua Selma*

## *Liste des figures*

	<i>Page</i>
<b>Figure 01</b> : <i>Myrtus communis</i> L. ....	17
<b>Figure 02</b> : Distribution de <i>Myrtus communis</i> L. ....	19
<b>Figure 03</b> : Partie utilisée aérienne de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. ....	32
<b>Figure 04</b> : <i>Rosmarinus officinalis</i> L. Djebel Antar, Béchar.....	32
<b>Figure 05</b> : Les différentes étapes de la fabrication du l’ben industriel .....	49
<b>Figure 06</b> : Carte géographique de wilaya de Tébessa .....	57
<b>Figure 07</b> : Carte géographique de région bougouse wilaya Taref .....	57
<b>Figure 08</b> : Diagramme de méthodologie d’essai de fabrication de l’ben aromatisé.....	61
<b>Figure 09</b> : incorporations des huiles essentielles dans le lait .....	64
<b>Figure 10</b> : Evolution de l’acidité en fonction du temps de l’ben 2 (aromatisé avec le myrte).....	74
<b>Figure 11</b> : Evolution de l’acidité en fonction du temps de l’ben 3 (aromatisé avec le romarin) .....	75
<b>Figure 12</b> : Profils sensoriels de 4 l’ben préparés à différentes concentrations de l’huile essentielle du Myrte .....	85
<b>Figure 13</b> : Profils sensoriels de 4 l’ben préparés à différentes concentrations de l’huile essentielle du Romarin .....	86

*Liste des tableaux*

*Page*

**Tableau 01** : Les normes utilisées dans la fabrication du l'ben .....48

**Tableau 02** : les normes microbiologiques du l'ben selon journal officiel (2017).....67

**Tableau 03** : Tableau récapitulatif de l'analyse microbiologique.....67

**Tableau 04** : pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait , BHA et BHT .....70

**Tableau 05** : pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'HE , BHA et BHT.....71

**Tableau 06** : pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'HE , BHA et BHT .....72

**Tableau 07** : pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction de la concentration de l'EH, BHA et BHT.....73

**Tableau 08** : Résultats d'analyse physico-chimique des trois échantillons de l'ben (acidités Dornic).....74

**Tableau 09** : Tableau récapitulatif des résultats microbiologiques .....77.

*Liste des photos*

*Page*

**Photo 01** : Hydrodistillateur de type Clevenger ..... 58

**Photo 02** : **A/** incorporation huiles dans l'ben **B/** l'ben élaborés dans les bouteilles.....63

**Photo 03**: Incubations dans Etuve Memmert réglée à 28°C .....64

**Photo 04** : L'ben conditionnées dans les flacons stérile.....65

**Photo 05** : Le virage de la coloration au rose correspondant à la zone  
d'équivalence .....66

**Photo 06** : Analyses bactériologique du l'ben aromatisé .....68

**Photo 07** : Analyses sensorielle du l'ben aromatisé .....68

**Photo 08** : Résultats du suivi du Salmonelles et Staphylocoques identique pour les trois  
types de l'ben .....80

**Photos 09** : Résultat de suivi des coliformes fécaux et totaux de l'ben 1(témoin) et l'ben  
2(aromatisé avec le myrte ) avec les différentes concentrations.....81-82

**Photo 10**: Résultats de suivi des coliformes fécaux et totaux de l'ben 1(témoin) et l'ben 3  
(aromatisé avec le romarin) avec les différentes concentrations.....83- 84

***Liste des abréviations***

**AE** : extraits aqueux

**BHT ET BHA** : action hydroxytoluène butylé et hydroxyanisole butylé

**CMB** : concentration minimale bactéricide

**CMF** : concentrations minimales fongicides

**CMI** : concentration minimale inhibitrice

**CML** : concentration minimale létale

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

**DCLA**: DESOXYCHOLATE LACTOSE AGAR

**DPPH**: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

**D°** : Degré Dornic

**FAO**: Food and Agriculture Organization

**FARP** : pouvoir réducteur du fer

**G.I.P. Lait** : Groupe industriel des productions laitières

**GIOLITTI**: GIOLITTI CANTONI STAPHYLOCOCCI BROTH

**H.E** : Huile essentielle

**HIV** : le virus de l'immunodéficience humaine

**IC** : Median Inhibition Concentration

**J.O.R. A** : Journal officiel république algérienne

**ME** : extraits méthanoliques

**NAOH** : Hydroxyde de sodium

**PH**: Potentiel d'Hydrogène.

**SFB s/c** : Bouillon Sélénite F BROTH au cystéine

# SOMMAIRE

## SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des photos

Liste des abréviations

Introduction .....13

Chapitre I : espèces étudiées.....16

1. Le myrte (*Myrtus communis*).....17

1.1 Description botanique .....17

1.2 Description systématique .....17

1.3 Répartition géographique.....17

1.3.1 - dans le monde .....18

1.3.2 -En Algérie .....18

1.4 Chémotype de l'espèce .....19

1.5 Utilisations traditionnelles et indications .....20

1.6 Rendement .....20

1.6.1 Composition chimique de l'huile essentielle du myrte .....21

1.6.2 Activités biologiques du myrte .....21

1.6.2.1 Activité antimicrobienne .....25

1.6.2.2 Activité antioxydant .....27

1.6.2.3	Activités pharmacologiques .....	29
1.6.2.4	Activité anti-ulcère .....	30
1.7	Intérêt agroalimentaire .....	31
<b>2.</b>	<b>Le romarin (<i>Rosmarinus officinalis L</i>) .....</b>	<b>31</b>
2.1	Description botanique .....	32
2.2	Description systématique .....	32
2.3	Répartition géographique .....	32
2.3.1	- dans le monde .....	32
2.3.2	- En Algérie .....	33
2.4	le chémotype de l'espèce .....	34
2.5	Utilisations traditionnelles et indications .....	34
2.6	Rendement .....	34
2.6.1	Composition chimique de l'huile essentielle du romarin .....	35
<b>2.6.2</b>	<b>Activités biologiques du romarin .....</b>	<b>35</b>
2.6.2.1	Activité antibactérienne .....	36
2.6.2.2	Activité antifongique .....	37
2.6.2.3	Activités antivirale .....	37
<b>2.6.2.4</b>	<b>Activité antioxydant .....</b>	<b>38</b>
<b>2.7</b>	<b>Intérêt agroalimentaire .....</b>	<b>39</b>
2.7.1	-aromate .....	39
2.7.2	conservation.....	40
<b>Chapitre II</b>	<b>: Produits laitier fermentés.....</b>	<b>43</b>
1.	Définition .....	44

2. Les types de lait fermenté.....	44
2.1 Le yaourt .....	44
2.2 Le lait-caillé ou raib .....	45
2.3 Le kéfir .....	45
2.4 Le koumis .....	45
2.5 Lait acidifié fermenté « l'ben » .....	45
2.5.1 Généralité .....	45
2.5.2 Définition .....	46
2.5.3 Procède de fabrication industrielle .....	46

### **Chapitre III : Activité Antioxydante .....50**

1. Définition d'un radical libre .....	51
2. Les antioxydants. ....	51
2.1 Les antioxydants primaires .....	51
2.2 Les antioxydants secondaires .....	52
3 Les polyphénols comme antioxydant.....	53
4 Balance oxydants / antioxydants et stress oxydants .....	53
5 Méthode de l'évaluation de l'activité antioxydante .....	54
5.1 Méthode de DPPH .....	54
5.2 La méthode ABTS .....	54

### **Chapitre IV : Matériel et Méthodes.....55**

1. Description de l'unité .....	56
2. Matérielle végétal.....	57
2.1 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	58
2.2 Paramètres de calcul de l'activité antioxydante .....	58
2.3 Evaluation, in vitro, de l'activité antioxydante .....	58

2.3.1	Réduction du radical ABTS .....	59
2.3.2	Méthode de réduction du radical libre DPPH .....	60
3.	Fabrication de l'ben aromatisé.....	60
3.1.	protocole expérimentale.....	60
3.2.	Plan expérimentale.....	62
4.	Analyse physicochimique.....	65
5.	Analyses bactériologique.....	66
6.	Analyses sensorielles .....	68
<b>Chapitre V : Résultats et discussions .....</b>		<b>69</b>
1.	Résultat d'extraction de l'huile essentielle .....	70
2.	Résultats d'activités antioxydantes.....	70
2.1	piégeage du radical libre DPPH.....	70
2.2	Activité piégeage du radical libre ABTS.....	72
3.	Résultats du suivi de l'acidité au cours du stockage du l'ben .....	73
4.	Evaluation des analyses bactériologiques .....	76
5.	Evaluation de l'analyse sensorielle .....	85

## **Conclusion générale**

### **Résumer**

### **Références bibliographiques**

### **Annex**

# **Introduction**

### Introduction

Le lait fermenté est préparé depuis longtemps dans les régions d'élevage où il constitue un mode de protection et de conservation du lait grâce à l'abaissement de son  $P_H$ . Cependant sa consommation a souvent été limitée en raison de sa grande instabilité. L'irrégularité de la production, par son caractère saisonnier, et la grande fragilité du produit ont incité les producteurs à rechercher des formes de conservation des éléments essentiels de ce lait. (Jeantet R., 2017).

C'est dans ce contexte que sont apparues, aujourd'hui, les traitements à base de plantes qui reviennent au premier plan, aussi bien dans le domaine de l'agroalimentaire que celui de la médecine ou la cosmétique, car les huiles essentielles possèdent des profils de composition chimique différents permettant de les utiliser comme agents naturels de conservation des aliments (Holley and Patel., 2005).

D'autre part, l'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût, comme additif pour aromatiser et colorer les aliments (Aprotosoie et al., 2010).

Les plantes aromatiques sources de ces huiles essentielles sont largement répandues en Algérie qui abrite un ensemble d'espèces importantes et variées et témoigne de ce fait d'une richesse floristique incontestable. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier deux plantes très prisées comme aromates, poussant à l'état spontané à savoir: le myrte (*Myrtus communis* L.) et le romarin (*Rosmarinus Officinalis* L.).

*Myrtus communis* L., communément appelé myrte, est un arbuste aromatique de la famille des myrtacées. En Algérie, il pousse de façon spontanée à travers l'Atlas tellien, les régions côtières, où il est connu sous les noms de «Rihan» ou «mersin», qui est très apprécié pour son fruit (Quézel et Santa, 1962). En médecine traditionnelle, le myrte est souvent consommé en infusion et décoction (LeFloc'h, 1983). Une infusion des feuilles et jeunes branches est stimulante, antiseptique, astringente et hypoglycémiant et a été considérée comme un remède de santé pour l'eczéma, le psoriasis, l'asthme, les troubles gastro-intestinaux, les infections urinaires et la diarrhée (Ziyyat et al., 1997). Certaines parties de la plante sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour améliorer le goût de la viande et des sauces (Chalchat et al., 1998), bien que les baies du myrte sont utilisées comme essences aromatiques dans la cuisine, leur utilisation la plus importante est la production de liqueurs (Mulas et al., 2002a)

Le romarin (*Rosmarinus Officinalis* L.) a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est une herbe aromatique de la famille des lamiacées, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques, emménagogues et anti-tumorales, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (**Atik bekkara et al.2007**). Aussi bien Les feuilles et extraits de romarin, ainsi que l'acide rosmarinique, l'acide carnosolique, le rosmanol et le carnosol sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire. En effet, ils servent d'antioxydant et de conservateur dans les charcuteries, les viandes, les produits alimentaires riches en graisses (**Arvy ., Gallouin, 2003; Wichtl, 2003; Anton et Lobstein , 2005**).

C'est dans ce sens que s'inscrit notre étude dont l'objectif consiste à mettre à profit de l'industrie agro-alimentaire les effets biologiques de l'huile essentielle des plantes suscitées , par son incorporation dans l'élaboration du l'ben

Le travail est présenté selon le plan suivant qui comprend,

- Une première partie relative à une étude bibliographique qui met l'accent sur les deux principaux volets ; Les plantes aromatiques utilisés et le produit laitier "l'ben ".
- Une deuxième partie exposant le matériel et les méthodes utilisées dans le cadre de ce travail qui consiste à l'incorporation des huiles essentielle dans l'ben , les analyses physico-chimique et bactériologique réalisées sur le produit fini , validée par une analyse sensorielle.
- Une troisième partie est dédiée aux résultats obtenus ainsi que leurs analyses et discussion.

# **Chapitre I : Espèces étudiées**

## 1. Le myrte

### 1.1. Description botanique

Le myrte est un arbuste buissonnant (moyennement dense) répandu sur tout le littoral méditerranéen, dans les bois et sur les hauteurs, les tiges sont recouvertes d'une écorce rousse, les feuilles sont persistantes (annuelles), coriaces et ovales. Les fleurs sont blanches et odorantes (spécifiques et retenus pour la reconnaissance de la plante), les fruits sont de forme ovoïdale, charnu, noir bleuâtre à maturité. On trouve le myrte dans toute l'Europe méridionale, dans le sud et l'ouest de l'Asie et en Afrique du nord (**Quezel et Santa, 1963; Barboni, 2006**).



**Figure 1 : *Myrtus communis* L. (Benchegra et Haddad, 2013)**

## 1.2 Description systématique

<b>Règne :</b>	Plantae
<b>Sous-règne :</b>	Eucaryotes
<b>Embranchement :</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement :</b>	Angiospermes
<b>Classe :</b>	Dicotylédones
<b>Ordre :</b>	Myrtales
<b>Famille :</b>	Myrtaceae
<b>Genre :</b>	Myrtus
<b>Espèce :</b>	<i>Myrtus Communis L.</i> (Quezel et Santa, 1963).
<b>Nom vernaculaire :</b>	Rayhan, Mersin

## 1.3 Répartition géographique

### 1.3.1 Dans le monde

Le myrte est un représentant typique de la flore méditerranéenne, qui pousse dans les forêts du pin et dans plusieurs régions situées à 600 m d'altitude. Cette plante aromatique, très odorante, est également présente dans l'Asie occidentale (Cevat et Musa, 2007), en Amérique du Sud et en Australie (Laurent, 1980). Le myrte pousse sauvagement dans les régions côtières, les collines internes et les zones forestières du Nord de la Tunisie (Pottier-Alapetite, 1979). En Turquie, le myrte se trouve dans les forêts de pins et des rives, en particulier dans les montagnes du Taurus, juste au-dessus de 500-600 m d'altitude (Ozek et al., 2000).

### 1.3.2 En Algérie

L'espèce *Myrtus communis* L., est présente au Tell, sur les pentes des collines et sur les zones côtières, parfois dans des zones reculées. L'espèce du désert, *Myrtus nivellei* L., se trouve couramment dans le Hoggar et le Tassili. Ses feuilles sont très appréciées par les Touaregs en tant que médicament à base de plantes (Quézel et Santa, 1963).



Figure 2: Distribution de *Myrtus communis* (Migliore, 2011).

### 1.4 chémotype de l'espèce

En plus des métabolites primaires, des minéraux et de la matière azotée, le myrte commun contient des métabolites secondaires, dont on peut citer les huiles essentielles et les composés phénoliques (Belaiche, 1979). Les HE du myrte commun sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes (Cevat et Musa, 2007). Les feuilles et les fruits sont riches en tannins, flavonoïdes et anthocyanidines (Fioretto et al., 2007). Dans des études antérieures, les huiles de myrte ont été séparées en deux groupes: le premier est caractérisé par une teneur élevée en myrtényl acétate et une faible teneur en  $\alpha$ -pinène; le deuxième groupe est caractérisé par l'absence de myrtényl acétate et des teneurs élevées en  $\alpha$ -pinène et 1,8-cinéole comme principaux constituants (Bradesi et al., 1997).

La composition chimique de deux échantillons d'huile de myrte prélevés dans différentes localités de l'Est Algérien a été étudiée par la spectroscopie GC-FID, GC-MS et C13 RMN. Les dérivés de monoterpène ont été les composés principaux:  $\alpha$ -pinène (50,8 et 33,6%), 1,8- cinéole (21,9 et 13,3%), linalool (2,7 et 14,8%) et l'acétate de linalyle (0.5 et 9.5%) (Bouzabata et al., 2015).

D'autre part, la composition de l'huile essentielle provenant de Corse, est constituée de 18 composés dont les majoritaires sont l' $\alpha$ - pinène (54,3%), le 1,8-cinéole (24,7%), le limonène (5,3%), l'acétate de géranyle (1,5%) et l' $\alpha$ -terpinéol (1,3%). En outre, la composition chimique s'est révélée relativement stable au cours du cycle végétatif de juin à novembre (**Bradesi et al, 1997**).

### 1.5 Utilisations traditionnelles et indications

Le Myrte commun est doté de vertus médicinales notamment utilisé comme antiseptique et désinfectant mais également pour ses propriétés balsamiques. Ce sont les qualités aromatiques et médicinales du myrte qui favorisent son utilisation dans les industries pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire. Dans les régions méditerranéennes, on fait fermenter et macérer les baies pour obtenir de la liqueur et du vin (**Barboni., 2006**).

Tout autour de la méditerranée ,en se basant sur différentes études ethnobotaniques, nous avons répertorié quelques utilisations traditionnelles du myrte.

En Algérie, les feuilles de *M. communis* sont traditionnellement utilisées dans le traitement des troubles respiratoires, la bronchite, la sinusite, l'otite, la diarrhée et les hémorroïdes (**Beloued, 1998**). Ses baies sont consommées comme fruit par la population locale pour le traitement d'ulcère gastrique alors que l'infusion des feuilles est utilisée comme boisson remède pour traiter les troubles digestifs notamment ceux du colon aussi pour le problème d'otite.

En Tunisie, les fruits du myrte sont utilisés dans le Nord du pays à l'état frais ou bien en décoction pour soulager l'ulcère et les douleurs gastriques; ils sont préconisés en gargarisme, pour traiter les gingivites. La décoction de fleurs est proposée pour arrêter les diarrhées aiguës, et comme traitement de la toux et des rhinites. L'huile fixe issue des fruits est utilisée pour atténuer les douleurs rhumatismales en application locale (**Boukef , 1986**)

Au Maroc, l'infusion et la décoction sont utilisées comme remède des affections respiratoires et des diarrhées. L'infusion est également préconisée pour traiter les conjonctivites. Le décocté sert à imbiber les compresses à appliquer sur les plaies, les abcès, les furoncles et les hémorroïdes saignants. Le décocté concentré est donné aux femmes dans les hémorragies de la délivrance. Le fruit est mâché contre les gingivites et les aphtes (**Bellakhdar , 1997**)

L'huile essentielle de *Myrtus communis* L. entre dans diverses spécialités pharmaceutiques telles que *Myrtine inhalante*® solution pour inhalation par fumigation ou Nazinette du docteur Gilbert, pommade nasale ( **Fidon , 1992** )

En Turquie, des chercheurs ont interrogé 512 personnes au total dans la région de Marmaris, l'huile essentielle de feuilles de myrte est utilisée par voie cutanée pour traiter les paralysies et les douleurs, et par voie orale pour traiter le diabète. Dans l'ouest de la Turquie, les feuilles sont utilisées en décoction pour traiter les affections de la prostate, mais dans la région de Manisa, les feuilles et les fruits sont utilisés en décoction pour traiter l'incontinence et les infections de la vessie .( **Bulut et al., Gurdal et al. et Sargin et al., 2013** )

Les baies du myrte ont une longue histoire d'application dans les industries pharmaceutiques, elles sont utilisées pour leurs bienfaits sur la santé humaine, comme antiseptique, astringent, carminative, tonique des cheveux, analgésique, cardiotonique, diurétique, anti-inflammatoire, stomachique, néphroprotectrice, antidote, hémostatique, tonique du cerveau et antidiabétique ( **Sumbul, 2011** ).

## 1.6 Le rendement en huiles essentielle

Durant les dernières années, plusieurs chercheurs se sont intéressés au myrte comme plante aromatique et médicinale et ont mené des travaux d'identification de ses composants ainsi que de prospections de leurs éventuelles activités biologiques. Globalement, ces travaux tournent autour de deux axes de recherches à savoir la détermination de la composition chimique des extraits obtenus et la mise en évidence de leurs activités biologiques.

### 1.6.1 Composition chimique de l'HE du myrte

Plusieurs travaux réalisés sur *Myrtus communis* L. montrent que la composition chimique des huiles essentielles extraites du myrte ainsi que le rendement varient selon l'origine de la plante, son mode d'existence (cultivé ou spontané), l'organe concerné et son stade végétatif. **Savikin-Fodulovic et al. (2000)**, rapportent une différence significative du rendement en HE extraite des feuilles du myrte de Belgrade pendant l'été pour les plantes cultivées in vitro (0.37%) et les plantes poussant à l'état naturel (0.76%) ; Ce rendement en HE du myrte cultivé est comparable à celui signalé par **Boelens et Jimenez (1991)**, pour les feuilles et les pousses du myrte cultivé d'Espagne (0.4%) qui reste inférieur à celui du myrte sauvage (0.5%). Le site de récolte ou localité ainsi que les conditions pédo-climatiques qui s'y reportent semblent

influencer le rendement en HE des feuilles de *M. communis* d'Iran récolté pendant le mois de juillet (période de floraison).

Plusieurs travaux de recherches ont porté sur le myrte de différentes régions de l'Iran. **Weyerstahl et Marschall (1994)** ont noté un rendement de 2.5% pour le myrte récolté du nord-ouest d'Iran, tandis que **Pezhmanmehr et al. (2010)**, ont rapporté une valeur de 1.8-2.61 % pour deux régions en Iran. D'autre part, **Ghasemi et al. (2010)**, ont enregistré un rendement de 0.47% pour la région de Manjil (Iran). Pour le mois de mai (période de préfloraison), le rendement en HE des feuilles est de 0.69 % pour le myrte commun récolté en province de Fars, au sud d'Iran (**Zomorodian et al., 2013**)

En outre, **Tuberoso et al. (2006)** ont signalé la variation du rendement en HE des feuilles de *M. communis* ( $0.52 \pm 0.03\%$ ) collecté de 11 localités en Sardaigne (Italie) entre les mois de novembre et décembre (stade de maturation industrielle). De même, **Asllani (2000)** observe des différences de rendement en fonction du lieu de récolte quel que soit l'organe collecté du myrte poussant en Albanie : feuilles 0.48-0.8% (juin-septembre), fleurs 0.14-0.25%, feuilles et fleurs 0.2- 0.35% (juin) et fruits mûrs 0.1-0.15% (octobre). De plus, **Bouzabata et al. (2013a, 2013b et 2015)**, qui ont mené leurs recherches sur les populations endémiques algériennes de myrte (*M. communis* et *M. nivellei*) appuient aussi cette variation du rendement en fonction du site de récolte et de l'espèce étudiée (0.5 - 2.0% pour *M. nivellei*, 0.4 - 1% pour *M. communis*).

Mais, il apparaît que le rendement est aussi influencé par le stade physiologique de la plante, **Pezhmanmehr et al. (2010)**, signalent pour la région de Lorestan en Iran un rendement en HE des feuilles de 2.61% pendant la période de floraison contre 1.3% pendant le stade de maturation des fruits. Les rendements signalés par **Chalchat et al. (2010)** et **Özek et al.(2000)**, pour le myrte collecté de sites différents en Turquie confirment aussi cette variabilité (0.62 % et 1.10%) pour les mois d'août et mai, respectivement.

Le fruit de *M. communis* renferme beaucoup moins d'HE que les autres parties de la plante (feuilles, fleurs et tiges); la feuille étant l'organe le plus riche (**Aboutabl et al., 2011; Tuberoso et al., 2006; Barboni et al., 2010 et Aidi Wannas et al., 2007**). De même pour le myrte algérien de la région de Miliana récolté pendant le mois de novembre (période de fructification complète), les rendements sont de l'ordre de 0.3% et 0.1% pour les feuilles et les fruits, respectivement (**Brada et al., 2012**). Cette variabilité entre organes est d'autant plus affirmée durant tout le cycle végétatif de la plante dans les travaux de **Jerkovic et al. (2002)**

(feuilles 0.19-0.37%, fleurs 0.21- 0.26% et fruits 0.03-0.13%) montrant que le rendement des feuilles reste supérieur et atteint son maximum pendant la période de floraison.

Plusieurs auteurs relèvent l'influence du stade physiologique (**Bradesi et al., 1997 ; Chryssavgi et al., 2008 ; Pereira et al., 2009 ; Aidi Wannès et al., 2010 et 2011 et Aidi Wannès et Marzouk, 2012**). Toutefois, **Viuda-Martos et al. (2011)** n'observent pas de différence significative entre les feuilles (2.0%) et les fruits (1.8% ) pour le myrte du Maroc durant la période végétative.

Vu la diversité pédoclimatique des pays et génétique des espèces , il est par conséquent évident d'apercevoir une telle variabilité qui d'ailleurs est fortement présente dans l'analyse de la composition chimiques des HE extraites. Dans des études antérieures, les huiles de myrte ont été séparées en deux groupes: le premier est caractérisé par une teneur élevée en myrtényl acétate et une faible teneur en  $\alpha$ -pinène; le deuxième groupe est caractérisé par l'absence de myrtényl acétate et des teneurs élevées en  $\alpha$ -pinène et 1,8-cinéole comme principaux constituants (**Bradesi et al., 1997**).

Le myrtényl acétate est l'un des principaux composants qui distingue les myrtes de différentes origines. Sa présence a été signalée dans les huiles essentielles de myrte de certains pays tels que le Portugal (**Pereira et al., 2009**), la Tunisie (**Messaoud et al., 2011**), le Maroc (**Viuda-Martos et al., 2011**), l'Espagne (**Boelens et Jimenez, 1991**), la Croatie (**Jerkovic et al., 2002**), l'Albanie (**Asllani, 2000**), la Bulgarie (**Savikin-Fodulovic et al., 2000**), ex-Yougoslavie (**Chalchat et al., 1998**) et la Turquie (**Özek et al., 2000**). L'absence de ce dernier a été rapporté dans les pays comme l'Iran (**Weyerstahl et Marschall, 1994**), la Corse (**Bradesi et al., 1997**), la Grèce (**Koukos et al. (2001)**), l'Italie (**Flamini et al. 2004 ; Tuberoso et al., 2006**), la Turquie (**Senatore et al., 2006**), la France (**Barboni et al. (2010)**), l'Egypte (**Aboutabl et al., 2011**), l'Arabie Saoudite (**Khan et al., 2014**) et l'Algérie (**Brada et al., 2012 ; Bouzabata et al. 2013a, 2013b et 2015**).

Dans les huiles essentielles des feuilles de myrte algérien, quelle que soit la méthode d'extraction utilisée, l' $\alpha$ -pinène et le 1,8-cinéole sont les principaux composants (**Berka-Zougali et al., 2010 et 2012 ; Brada et al., 2012 ; Bouzabata et al. 2013a, 2013b et 2014**), semblable au myrte tunisien (**Messaoud et al., 2011; Aidi Wannès et al., 2009**) ainsi qu'au myrte français (**Chalchat et al., 1998**).

Pour le myrte d'Espagne (**Boelens et Jimenez, 1991**) et celui de la Grèce (**Chryssavgi et al., 2008**), les principaux composants sont le myrtényl acétate et le 1,8-cinéole. Cependant, les composants majoritaires des HE des feuilles du myrte frais en provenance du Maroc, de l'ex-Yougoslavie et du Liban sont l' $\alpha$ -pinène, le 1,8-cinéole et le limonène (**Chalchat et al., 1998**). Il a également été rapporté (**Owlia et al., 2009; Ashnagar et al., 2009 et Moradi et al., 2012**) que les quatre principaux composants qui caractérisent les HE du myrte iranien sont l' $\alpha$ -pinène, le limonène, le 1,8-cinéole et le linalool. Ces résultats corroborent avec ceux obtenus par **Yadegarinia et al. (2006)**.

**Ghasemi et al. (2011)** ont mené une autre étude comparative réalisée sur le myrte iranien en utilisant l'hydrodistillation (HD) et l'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique ou au fluide supercritique (SFE). Sept composants majoritaires ont été identifiés dans HE-HD :  $\alpha$ -pinène, 1,8-cinéole, limonène, linalool,  $\alpha$ -terpinolène, linalyl acétate et  $\alpha$ -terpényl acétate. Les principaux composés de l'HE extraite des feuilles de myrte albanais (**Asllani, 2000**) ont été : 1,8-cinéole,  $\alpha$ -pinène, limonène, myrtényl acétate et linalool. Dans le cas du myrte turque (**Özek et al., 2000**), trois principaux composés ont été trouvés: 1,8-cinéole, linalool et myrtényl acétate.

Quant au myrte issu du Portugal, **Pereira et al. (2009)**, ont cité quatre principaux composés dont la domination est étroitement liée au cycle végétatif. Il s'agit du myrtényl acétate,  $\alpha$ -pinène, limonène et 1,8-cinéole. Récemment, dans le cas du myrte égyptien, **Aboutabl et al. (2011)** ont rapporté que les principaux composés de l'HE étaient le 1,8 cinéole (27,19%) et l' $\alpha$ -pinène (25,53%). La composition de l'HE est enrichie par la présence de  $\beta$ -linalool (11,75%), p-menth-1-énol (6,95%), myrtényl acétate (4,2%), linalyl acétate (3,39%), néryl acétate (2,94%), limonène (1,6%) et  $\alpha$ - terpényl acétate (1,4%).

De même, le lieu de récolte ou la localité semble influencer les proportions des composants majoritaires des HE obtenues des feuilles de myrte italien récolté de deux localités différentes (**Flamini et al., 2004**). Les auteurs ont rapporté que le type de sol joue un rôle important dans la variabilité de la composition de l'HE car l' $\alpha$ -pinène et le limonène ont été identifiés en plus grandes quantités dans les plantes qui poussent sur des sols calcaires alors que le linalool, le linalyl acétate et le trans-myrtanol acétate ont été détectés à des pourcentages plus élevés sur les sols siliceux. Le trans-myrtanol acétate étant identifié pour la première fois comme un constituant naturel de l'HE de *M. communis*.

Même si la composition de l'HE de myrte est déterminée essentiellement par des facteurs génétiques, elle varie aussi avec les saisons. **Bradesi et al. (1997)**, **Jerkovic et al. (2002)**, **Chryssavgi et al. (2008)**, **Pereira et al. (2009)** et **Aidi Wannas et al. (2009, 2010 et 2011)** signalent des variations saisonnières significatives dans les proportions des principaux constituants des HE de myrte qui pourrait être dû à la dynamique génétique (**Bouzabata et al., 2013b**) et des facteurs environnementaux tels que la géographie, la température, les précipitations, la durée du jour, nutriments, etc. Ces facteurs influencent probablement les voies de biosynthèse de la plante et par conséquent la proportion relative des principaux composés.

## 1.6.2 Activités biologiques du myrte

### 1.6.2.1. Activité antimicrobienne

Un grand nombre d'études a été fait sur l'activité antimicrobienne du myrte . La plupart portaient sur l'exploration du potentiel antibactérien et celui antifongique de l'huile essentielle extraite des parties aériennes de la plante principalement les feuilles et peu de travaux étaient réalisés sur les différents extraits

**Akin et al. (2010)** et **Rosato et al. (2007)** ont montré dans leurs travaux l'activité inhibitrice de l'HE de *M. communis* contre huit bactéries pathogènes Gram positives et Gram négatives (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus durans*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*). L'efficacité de *M. communis* a été confirmée par la méthode de dilution en milieu gélosé. **Owlia et al. (2009 ; 2010)** rapportent aussi un effet inhibiteur appréciable de l'HE sur *P. aeruginosa*, bactérie pathogène réputée pour sa résistance, avec une CMI (concentration minimale inhibitrice) et une CMB (concentration minimale bactéricide) de 64µg/mL et une réduction significative des facteurs de virulence testés (production d'alginate, formation de biofilm, mobilité et adhérence) aux 1/2 et 1/4 de cette concentration effective.

Selon **Deriu et al. (2007)**, l'HE du myrte a été aussi efficace contre plusieurs souches cliniques d' *Helicobacter pylori*, agent pathogène responsable d'ulcères gastriques, avec des concentrations allant de 0.075 à 2.5% (v/v) et celle extraite lors de la floraison fut très active contre *Mycobacterium tuberculosis* et modérément active contre *Mycobacterium paratuberculosis* (agents tuberculeux multirésistants) avec des CMI respectives de 0.17 et >2% (v/v) (**Zanetti et al., 2010**). Par contre, une CMI >1000 (µg/mL) et une dose de 10000

µg/mL d'HE des feuilles de myrte iranien est nécessaire pour assurer 39.77% d'inhibition de la croissance de *Streptococcus iniae* (**Pirbalouti et al., 2011**).

**Zomorodian et al. (2013)** avaient testé l'HE extraite des feuilles de myrte avant la floraison sur une large gamme de bactéries pathogènes (Gram + et -), levures et champignons et montré son efficacité à inhiber 90% de la croissance de ces germes en présence des CMI90 allant de 0.5 à 64 µl/mL. Les CMI signalées pour les bactéries à Gram positif étaient plus faibles que celles notées pour les bactéries à Gram négatif.

En outre, HE avait deux activités inhibitrice et bactéricide contre toutes les bactéries à Gram négatif examinées avec l'égalité des CMI et CMB. Toutes les espèces de *Candida* testées, incriminées dans plusieurs infections nosocomiales, étaient aussi inhibées à des concentrations de l'ordre de 0.65-2 µl/mL. Résultats concordants à ceux trouvés par **Yadegarinia et al. (2006)** qui rapportent une CMI de 2 µl/mL pour *Candida albicans*. Les CMF (concentrations minimales fongicides) étaient aussi comparatives avec 3.85 et 4 µl/mL, respectivement.

D'autre part, **Ben Hsouna et al. (2014)** confirment ces observations avec une activité inhibitrice élevée de l'HE contre les bactéries Gram positives par rapport aux bactéries Gram-négatives (CMI allant de 0.078 à 2.5 mg/mL) et un effet remarquable contre plusieurs souches fongiques. L'étude du mode d'action de l'HE par la détermination de la courbe de la cinétique bactérienne (the time-kill curve) de *Listeria monocytogenes* (isolat alimentaire) a montré un effet bactéricide drastique après 5 min en appliquant une concentration de 312 mg/mL. Ces résultats sont la preuve que *M. communis* L. possède des propriétés antimicrobiennes et par conséquent est une source potentielle pour des ingrédients actifs pour les industries alimentaires et pharmaceutiques.

Dans l'étude récente de **Bouzabata et al. (2015)**, les HE extraites des parties feuilles et fleurs du myrte algérien récolté durant la période de floraison ont montré divers degrés d'inhibition contre tous les champignons testés (levures: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida guilliermondii* et *Candida krusei*; champignons: *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus* et dermatophytes: *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* et *Trichophyton verrucosum*).

Pour la plupart des dermatophytes testés, y compris *M. canis*, *T. rubrum* et *E. floccosum*, la CMI était équivalente à la CML ou concentration minimale létale (0,64 mg/mL), ce qui indique un effet fongicide pour l'HE de myrte. Cette dernière était moins efficace contre les souches de *Candida sp.* et *Aspergillus sp.* avec des valeurs de CMI de 1,25 mg/mL et 5mg/mL, respectivement.

Cette activité antifongique était semblable pour les deux échantillons d'HE étudiés en dépit de leurs compositions chimiques différentes. Ces résultats justifient l'utilisation traditionnelle de l'HE de myrte comme désinfectant et antiseptique (Sumbul et al., 2011).

### 1.6.2.2. Activité antioxydante

Les plantes aromatiques et médicinales sont une source d'antioxydants naturels grâce à leurs métabolites secondaires comme les polyphénols et les huiles essentielles. Émanant de ce constat, *Myrtus communis L.* a fait l'objet de plusieurs études portant sur l'exploration de son potentiel antioxydant. Une faible activité antioxydante de l'HE du myrte d'Iran a été observée par **Yadegarinia et al. (2006)** en terme de pouvoir de piégeage du radical libre - DPPH- (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) à raison de 3.53% seulement.

Par contre, cette activité a été estimée de 42.98% par le test d'inhibition de la peroxydation lipidique ou le test du  $\beta$ -carotène-acide linoléique.. Pour l'HE extraite des feuilles du myrte marocain, l'activité antioxydante a été aussi faible même pour le test du  $\beta$ -carotène-acide linoléique (8% à la dose maximale de 10 $\mu$ l/mL).

Les HE des feuilles de myrte de Monténégro (les Balkans) ont été évaluées par **Mimica-Dukiš et al. (2010)** et leur pouvoir de réduire 50% le radical DPPH stable à la couleur jaune à des IC50 de 5,99 mg/mL et de 6,24 mg/mL, pour les deux sites de récolte respectifs. Ces valeurs sont nettement supérieures à celles notées pour les antioxydants standards (BHT et BHA) qui étaient de 8.62 et 3.09  $\mu$ g/mL, respectivement. Les composants majoritaires de ces HE étaient l' $\alpha$ -pinène (14.7%–35.9%), le linalool (10.1%-10.9%), le 1,8-cinéole (23.9-25.7) et le myrtényl acétate (5,4%-21,6%) or le test dot-blot a permis de mettre en évidence le pouvoir considérable du 1,8-cinéole et du méthyl eugénol pour le piégeage du radical DPPH.

Ce dernier était présent à raison de 0.8% à 1.0% justifiant leur activité antioxydante comparable. Les deux composés ont déjà été signalés comme puissants piègeurs de radicaux libres, en particulier le méthyl eugénol, très probablement en raison de sa fraction phénylpropanoïde (**Božin et al., 2006**).

Les effets antioxydants de l'HE extraite des feuilles du myrte de la Turquie sur les huiles comestibles du noyau de grenade, du pavot, du raisin et celle du lin ont été déterminés par **Inan et al. (2012)**. L'addition d'une dose de 0.05% a permis de prévenir l'augmentation des valeurs de la viscosité, du peroxyde et de l'acidité libre de toutes les huiles testées et conservées en contact d'oxygène à 60°C.

Ces résultats ont appuyé l'utilisation de l'HE comme conservateur alimentaire notamment des huiles comestibles afin de stabiliser l'oxydation de ces dernières durant la conservation. De même, l'HE extraite des boutons floraux du myrte tunisien a montré une forte activité antioxydante. D'après ces auteurs, cette forte activité peut être attribuée à la présence d'une quantité élevée du 1,8-cinéole (15.3%) dans l'HE.

Les activités antioxydantes de l'HE et de l'extrait méthanolique des parties aériennes du myrte tunisien (*M. communis var. italica L.*) collectées pendant la période de floraison ont été évaluées par **Aidi wannes et al. (2010)** à l'aide des tests de piégeage des radicaux libres du DPPH, du blanchissement du  $\beta$ -carotène et pouvoirs chélatant et réducteur du fer. Dans tous les tests, les extraits méthanoliques des différentes parties de myrte ont montré une meilleure activité antioxydante que les HE. L'extrait méthanolique des fleurs affichait aussi une activité antioxydante intéressante comparativement à celui des tiges avec des IC50 de 3 $\mu$ g/mL, 78 $\mu$ g/mL, 50 $\mu$ g/mL et 46mg/mL pour les tests de DPPH, du blanchissement du carotène, du pouvoir réducteur et du pouvoir chélatant du fer, respectivement. Plusieurs chercheurs ont conféré des activités biologiques intéressantes aux tanins comme l'activité antioxydante, le pouvoir anti-génotoxique (**Hayder et al., 2004**), l'activité antivirale (**Pousset et al., 1993**) et l'effet antihypertenseur (**Yokozawa et al., 1994**).

D'autre part, l'étude saisonnière de la composition chimique de l'HE et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des feuilles du myrte de Zakyntos (île grecque) avant et pendant la floraison ainsi qu'en fructification menée par **Chryssavgi et al. (2008)** a mis en évidence une meilleure activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles en pleine floraison correspondante à un contenu maximal en phénols totaux de 373mg (EAG)/g

de plante.. A l'issue de leurs résultats, ces chercheurs ont confirmé l'utilisation potentielle de *M. communis* L. en technologie alimentaire et en médecine

Des résultats comparables ont été rapportés par **Mothana et al. (2011)** en confirmant la forte activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles et fruits de myrte du Yémen évaluée par le test du DPPH avec 94,5% d'activité contre 23,7% observé pour l'extrait aqueux chaud à la dose de 1000 µg/mL alors que celle de l'acide ascorbique était de 96.3%.

De plus, **Messaoud et Boussaid (2011)** ont collecté les fruits mûrs bleu-violacé et blancs de *Myrtus communis* var. *italica* de la Tunisie en pleine fructification et évalué les activités antioxydantes de leurs extraits méthanoliques par le test du DPPH et la méthode de FRAP (pouvoir réducteur du fer). Qui ont montré une différence dans la capacité antioxydante entre les deux formes de myrte observée dans cette étude qui pourrait être attribuée selon ces auteurs à leurs différents contenus phénoliques.

### 1.6.2.3. Activités pharmacologiques

En plus des activités mentionnées précédemment, il y a aussi d'autres nombreuses activités biologiques importantes de *M. communis* qui peuvent être sous-classifiées comme des effets biochimiques c'est-à-dire pharmacologiques, y compris les effets anti-inflammatoire, anti-diabétique, anti-mutagénique, pro-apoptotique dans les cellules cancéreuses, anti-atherogène, antiischémique hépatique, aussi bien qu'insecticide, molluscicide et antiprotozoaire.

Le terme "activité pharmacologique" se réfère aux interactions biochimiques d'extraits de myrte, des huiles ou ses composés dans la circulation sanguine, comme des interactions avec différentes hormones et enzymes. Les activités pharmacologiques sont d'habitude examinées in vivo sur des organismes modèles différents considérant la biodisponibilité des huiles essentielles. Le terme "biodisponibilité" représente une des propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques principales des médicaments et il est utilisé pour décrire la fraction d'une dose administrée d'un médicament (ou drogue) inchangée qui atteint la circulation générale et peut être utilisée pour une fonction spécifique et/ou stockée.

La biodisponibilité est mesurée par analyse pharmacocinétique de prélèvements de sang pris de la circulation systémique et reflète la fraction du médicament atteignant la circulation

systémique. Si un composé est mal absorbé ou largement métabolisé au préalable, seule une fraction limitée de la dose administrée va atteindre la circulation systémique. Ainsi, afin de parvenir à une biodisponibilité élevée, le composé doit avoir une absorption suffisamment élevée et une faible clairance rénale (mesure de la capacité d'excrétion rénale ou d'autres organes) (Djilani et Dicko, 2012).

#### 1.6.2.4. Activité anti-ulcère

Des recherches ont été menées afin d'évaluer l'effet protecteur des fruits séchés de *M. communis* L. dans des modèles d'ulcères gastriques induits par l'éthanol, l'indométacine et la ligature pylorique chez les rats Wistar. Deux doses d'extraits aqueux de *M. communis* (AE1 et AE2) aux doses de 105 et 175 mg/kg, respectivement et extraits méthanoliques (ME1 et ME2) aux doses de 93 et 154 mg/kg, respectivement ont été administrés par voie orale aux animaux avant l'exposition à des ulcérogènes.

Les paramètres pris pour évaluer l'activité anti-ulcère étaient l'indice d'ulcère, le volume du suc gastrique, le pH gastrique, l'acidité totale, le mucus de la paroi gastrique et les études histopathologiques. L'administration orale de AE1 et AE2 a réduit de façon significative l'indice de l'ulcère dans tous les modèles d'ulcères. La faible dose d'extrait aqueux et la forte dose d'extrait méthanolique de *M. communis* ont exhibé un effet plus significatif par rapport à l'oméprazole (médicament standard) dans le modèle de l'ulcère induit par l'éthanol. Les deux doses d'extraits aqueux et méthanoliques ont également réduit le volume du suc gastrique, l'acidité totale et ont augmenté le pH gastrique et le contenu du mucus de la paroi gastrique dans tous les modèles d'ulcères utilisés dans cette étude. Les examens histopathologiques des tissus gastriques de rats traités avec les extraits aqueux et méthanoliques dans le modèle d'ulcère induit par l'indométacine ont montré un effet protecteur significatif contre l'ulcère pour les deux doses (Sumbul et al., 2010).

## 1.7. Intérêts agro-alimentaires

*Myrtus communis L.* a été utilisé depuis l'antiquité aussi bien comme une épice dans les préparations alimentaires que pour des fins médicinales. Le myrte, malgré son odeur agréable, ne trouve pas d'application à grande échelle comme épice. Le goût est très intense, très désagréable et fortement amer et son application culinaire est limitée à la région d'origine comme l'Italie (**Gortzi et al., 2008**). En effet, en Italie, notamment en Sardaigne, les baies et les feuilles sont utilisées pour produire des liqueurs bien connues (**Messaoud et al., 2012**). Toutefois, certaines parties de la plante sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour améliorer le goût de la viande et des sauces (**Chalchat et al., 1998**)

Les baies du myrte sont utilisées comme essences aromatiques dans la cuisine, mais leur utilisation la plus importante est la production de liqueurs (**Mulas et al., 2002a**). Ces fruits sont aussi utilisés pour faire d'excellentes confitures, gelées comme c'est le cas en Sicile (Italie) et Corse (France) (**Couplan, 2009 ; Sarl, 2007**). Au cours de ces dernières décennies, les systèmes intensifs de la culture du myrte ont été établis dans diverses régions du monde et particulièrement en Sardaigne (Italie), afin d'assurer à la fois un approvisionnement constant de matériel de bons fruits pour l'industrie de liqueur et la préservation des populations de myrte naturelles (**Mulas et al., 2002b**)

Les valeurs nutritionnelles des baies du myrte ont été déterminées par Aydýn et Özcan (2007). Les constituants sont: huile brute (2.37%), huile essentielle (0.01%), protéines brutes (4.17%), fibres brutes (17.41%), énergie brute (11.21 Kcal/g), sucres réducteurs (8.64%), tannins (76.11 mg/199 g), cendres (0.725%), extrait soluble dans l'eau (52.94%). Dans tout le bassin méditerranéen, les fruits du myrte, frais ou séchés, servent de condiment, en particulier avec la volaille et le gibier. A Chypre et en Turquie, ils sont communément vendus sur les marchés (**Couplan, 2009**). Le fruit avant la découverte du poivre, servait à assaisonner certains aliments. Les romains l'employaient pour aromatiser l'huile d'olive. Les grecs modernes mangent encore ces baies lorsqu'elles sont mûres. Les oiseaux en sont très avides (**Couverchel, 1839**)

## 2. Le romarin

### 2.1 Description botanique

le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est un sous arbrisseau toujours vert touffu et ligneux, atteignant 2m de haut en culture, dont l'écorce s'écaille sur les branches les plus âgées portant des tiges ligneuses feuillées. La floraison commence dès le mois de Février, parfois en Avril-Mai. Certaines variétés peuvent fleurir une deuxième fois en début d'automne. Les fleurs sont le plus souvent de couleur bleu pale maculées intérieurement de violet, se présentent en grappes assez semblables à des épis (**Lacoste, 2006**).



**Figure 3 : partie utilisée aérienne  
de *Rosmarinus officinalis*  
(Aouadhi, 2010)**



**Figure 4: *Rosmarinus officinalis*  
L.Djebel  
Antar, Béchar  
(Makhloufi, 2009)**

## 2.2 Descriptions systématique

<b>Embranchement:</b>	Spermaphytes
<b>Classe:</b>	Dicotylédones
<b>Ordre :</b>	Lamiales (labiales)
<b>Famille :</b>	Lamiaceae
<b>Genre :</b>	Romarinus
<b>Espèce:</b>	<i>Romarinus officinalis L.</i>

(Quezel et Santa, 1963).

## 2.3 Répartition géographique

### 2.3.1 Dans le monde

Le romarin spontané qui pousse sur le bassin méditerranéen, et le sud-ouest de l'Asie, est souvent cultivé dans les jardins comme clôture, très exigeant en lumière et en chaleur, et résistant à la sécheresse. Le romarin est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne (Boullard, 2001)

### 2.3.2 En Algérie

En Algérie, le Romarin est l'une des sept espèces végétales excédant 50.000 hectares sur le territoire national (O.P.U. NT. WS. Benston). Plante indigène poussant spontanément dans toute l'Algérie (Quezel et Santa, 1963). Les appellations régionales en Algérie les plus connues sont dans la région Est "Eklil", à l'Ouest "Helhal" et au centre du pays "Yazir".

## 2.4 le chémotype de l'espèce

Le romarin est constitué essentiellement de :

✓ **Composés phénoliques** : Acides phénols (acide rosmarinique, acide cafeïque), diterpènes phénoliques (acide carnosique, le carnosol, rosmaridiphénols) et flavonoïdes (lutéoline, ériocitrine, diosmine).

✓ **Huiles essentielles** : Appelées encore huiles volatiles. Elles sont obtenues à partir de différentes parties de plantes. La composition de l'huile essentielle peut varier selon la phase de développement et l'origine de la plante. Les principales huiles essentielles de romarin sont: le camphre 21%, Camphène 20%,  $\beta$ -pinène 7,7%, Limonène 4,7%, 1,8-cinéol 7,8%.

✓ **Acides organiques** : Acide citrique, acide glycolique et acide glycérique.

✓ **Minéraux** : Ca: 7791,80 mg/kg ; Mg : 1634,55 mg/kg ; P : 1474,60 mg/kg ; Fe: 330,16 mg/kg; Al : 146,48mg/kg. (**Derwich et al., 2011**).

## 2.5 Utilisations traditionnelles et indications :

Le Romarin est souvent cultivé pour son huile essentielle. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique. Il est considéré utile pour contrôler l'érosion du sol (**Heinrich et al., 2006**).

L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (**Arnold et al., 1997**). Le romarin est utilisé comme arbuste ornementale et pour les haies bien exposées à la lumière. En usage traditionnel ses feuilles sont utilisées en tisanes ainsi que sur les blessures et les plaies (**Delaveau , 1982**).

Depuis l'Antiquité, le Romarin est utilisé pour stimuler et améliorer la mémoire. Encore à l'heure actuelle, les étudiants grecs le boivent en tisane ( **Schneider , 2002**) ou en font brûler comme encens dans leur chambre en période de révision et d'examens. Le Romarin est reconnu pour ses propriétés tonique, revigorante, stimulante qui se reflètent dans sa saveur aromatique très particulière ainsi que dans son odeur ( **Larousse, 2013**)

Des rameaux de Romarin ont été découverts par Prosper Alpin, au XVI<sup>ème</sup> siècle, dans un tombeau de l'Egypte ancienne ( **Fournier, 20010** ). En effet, une branche était déposée dans les sépultures. Le Romarin était utilisé par les Egyptiens en fumigation comme encens lors des cérémonies religieuses et pour l'embaumement. Il était également utilisé pour un usage médical en décoction pour des lavements contre la diarrhée (**Schneider ,2002**)

Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), boisés et fougères aromatiques, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques (**Bousbia, 2011**) . Grâce à la capacité de stimulation des terminaisons nerveuses cutanées, le romarin est employé comme tonique dans des bains moussants, et comme liniment pour muscles fatigués à une dose de 1 à 2%.Il a des propriétés dermo-purifiantes qui lui permette l'utilisation dans la préparation de déodorants. En lotion et shampooing, à une dose de 0.5 à 1%, l'extrait de romarin stimule le cuir chevelu ( **Martini, 2011**)

## 2.6 Rendement en huiles essentielles

### 2.6.1 Les compositions chimiques des huiles essentielles

L'huile essentielle est constituée de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle. Ces molécules sont différentes selon la nature de la plante et le sol dans lequel la plante va croître (**Angioni et al., 2004 ; Tucker et Maciarello, 1986**), le temps de récolte (**Celiktas et al., 2007**), la partie de la plante (**Flamini et al., 2002 ; Parry, 1921**), la préparation de l'échantillon (**McCormick et al., 2006**), ainsi que la méthode d'extraction. Les molécules sont formées à partir de divers atomes puisés par la plante via le sol et via sa synthèse organique. L'ensemble constitue des réactions chimiques donnant naissance aux molécules aromatiques, constituant l'huile essentielle (**Boutekedjiret et al., 2004**).

Plusieurs chercheurs se sont intéressés à la caractérisation de l'huile essentielle du romarin, au Liban (**Diab et al., 2002**) en Inde (**Jaganmohan et al., 1997**) et au Japon par (**Masatoshi et Hiroaki, 1997**). De plus, **Elamrani et al. (2000)**, ont établi la chimiotaxonomie de l'huile essentielle du romarin marocain provenant de différents régions, ainsi que l'influence du stade végétatif et l'espèce sur la composition de l'essence.

En outre, le romarin récolté dans le Portugal (Serrano et al., 2002), et caractérisé par sa forte teneur en camphre, ce qui est similaire aux huiles d'Argentine et du Brésil (Porte et al., 2000 ; Larran et al., 2001). Benhabiles et Aït Ammar (2001), qui ont exploré les essences de deux espèces de romarin provenant d'une région de l'Est Algérien, ont noté deux chémotypes différents : *Rosmarinus eriocalyx* à type eucalyptol ou 1,8-Cinéole (42,8 %) et *Rosmarinus officinalis* à type  $\beta$ -Caryophyllène (13,9 %), camphre (12,1 %) et bornéol (10,1 %).

## 2.6.2 Activistes biologiques du romarin

### 2.6.2.1 Activité antibactérienne

Les HE sont connues pour leur activité antibactérienne. Dans ce contexte, de nombreuses études ont été réalisées sur l'efficacité de l'HE Romarin,

D'après l'étude menée sur la composition chimique et les propriétés antibactériennes et antioxydantes des HE de *Rosmarinus officinalis* dont les composés majoritaires sont : alpha-pinène (14,9%), 1,8 cinéole (7,43%), linalol (14,9%), a montré que l'HE du romarin a une activité considérable vis à vis de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*. Les HE du romarin pourraient être utilisées comme agents potentiels dans la conservation des aliments ( Gachkar et al., 2007).

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du romarin, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransferase ont suggéré que les extraits du romarin peuvent empêcher la lésion de la carie et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires (Tsai et al, 2007). Afin de chercher de nouveaux antibiotiques et des agents antimicrobiens, une autre étude a été élaborée pour examiner les effets antimicrobiens des extraits des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologiques. L'extrait obtenu par le dioxyde de carbone(CO<sub>2</sub>) supercritique du romarin, a présenté un large spectre antimicrobien (Weckesser et al. 2007).

D'autre part, Les HE de *Rosmarinus officinalis* ont été analysées et testées pour leur activité antimicrobienne sur 13 souches de bactéries et 6 de champignons. Les composés majoritaires de l'HE de Romarin testée sont : limonène (21,7%), camphre (21,6%), alphapinène (13,5%), linalol (10,8%). ( **Bozin et al. 2007** )

En Turquie des chercheurs qui ont testé l'activité antimicrobienne de l'HE et des extraits méthanoliques de *Rosmarinus officinalis* provenant de trois régions différentes de Turquie, à quatre intervalles de temps différents de l'année, ont noté que les concentrations en composants majoritaires varient en fonction de ces paramètres. Les HE de *Rosmarinus officinalis* testées sur plusieurs bactéries ont montré des activités antibactériennes modérées, les microorganismes les plus sensibles aux HE des trois localisations étant : *E. faecalis* et *P. vulgaris*. Quelle que soit l'origine, l'activité la plus importante a été observée avec les HE provenant des échantillons collectés en mars. Les extraits méthanoliques ont montré une activité antibactérienne faible (notamment sur *S. aureus*) par rapport aux HE. ( **Yesil Celiktas et al. ( 2007)** ,

### 2.6.2.2 Activité antifongique

Les aflatoxines entraînent des dommages sur le foie chez l'Homme et chez la plupart des espèces animales expérimentales testées , Des études ont suggéré que les composés aromatiques des épices peuvent contrôler la production des aflatoxines dans les denrées alimentaires.

Pour cela la biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du romarin à une concentration de 450 ppm. Selon les résultats indiqués, le potentiel de cette huile essentielle en tant que préservatif naturel contre *Aspergillus parasiticus* ( **Rasooli et al.,2008** ). En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, **Sacchetti et al. (2005)** ont évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du romarin, les résultats ont montré que de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures.

### 2.6.2.3 Activité antivirale

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du romarin a indiqué qu'il ya une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à la concentration très basses. Cependant, le carnosol a montré une activité (anti-HIV) à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique (**Aruoma et al.,1996**).

### 2.6.2.4 Activité antioxydante

Le romarin est utilisé traditionnellement pour conserver les aliments, en raison de ses propriétés anti-oxydantes, le romarin est largement accepté en tant qu'épices dont l'activité antioxydante est la plus importante (**Wang et al .,2008**). Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du romarin comme antioxydant pour conserver les produits à base de viande (**Balentine et al.,2006; Fernandez-Lopez et al.,2005; Sebranek et al.,2005**).

**Erkan et al.** (2008), ont étudié les activités antioxydantes de trois composés purs : l'acide carnosique, l'acide rosmarinique et le sésamol, ainsi que deux extraits de plantes : extrait de romarin et HE de Nigelle cultivée (*Nigella sativa*). L'extrait de romarin a une plus grande activité antioxydante que l'HE de Nigelle cultivée, ceci peut s'expliquer par un contenu phénolique plus élevé.

D'autre part, des recherches ont montré que l'efficacité antioxydante *in vitro* des extraits du romarin est due à leur capacité à agir comme des agents réducteurs et des piègeurs de radicaux libres, en tant que désactivateurs de formation de singulet d'O<sub>2</sub>, et à donner des formes complexes avec des ions de métaux pro-oxydants. De plus, une utilisation correcte des extraits de plantes est sûre et peut générer des effets bénéfiques ( **Aherne et al , 2007**)

Toutefois l'activité antioxydante *in vitro* de l'HE de *R. officinalis* L. a été comparée à celle de trois de ses principaux composants (1,8-cinéole,  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène). L'analyse de l'HE a donné lieu à l'identification de 19 composés, ce qui représente 97,97% de l'HE, les principaux constituants de l'huile sont le 1,8-cinéole (27,23%), l' $\alpha$ -pinène (19,43%), le camphre (14,26%), le camphène (11,52%) et le  $\beta$ -pinène (6,71%).

En général, l'HE de *R. officinalis* a montré une plus grande activité que ses composants pris isolément. Les activités antioxydantes de tous les échantillons testés étaient principalement

doses-dépendantes. c'est pourquoi l'intérêt de l'HE du romarin comme conservateur pour une application par l'industrie agroalimentaire grâce à sa capacité à neutraliser les radicaux libres est fortement suggérée (**Wang et al 2008**).

## 2.7 Intérêt agroalimentaire

### 2.7.1 Aromate

Le romarin, grâce à ses propriétés apéritives et digestives, est aussi utilisé en tant qu'épice. En effet, son parfum résineux rappelant le pin, sa saveur un peu amère mais très aromatique sont très appréciés. S'il est utilisé en grande quantité, son goût puissant peut dissimuler celui des autres ingrédients (**Faucon ,2012**) (**Grégoire , 2010**) .

Il est typique des cuisines méditerranéennes (souvent accompagné du thym et du laurier comme dans la ratatouille), il trouve aussi des adeptes aux États-Unis, au Mexique, dans les Balkans et en Angleterre (**Anton et Lobstein ,2005**)( **Faucon ,2012**) . Le plat national du Mexique est le "rosméritas" confectionné à partir de farine de maïs et de crabe parfumé au romarin (**Faucon ,2012**)

Le romarin frais et séché ont une saveur semblable, toutefois ce dernier ayant une texture plus dure, résiste à la cuisson (même longue).

Afin d'éviter un arrière goût amer, les jeunes feuilles seront ajoutées de préférence une dizaine de minutes avant la fin de cuisson ; ou en début de cuisson. Elles peuvent être utilisées entières dans un œuf à épices ou sac de mousseline à retirer avant le service ; finement ciselées ou broyées au mortier. Les feuilles se détachant facilement dans un plat, il est peu recommandé d'utiliser une branche entière (sèche ou fraîche). Cependant, une branche peut être frottée sur la viande avant de la faire griller ou déposée sur les braises. La branche effeuillée peut être utilisée comme brochettes pour faire des grillades (**Anton et Lobstein ,2005**); (**Grégoire , 2010**) .

Les feuilles sèches ou fraîches, entières ou moulues, parfument les poissons gras (sardine, maquereau), les courts bouillons de poissons, les viandes (mouton, agneau, porc, gibier, canard, volaille, veau et lapin) et le foie (de volaille, pâté de foie) ; peuvent être saupoudrées sur les grillades. Elles relèvent les légumes (courgette, aubergine, tomate, haricot vert, chou fleur, brocoli, asperge, rutabaga, épinard, pois, champignon), les féculents (pommes de terre, pain), les pizzas, les sauces (pour poissons, à base de tomates), les soupes (pomme de terre) et

les salades (de fromages). Les feuilles de Romarin accompagnent d'autres arômes forts (Ail, vin) ; les omelettes ; les marinades (pour rôtis, grillades, poissons) ; le fromage de brebis et les pâtes. Elles peuvent également être ajoutées aux ragoûts, saucisses, farces ; pour parfumer les légumes confits au vinaigre ; pour aromatiser l'huile et le vinaigre (**Anton et Lobstein ,2005**) (**Grégoire , 2010**) ; (**Arvy et Gallouin, 2003**) .

Le romarin se mélange très bien à d'autres épices : l'ail, le carvi, l'estragon, le laurier, la marjolaine, l'oignon, le persil, la sauge et le thym. Il est le constituant de préparations à base d'épices et de mélange d'épices : beurre aromatisé aux herbes, bouquet garni, épices pour gibier, épices pour grillades, épices pour pizza, épices pour poissons, épices pour viandes, fines herbes, herbes à mettre sur le grill, herbes de Provence, mélange café de Paris, poivre de Paris, sel aux herbes et vinaigre aromatisé aux herbes. Les fleurs de romarin étant très parfumées, elles peuvent servir de garniture (cristallisées ou non dans du sucre) ou accompagner crudités et salades (**Anton et Lobstein ,2005**) .

D'après le Règlement Arômes Européen, l'HE de romarin est permise bien que restreinte dans plusieurs aliments en raison de principes actifs biologiques potentiellement dangereux (méthylchavicol et méthyl eugénol). L'HE à 1,8-cinéole est utilisé dans les sauces, viandes et potages ; comme arôme (**Fernandez, et al 2012**) .

### 2.7.2 Conservateur

Les feuilles et extraits de romarin (y compris ceux dépourvus d'HE) ainsi que l'acide rosmarinique, l'acide carnosolique, le rosmanol et le carnosol sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire. En effet, ils servent d'antioxydant et de conservateur dans les charcuteries, les viandes, les produits alimentaires riches en graisses (**Anton et Lobstein , 2005**) (**Wichtl et al ,2003**) ; (**Arvy et Gallouin, 2003**) .

L'extrait de romarin (E)392 est un antioxydant inscrit au codex alimentarius, il est autorisé depuis 2010 dans l'Union Européenne dans des huiles de poisson, des matières grasses et huiles attribuées à la friture (hormis l'huile d'olive), des graisses de volaille, bœuf, porc et mouton, des HV (excepté les huiles d'olive et les huiles vierges), du saindoux, certaines matières grasses, des produits de boulangerie fine, des sauces, etc... Le règlement d'exécution No 344/2011 autorise l'extrait de Romarin dans l'alimentation biologique ; il peut être produit de manière biologique (**Anonyme 1**) .

Les extraits végétaux de romarin présentent un pouvoir antioxydant important et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques, ces propriétés sont dues aux acides polyphénoliques (rosmarinique, caféique) (**Zoubeidi, 2004**)

La présence des acides polyphénoliques (rosmarinique, caféique) donne aux extraits végétaux de romarin un pouvoir antioxydant important, ceci rend le romarin un conservateur des aliments et des huiles lipidiques (**Albert, et al, 1996**); (**F. Piozzi, 1996**).

Plusieurs chercheurs ont confirmé que le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants, il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments (**Ponce et al., 2008 ; Georgantelis et al., 2007 ; Zivanovic et al., 2005 Shylaja et Peter, 2004 ; Dorman et al., 2003 ; Sotelo-Felix et al., 2002 ; Takenaka et al., 1997 ; Richheimer et al., 1996 ; Haraguchi et al., 1995 ; Aruoma et al., 1992, 1996 ; Houlihan et al., 1985 ; Inatani et al., 1983**).

Il a été reporté que le romarin contient l'huile essentielle, et des diterpènes phénoliques tels que l'acide carnosique, le carnosol, le rosmanol, l'epirosmanol, l'isorosmanol, le méthylcarnosate et l'acide rosmarinique, qui peuvent être quatre fois plus efficaces que l'action antioxydante de l'hydroxyanisole butylé (BHA) et égaux à l'action de l'hydroxytoluène butylé (BHT) (**Zheng et Wang, 2001 ; Cuvelier et al., 1996 ; Houlihan et al., 1985 ; Nakatani et Inatani, 1984**).

En outre, le BHA et le BHT ont été suspectés d'être cancérigènes et responsables des lésions hépatiques (**Wang et al., 2000**). De ce fait, il y a eu une tendance de sensibilisation des consommateurs et des organismes de santé pour limiter et éviter l'utilisation des additifs de synthèse dans les produits alimentaires. Ces faits montrent la nécessité pour la recherche de mettre au point l'utilisation d'additifs naturels afin d'étendre la durée de conservation et/ou d'améliorer la sécurité alimentaire.

En ce qui concerne la prévention de l'oxydation des lipides et la croissance microbienne, une telle solution pourrait être l'utilisation d'antioxydants naturels, puisque beaucoup d'entre eux présentent aussi une activité antimicrobienne

Le romarin est utilisé dans l'industrie alimentaire comme alternative aux additifs chimiques pour la préparation de la volaille, de l'agneau, du veau, des fruits de mer, des saucisses et salades ainsi que des soupes et chapelures. Le romarin est également utilisé comme épice dans

les croustilles, les chips et des frites françaises (**Moino et al., 2008 ; Georgantelis et al., 2007 ; Janz et al., 2007 ; O'Grady et al., 2006 ; Sebranek et al., 2005 ; Djenane et al., 2002 ; Sanchez-Escalante et al., 2001**).

# **Chapitre II :**

# **Produits laitiers**

# **fermentés**

## 1 Définition

Les laits fermentés sont préparés depuis une époque très lointaine en Asie centrale, dans les pays méditerranéens et dans la plupart des régions d'élevage où ils constituent un mode de protection et de conservation du lait grâce à l'abaissement du pH en même temps ce sont des produits laitiers appréciés pour leurs saveurs (**FAO, 1995**).

Ils sont obtenus par la multiplication de bactéries lactiques dans une préparation de lait. L'acide lactique produit à partir de lactose contenu dans le lait permet la coagulation du lait et confère une saveur acide aux produits. Les caractéristiques propres des différents laits fermentés sont dues à la variation particulière de certains facteurs, tels que la composition du lait, la température d'incubation ou les ferments utilisés (**Luquet et Corrieu, 2005**).

Au cours de la fermentation la composition du lait subit un certain nombre de modification, qui en font un produit de meilleure valeur nutritionnelle que le lait ; à titre d'exemple, l'amélioration de l'absorption du lactose par l'action des bactéries lactiques, et qui permettent une meilleure assimilation du lactose chez les personnes déficientes en lactose.

Les lactobacilles modifieraient les enzymes bactériennes à l'origine des carcinogènes dans le tube digestif ; inhibant ainsi la formation de ces substances précancéreuses (**Michel et al, 2000**).

## 2 Les types de lait fermenté

Il existe un grand nombre de laits fermentés qui diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation. Certains sont voisins, mais présentés sous des noms variés. Beaucoup d'entre eux contiennent l'une ou les deux bactéries spécifiques du yaourt associées à d'autres micro-organismes :

### 2.1 Le yaourt

Le yaourt est un produit laitier coagulé, obtenu par la fermentation lactique grâce au développement des seules bactéries lactique thermophiles spécifiques dites *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*ensemencés simultanément. Ces deux micro-organismes doivent se retrouver vivants et abondants dans le produit final, qui au moment de la vente au consommateur, ne doit pas contenir moins de 0,7g d'acide lactique pour 100g de lait (**J.O.R.A, 1993**).

## 2.2 Le lait-caillé ou raïb

C'est un lait entier ou écrémé, pasteurisé, fermenté, obtenu par la fermentation naturelle après ensemencement par des levains lactiques. La coagulation est obtenue par l'activité des ferments lactiques, avec ou sans addition de substances coagulantes (présure, pepsine) pendant une durée de 20 heures à 24 heures à 37°C (**Guerzani, 2003**).

## 2.3 Le kéfir

C'est un lait fermenté alcoolisé, avec un goût fortement acide et de légers arômes de levures et d'alcool. Il est le fruit d'une fermentation lactique par lactobacilles, streptocoques et d'une levure qui transforme le lactose en alcool. On le retrouve en Asie du sud-ouest, en Europe de l'est (**Vignola, 2002**).

## 2.4 Le koumiss

C'est aussi un lait fermenté alcoolisé auquel on ajoute 2,5% de sucre et est souvent consommé sous forme de boisson. On utilise généralement comme ferment un mélange symbiotique de *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* et de levures du genre *Saccharomyces* (**Vignola, 2002**).

## 2.5 Lait fermenté acidifié « l'ben »

### 2.5.1 Généralité

Le lait acidifié, appelé selon les différentes zones géographiques : Laban ; L'ben ; Ayrân, est un produit de grande consommation au long de saison chaude. La plupart des laits fermentés « l'ben » et avant d'être introduits en bactériothérapie moderne, ont été connus et utilisés comme des aliments depuis longtemps. L'origine de ce produit remonte à des temps immémoriaux, probablement à l'époque où l'homme a commencé à domestiquer les espèces laitières et à utiliser leurs laits, sa fermentation lactique lui donne son arôme naturel et sa saveur inimitable (**Ouadghiri, 2009**).

Le l'ben est préparé à partir de lait cru provenant de toutes les espèces animales, principalement des brebis, des chèvres et des vaches ou à partir du lait en poudre (lait écrémé ou lait en poudre partiellement écrémé). C'est un produit liquide de saveur piquante et agréable qui contient un peu d'alcool et d'acide lactique dus à la transformation des éléments de base. La méthode de fabrication diffère selon les lieux, mais la base reste la même (**Boudier, 1990**).

### 2.5.2 Définition du l'ben industriel

Ce produit est fabriqué industriellement depuis 1970, il est obtenu à partir du lait cru ou reconstitué. Dans les pays où la production laitière est faible, on utilise fréquemment du lait reconstitué. Ce produit contient plus de matière grasse, de protéines et d'extrait sec total que le l'ben traditionnel, mais il est moins acide (**Anonyme 2, 1993**).

### 2.5.3 Le procédé de fabrication du l'ben

Les étapes de la fabrication de lait fermenté sont représentées sur la figure 5 et sont citées ci-dessous :

#### 1. La réception du lait cru

Lors de l'arrivée des citernes du lait cru à l'unité laitière et avant la réception, un échantillon est prélevé pour estimer sa qualité physico-chimique. Le lait cru peut être utilisé directement pour fabriquer le l'ben à base 100% lait cru ou recombinaison avec le lait en poudre (entier et écrémé) pour fabriquer le l'ben reconstitué, le choix de ces deux variétés de l'ben dépend de la quantité disponible en lait cru (**Jora, 1993**).

#### 2. La préparation du lait

Cette opération comprend les étapes suivantes:

##### a) La reconstitution

les opérations de reconstitution ou de recombinaison sont à distinguer selon qu'il s'agit d'addition d'eau à une seule ou plusieurs matières premières déshydratées, poudre de lait entier avec poudre de lait écrémé et pour obtenir un lait de matière grasse désirée. La température recommandée est de 35/45°C. A cette température, la poudre possède une meilleure mouillabilité et dissolvabilité (**Avezard et Lablee, 1990**).

##### b) Le préchauffage

Le lait est préchauffé à une température (63-65°C/15S) inférieure à la température de pasteurisation, pour inhiber provisoirement la croissance des bactéries (**Gosta, 1995**).

##### c) Le dégazage

Cette opération a pour but de permettre une meilleure homogénéisation et d'éliminer une partie des odeurs caractéristiques des laits reconstitués. Le dégazage se fait généralement à 75°C avec une chute de température de l'ordre de 8 à 10°C (**Avezard et Lablee, 1990**).

**d) La standardisation**

La standardisation peut se faire en cuve ou en continu. Il s'agit de mélanger du lait écrémé, du lait entier ou encore de la crème dans les proportions calculées pour en arriver au pourcentage de matière grasse désiré dans le mélange (**Vignola, 2002**).

**e) L'homogénéisation**

Elle présente l'avantage de stabiliser l'émulsion de la matière grasse uniformément dispersée dans tout le liquide, en plus, elle donne au lait une saveur caractéristique et une texture plus douce et plus onctueuse pour la même teneur en matière grasse dans le lait, en plus réduire sa sensibilité à l'oxydation de la matière grasse (**Vignola, 2002**). L'homogénéisation se fait entre 60° et 70°C et à une pression de 100-250 bars (**Gosta, 1995**).

**f) La pasteurisation**

Elle se fait dans un échangeur à plaque à une température 90°C/30S (**Cheftel et cheftel, 1976**).

**g) Le refroidissement**

Le lait ainsi pasteurisé est ramené à la température d'ensemencement des bactéries lactiques mésophiles, entre 22-26°C.

**i. Le développement de la fermentation**

Appelée généralement phase d'acidification, elle comporte trois étapes :

**a) L'ensemencement**

C'est l'inoculation des souches caractéristiques du produit, il doit se faire à un taux suffisamment élevé, pour obtenir une acidification désirée (**Boudier, 1990**).

L'ensemencement se fait par des bactéries lactiques homofermentaires (*Lactobacilles, Streptococcus lactis et Streptococcus cremoris*), les bactéries lactiques permettent la transformation de plus de 90% du lactose en acide lactique, alors que dans le cas des bactéries lactiques hétérofermentaires (*Leuconostoc*) environ 50% du lactose est converti en acide lactique, le reste donne des produits divers comme le dioxyde de carbone et l'éthanol (**Goursaud, 1985**).

**b) L'incubation**

La phase d'incubation correspond au développement de l'acidité dans le produit, elle dépend de deux facteurs, la température et la durée. On choisira une température proche de la température de développement des micro-organismes d'ensemencement (**Boudier, 1990**).

**Tableau 01:** Les normes utilisées dans la fabrication du l'ben (Stoutz, 1986).

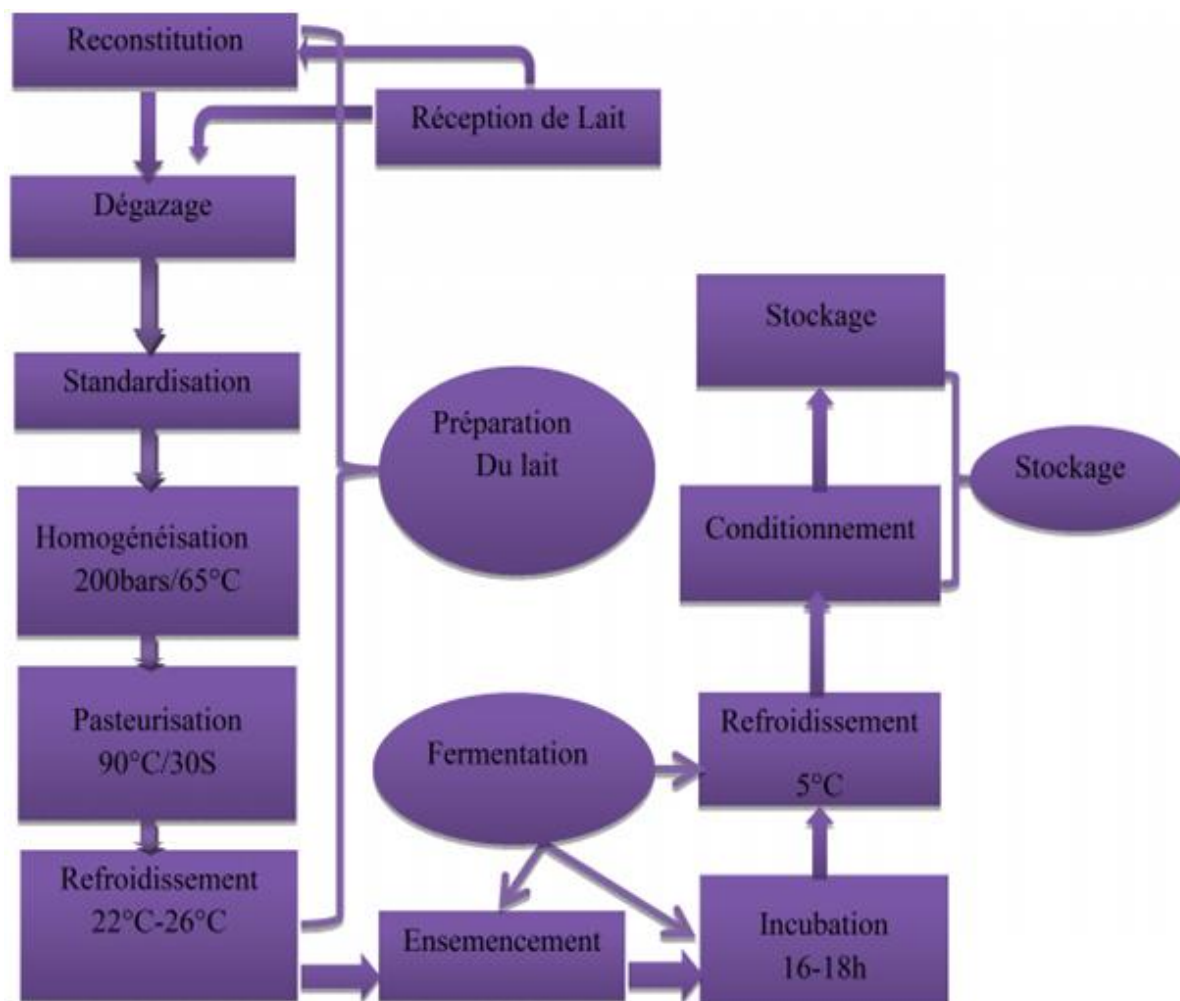
Temps (h)	Température (°C)	Quantité de levains (%g/100ml)
18	20-23	3
12	23-25	2
6-8	32	2
3-4	42-44	2

**c) Le refroidissement ou l'arrêt de la fermentation**

Lorsque l'acidité atteint un certain seuil (75-85°D), la fermentation est arrêtée par la diminution de la température jusqu'à 5°C (Boudier, 1990).

**ii. Le conditionnement et stockage**

Le lait refroidi passe à la conditionneuse ou se fait le remplissage des bouteilles en plastique à un volume d'un litre et qui seront ensuite transférées dans une chambre froide à 6°C. La figure suivante montre les différentes étapes de la technologie du l'ben.



**Figure 5** : Les différentes étapes de la fabrication du l'ben industriel (Avezard et Lablee, 1990).

**Chapitre III :**  
**Activité**  
**Antioxydant**

## 1. Définition d'un radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié (électrons célibataires). Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta et Baenziger, 2003**).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxyde  $ROO\bullet$ , radical alkoxyde  $RO\bullet$ ), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Novelli, 1997**).

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé 'espèces réactives de l'oxygène' (ROS). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde  $O_2\bullet$ , radical hydroxyde  $OH\bullet$ , monoxyde d'azote  $NO\bullet$ , mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet  $^1O_2$ , peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , peroxyde d'azote  $NOO\bullet$  (**Favier, 2003**).

## 2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente des radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (**Favier, 2003**).

## 2.1. Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficace, cette ligne de défense est constituée :

- Superoxyde dismutase (SOD) : elle accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène
- La catalase : présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques.
- Elle agit en synergie avec le SOD puisque son rôle est accéléré la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire .
- Glutathion peroxydase et réductase : elles sont localisées dans le cytosol et la mitochondrie. La glutathion peroxydase joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène et autre hydro peroxyde résultant de l'oxydation du cholestérol et des acides gras . La glutathion peroxydase quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH (glutathion réduit) à partir GSSG ( glutathion oxyde ) tous on utilisant le NADPH comme cofacteur ( **Meziti, 2009** ) ,

## 2.2. Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour voir fonctionner un nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Dacosta, 2003).

Plusieurs substances pouvant agir autant d'antioxydant in vivo ont été proposées. Elles incluent : La vitamine E, l'acide ascorbique, le B-carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques...etc. (Kohen et Nyska, 2002).

### Mécanisme d'actions des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

### 3. Les polyphénols comme antioxydant

L'activité antioxydant des polyphénols est principalement due à leur redox qui peut jouer un rôle important dans l'absorption et la neutralisation des radicaux libres, par attraction d'oxygènes, ou la décomposition des peroxydes (Karou et al, 2005)

Le fort caractère réducteur de composés phénoliques et à la base de la capacité à piéger les espèces réactives d'oxygène et de leur capacité à s'oxyder (Dangles, 2006)

L'auto oxydation des polyphénols, génératrice des ERO est une source potentielle de toxicité (Dangles, 2006)

### 4. Balance oxydants / antioxydants et stress oxydants

Les ROS ont des rôles physiologiques très importants en agissant à faible concentration sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voix de signalisation (Favier, 2003)

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance oxydant/antioxydant est en équilibre.

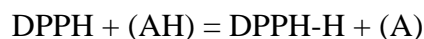
Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, etc.) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apport des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatique), un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelée stress oxydative (Sohal et al, 2002)

Lors d'un stress oxydant, les ERO non-détoxiqué par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation des macromolécules directement à leurs contacts, contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, et l'ADN.

## 5. Méthode de l'évaluation de l'activité antioxydante

### 5.1.Méthode de DPPH

Le 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazil (DPPH) est un radical stable, il présente en solution une absorption caractéristique à 517nm qui lui confirme la couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de protons H\*. On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Où (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène ou radical DPPH (violet) pour le transformer en molécules DPPH-H (**Brand Williams et al., 1995**). L'activité anti-radicalaire est mesurée par la dégradation de DPPH qui est un radical synthétique présentant une intense coloration violette. La couche électronique de ce radical est saturée en contact d'antioxydant. Ce qui explique la disparition de sa couleur (**Menichini et al., 2011**).

### 5.2.La méthode ABTS

Cette méthode est basée sur la capacité des composé phénolique à piéger le radicalisation ABTS + sel d'ammonium 2,2-azobise-3-éthyle-benzo-thiazoline-6-sulfonique). Le radical ABTS+ est fermé par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS. En Présence de TROLOX (d'antioxydant donneur en HO) le radical d'azote concentré piège NHO conduisant à certain ABTS ce qui entraine la décoloration de la solution bleue (**Djeridan et al., 2006**).

Il existe plus méthodes pour mesurer l'activité antioxydante, comme :

- La méthode FRAP( capacité réductrice férique d'antioxydant) ( **Amarowicz et al., 2004**)
- La méthode de DMPD (Balayage de radical cation N,N-demethyl-phenylenediamine) ( **Li et al.,1994**)
- Les méthodes ORAC et TOSC (capacité du piégeage du radical total) (**Wayneret et al. , 1985**)
- La méthode d'hémolyse( **Charfi, 1995**).

# **Chapitre IV : Matériel et Méthodes**

## I. Matériel et Méthodes

Le petit-lait ou L'ben est un produit laitier pasteurisé ou non, acidulé par les altérations physico-chimiques, bactériologiques et sensorielles. Mais une variation de la température et de la durée de stockage du produit, sont des facteurs susceptibles d'engendrer des modifications des propriétés organoleptiques et physico-chimiques de ce produit (**Luquet, 1994**). C'est pourquoi, il est primordial d'assurer sa conservation dans les meilleures conditions possibles.

Dans cette étude, on a opté pour l'incorporation du l'ben à base des huiles essentielles de deux plantes médicinales le myrte (*Myrtus Communis* L.) et le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.). Le choix a porté sur ces deux espèces parce que ces plantes sont très utilisées en médecine traditionnelle par les populations locales grâce à leurs propriétés thérapeutiques notamment dans le cas des troubles gastro-intestinaux et comme antioxydants, conservateurs et arômes.

### 1. Description de l'unité

Notre travail expérimental a été effectué au sein du laboratoire de contrôle de qualité au niveau de la laiterie NUMIDIA, dans le but est la caractérisation physicochimique et bactériologique du produit obtenu. La laiterie Numidia appartient au groupe industriel pour la production du lait (G.I.P. Lait), cette unité a commencé sa production en Mars 1980, sous une ancienne appellation ONALAIT ; filialisation en 1997, elle est située à la zone industrielle CHAAB ERS-SAS wilaya de Constantine.

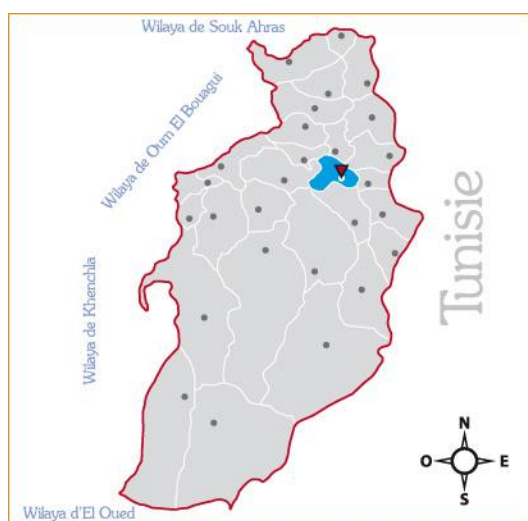
## 2. Matériel végétal

Notre étude est portée sur une espèce végétale de la famille des lamiacées (labiées) qui est *Rosmarinus officinalis*

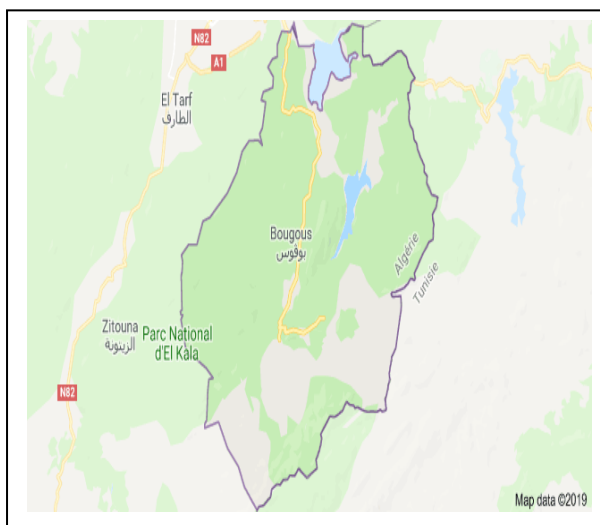
Les huiles essentielles des feuilles des deux espèces *Rosmarinus officinalis* L. et *Myrtus Communis* L. ont été obtenues par hydordistillation dans un appareil de type Clevenger, au Laboratoire de Phytochimie, à la Faculté S.N.V, à l'Université Chadli BENDJEDID, d'El Tarf.

La partie aérienne de *Rosmarinus officinalis a* été récolté au mois de février 2019. La récolte du romarin est réalisée dans la région de Bir Aater , de la wilaya du Tébessa . Cette récolte est faite manuellement. La partie aérienne de *Myrtus communis a* été récolté au mois de février 2019, provenant de la région de Bougous , de la wilaya d'El-Tarf .

Après la récolte, la partie aérienne de la plante a été lavée puis séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 7 jours. La partie aérienne a été d'abord coupée en petits morceaux dans le but d'accélérer leur séchage.



**Figure 6 : Carte géographique de wilaya de Tébessa (Anonyme 3)**



**Figure 7 : une carte de la région de Bougous , de la wilaya d'El-Tarf (Anonyme 4)**

**Protocole :**

L'HE est extraite par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger.

L'extraction a duré 2h30 en plaçant 100g de la partie aérienne de la plante sèche dans un ballon avec de l'eau distillé, puis chauffée, les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles se séparent de l'eau par différence de densité. L'huile essentielle est stockée à 4C jusqu'aux tests antimicrobiens.



**Photo 1 : hydrodistillateur de type Clevenger**

**2.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante :**

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agent antioxydant (huile essentielle). Selon la bibliographie. La méthode la plus utilisée est celle de la réduction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) qui est radical organique stable, coloré et centré sur l'azote.

Le maximum de son absorption se situe vers 515nm dans le méthanol et l'éthanol (Portes. 2008). Les antioxydants donneurs d'atomes H (RH) sont capables de réduire DPPH. Ce qui conduit au 1,1-dyhpenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H) et au radical R\*. Le DPPH a une couleur violette ou rouge pourpre mais cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux.

## 2.2. Paramètres de calcul de l'activité antioxydante :

### Pourcentage d'inhibition

L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage I(%) est calculée la manière suivante :

$$I(\%) = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}}$$

Avec

**A blanc** : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai)

**A échantillon** : Absorbance du composé d'essai.

### Paramètre IC<sub>50</sub> :

Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical initiale de 50%.

## 2.3. Evaluation, in vitro, de l'activité antioxydante

### 2.3.1. Réduction du radical ABTS

#### Mode opératoire

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium  $K_2S_2O_8$  : les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou  $H_2O$  ) à  $0.700 \pm 0,020$  à 734 nm avant l'usage.

(ABTS+) → 19,2mg (7mM) ABTS + 5ml  $H_2O$  + 3,3mg (2,45mM) ( $K_2S_2O_8$ ) + 5ml  $H_2O$  + attendre 16 heures à l'abri de la lumière.

$$M(\text{ABTS}) = 548,68\text{g/mol}$$

$$M(K_2S_2O_8) = 270,32\text{g/mol}$$

La mesure de l'absorbance de l'ABTS avec le spectrophotomètre comme suit :

$$1\text{ml (ABTS)} + 50\mu\text{l } H_2O \text{ ----- } 1,41\text{nm}$$

1ml (ABTS) + 75 $\mu$ l  $H_2O$  ----- 0,98nm

1ml (ABTS) + 85 $\mu$ l  $H_2O$  ----- 0,87nm

1ml (ABTS) + 90 $\mu$ l  $H_2O$  ----- 0,83nm

1ml (ABTS) + 100 $\mu$ l  $H_2O$  ----- 0,73nm

A = 0,70 – 0,75 nm de l'ABTS+

Procédure:

160  $\mu$ l (ABTS+) + 40  $\mu$ l (extrait) + attendre 10mn + lecture à 734nm

L'activité ABTS+ a été exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

ABTS+ scavenging effect (%) = (A control – A sample / A Control) \* 100

### 2.3.2.Méthode de réduction du radical libre DPPH

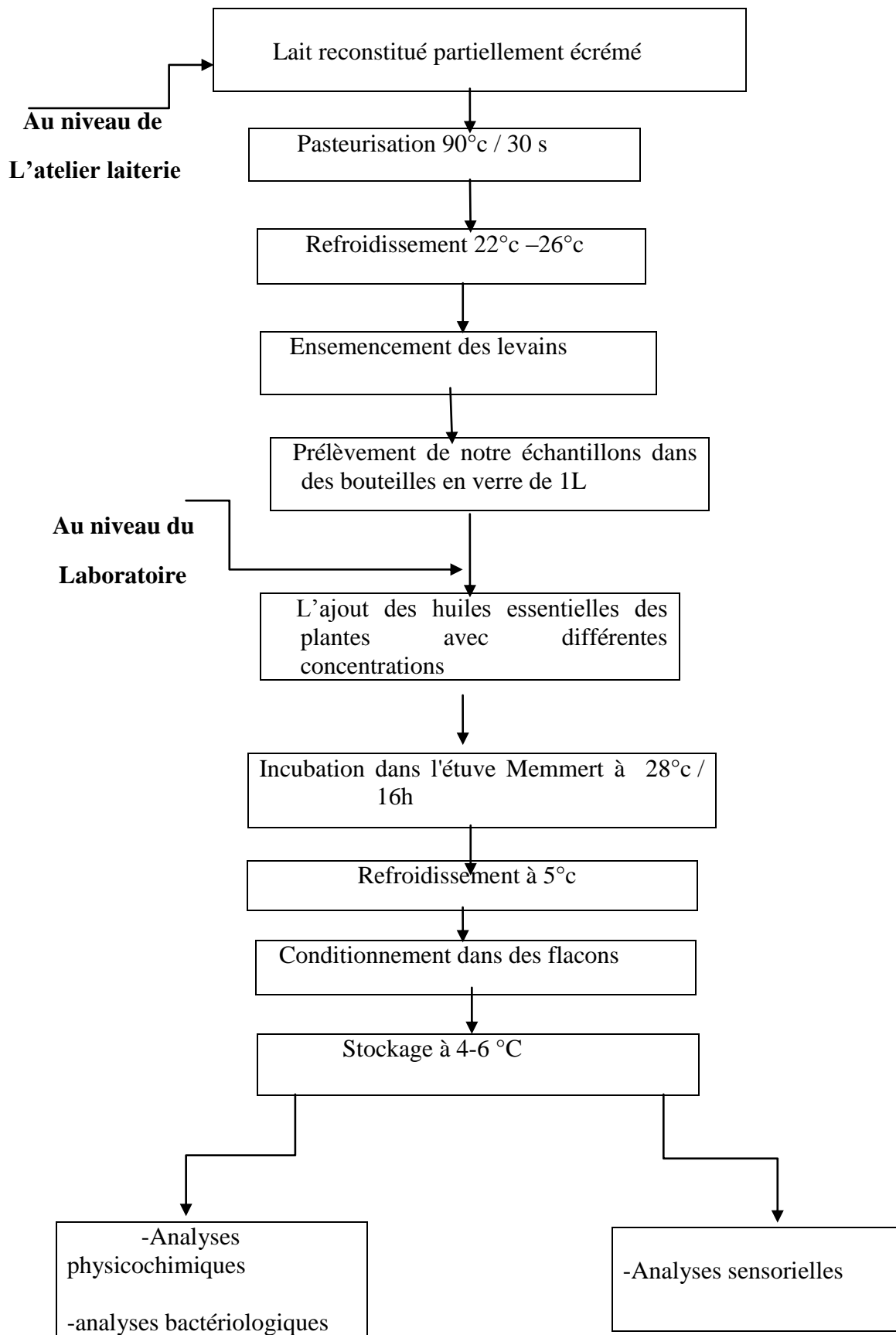
#### Mode opératoire

Dissoudre 6mg de DPPH dans un volume de 100ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5nm (517nm) dans le spectrophotomètre, donc 160 $\mu$ l (DPPH) + 40 $\mu$ l (extrait) + lecture 517

### 3. Fabrication de l'ben aromatisé :

#### 3.1. protocole expérimentale :

Le procédé de fabrication de l'ben aromatisé est illustré dans la **figure 8**. Tout le matériel a été stérilisé pendant notre manipulation.



**Figure 8:** Diagramme de méthodologie d'essai de fabrication du l'ben aromatisé

### 3.2. Plan expérimental :

Notre l'ben a été fabriqué au sein de la laiterie Numidia (GIPLAIT Constantine) dont le mode opératoire est constitué des étapes suivantes :

- **Préparation du lait** : Le lait qui a subi toutes les opérations nécessaires dès son entrée jusqu'à l'étape de pasteurisation avec 90°C/ 30s, est stocké dans les tanks avec refroidissement de 22°- 26°C, c'est le moment de l'ensemencement des ferments lactiques mésophiles.

-**Ensemencement** : Les ferments sont préparés dans un Erlenmeyer de 100ml à une dose adéquate puis mélangés avec 1L de lait. Une fois l'ensemencement et l'agitation sont terminés, on fait l'incorporation des huiles essentielles.

-**échantillonnages** : Nos échantillons sont prélevés dans 4 bouteilles de 1L en verre stérile qui sont envoyés directement au laboratoire de contrôle de qualité.

- **Incorporation** : Dans une salle aseptique et en présence de bec benzène, l'ajout des différentes concentrations d'huile se fait à l'aide d'une micropipette graduée, on a additionné à chaque litre à des concentrations données dans 3 bouteilles on laissant la 4ème comme témoin (**Figure 9**).

-Concentration de *Myrtus communis* :

-Concentration de *Romarinus officinalis* :

**T1(-) : Témoin**

**E1(-) : Témoin**

**T2 : 50 µl /l**

**E2 : 20 µl /l**

**T3 : 100 µl/l**

**E3 : 50 µl /l**

**T4 : 150 µl/l**

**E4 : 100 µl/l**

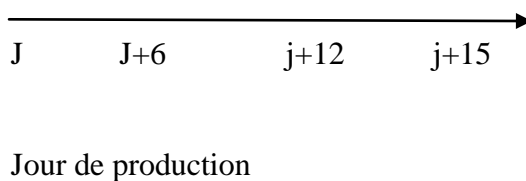


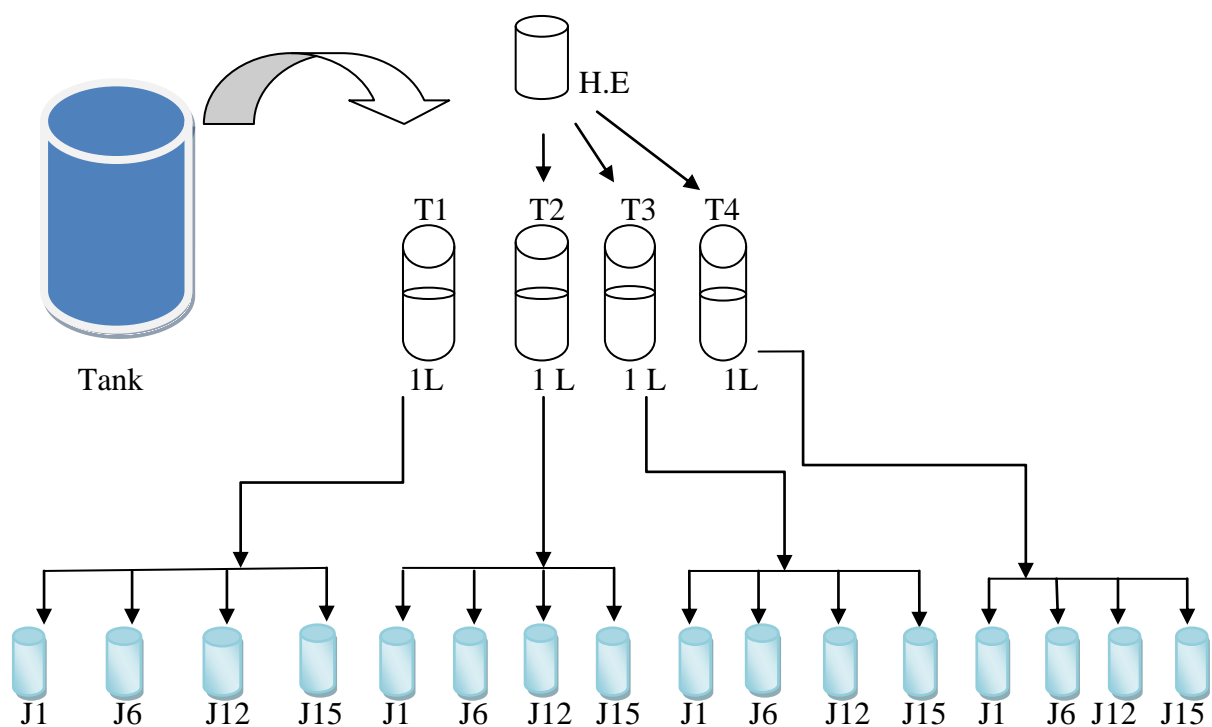
**Photos 2** : A/ incorporation huiles dans l'ben      B/ l'ben élaboré dans les bouteilles

- **Incubation** : ces bouteilles sont incubées dans une étuve Memmert à 28°C pendant 16 heures ,à la fin d'incubation on obtient le lait fermenté (l'ben ) qui va refroidir à 5°C.

- **Prélèvement et stockage** : Des prélèvements à partir des échantillons élaborés sont effectués dans le premier jour après la fabrication. L'ben a été divisé en flacons, 4 flacons pour chaque concentration (**figure 9**). L'ben élaborés sont stockés, ces produits sont destinés à être conserver à 4-6°C jusqu'au jour de leur analyse. L'opération est répétée deux fois à des dates différentes ( pour les 2 espèces).

-**Suivi des analyses** : Les jours de l'analyse physico-chimiques et bactériologiques sont représentés sur l'axe suivant





**Figure 9 :** incorporations des huiles essentielles dans le lait



**Photos 3 :** incubations dans l'étuve Memmert régler à 28°C



**Photos 4:** l'ben conditionné dans des flacons stériles

#### **4. Analyse physico-chimique :**

L'acidité titrable/libre :

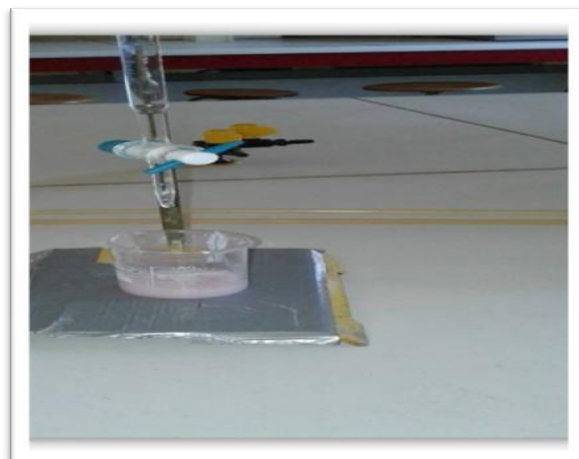
##### **a) Le principe :**

La mesure de l'acidité titrable, est exprimée en °D, est la quantité d'acide lactique contenue dans un litre de l'ben. Son principe se base sur le titrage de l'acidité par une solution alcaline d'hydroxyde de sodium (NaOH) 1/9 N, en présence d'un indicateur coloré de pH, la phénolphthaléine (1%).



##### **b) Le mode opératoire :**

Dans un Erlenmeyer, on verse, à l'aide d'une pipette 10 ml de l'ben et quelques gouttes de l'indicateur coloré phénolphthaléine à 1%. Avec une burette, un volume nécessaire de solution alcaline est versé goutte à goutte au l'ben avec une agitation, jusqu'à l'obtention d'un virage rose clair qui correspond au pH de 8,3. On arrête le titrage et on prélève le volume de chute de burette



**Photo 5** : Le virage de la coloration au rose correspondant à la zone d'équivalence

**c) L'expression des résultats :**

L'acidité en degré Dornic (°D) est exprimée comme suit :

$$\text{Acidité (°D)} = V \cdot 10$$

V : volume de la chute de burette en ml.

**5. Analyses bactériologique du l'ben aromatisé :**

• **Recherche des germes de contaminations :**

Selon le journal officiel de la république Algérienne N°39 , du 8 chaoual 1438 ; 2 JUILLET 2017 , les germes recherchés et dénombrés dans le laits fermentés (L'ben , Raib, etc) sont les coliformes totaux ; les coliformes fécaux ; *Staphylococcus aureus* ; les Salmonelles ; *Listeria monocytogeneses*. Les normes sont répertoriées dans le tableau 02.

**Tableau 02** : les normes microbiologiques du l'ben selon journal officiel (2017)

L'ben	n	C	M	M
Coliformes totaux	5	2	$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^5$
Coliformes thermotolérants	5	2	30	$3 \cdot 10^2$
Staphylocoque à coagulase +	5	2	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^3$
Salmonella	5	0	Absence dans 25g	
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	

**m**: seuil au dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante, donc tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants.

**M** : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont pas considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit est considéré comme toxique.

**M**=10m lors du dénombrement effectué en milieu solide

**M**= 30m lors du dénombrement effectué en milieu liquide

**n** : nombre d'unité composant l'échantillon

**c** : nombre d'unité de l'échantillon donnant des valeurs situées entre « M » et « m »

Tableau 03 : Tableau récapitulatif de l'analyse microbiologique

Les germes	Milieu de culture, température, temps d'incubation	Quantité de solution ensemence
Coliforme totaux	Gélose DCLA : 30°C / 24 h	1ml
Coliforme thermotolérants	Gélose DCLA : 44°C / 24h	1ml
Staphylocoque	Giolitti cantoni : 37°C/ 24h	1ml
Salmonelle	Bouillon SFB s/c : 37°C/ 24h	1ml



**Photos 6** : analyses bactériologique du l'ben aromatisé

### **6. Analyse sensorielle du l'ben aromatisé :**

Ce test a été retenu pour évaluer d'une façon générale le degré d'appréciation des échantillons de L'ben réalisant des profils sensoriels pour chaque produit. Il consiste à demander aux dégustateurs d'évaluer des échantillons codés de plusieurs produits en indiquant leur degré d'appréciation sur une échelle à 10 niveaux. Afin de réaliser des profils sensoriels, le panel de dégustateur est constitué d'experts de l'unité Numidia (GIPLAIT).

Les deux l'ben élaborés ont été présentés dans des gobelets identiques codés, il est demandé aux 8 dégustateurs de remplir des bulletins (voir annexe II) en se basant sur l'analyse de la texture, de l'odeur, de la saveur et de la persistance des produits.

Les produits à déguster sont : l'ben aromatisé avec des concentrations différentes d'HE et un autre l'ben non aromatisé utilisé comme témoin.



**Photo 7** : analyses sensorielle du l'ben aromatisé

# **Chapitre V: Résultats et Discussion**

## Résultats et discussions

### I. Résultat d' extraction de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* obtenue par hydrodistillation est un liquide visqueux d'une coloration jaunâtre et à odeur forte caractéristique du romarin d'un rendement de 1.2% (calculé à la base de 100g de matière sèche).

### II. Résultats d'activités antioxydantes

#### II.1. piégeage du radical libre DPPH

Dans cet essai les antioxydants réduisent et décolorent le radical DPPH, à un composé jaune le diphenylpicryl hydrazine, l'ampleur de la réaction dépendra de la capacité des antioxydants de donner l'hydrogènes (Ardestani et Yazdanparast., 2007).

Les résultats sont exprimés en pourcentage de l'activité antiradicalaire en les comparant à la  $CI_{50}$  des antioxydants synthétiques standards (BHA et BHT), qui est défini comme la concentration du substrat qui cause une perte de 50 % de l'activité du DPPH (Markowicz Bastos et al.,2007).

Les résultats de l'activité anti-radicalaire, vis-à-vis du radical DPPH, des standards et de l'extrait sont représenté dans le tableau ci-dessous :

**TableauN°4** : pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait , BHA et BHT.

Extraits	% Inhibition in DPPH							
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC <sub>50</sub> µg/ml
HE	NA	1.48±0.80	3.81±1.82	13..10±0.86	30.75±1.07	63.77±1.51	84.34±0.10	40.44±0.81
BHT	47.77±1.22	56.93±1.84	72.83±1.23	78.46±1.01	79.48±0.31	80.03±1.62	80.10±0.66	6.82±0.49
BHA	22.21±1.24	31.73±1.22	54.89±3.60	67.60±1.13	76.77±0.54	78.67±1.31	79.01±0.89	6.82±0.49

La comparaison de l'activité piégeage du radical DPPH de l'extrait méthanolique du romarin et des standards (BHA et BHT ) montre une activité du romarin antiradicalaire dépendante de la concentration. A chaque fois que la concentration augmente, le pourcentage d'inhibition augmente. A la concentration de 50µg/ml, le pourcentage d'inhibition moyenne

est de l'ordre de 40.44%, 6.82% et 6.82% pour l'extrait, BHA et BHT respectivement. On remarque que même à de faibles concentrations, l'extrait montre un pourcentage d'inhibition important, ce qui permet de déduire que les composés phénoliques contenus dans l'extrait de la partie aérienne de *R.officinalis* sont très efficaces comme antioxydants.

L'activité anti radicalaire des extraits du romarin (40.44% ) reste inférieure par rapport au contrôle positif BHA (6.82%) et BHT (6.82%). Ces valeurs obtenues sont inférieures par rapport à celles rapportées par **Athamena et al. (2012)** qui est de l'ordre de (80,50%).

Dans le cas de notre échantillon,  $IC_{50}$  (40.44 $\mu$ g/ml) est supérieure à celles des standards utilisés : la BHA et BHT qui ont respectivement des  $IC_{50}$  égales à 6.82  $\mu$ g/ml et 6.82 $\mu$ g/ml. Ils ont donc un meilleur pouvoir anti-radicalaire.

La valeur  $IC_{50}$ = 40.44 $\mu$ g/ml obtenu pour l'extrait méthanolique de *R.officinalis* présente une grande activité antioxydante par rapport aux valeurs  $IC_{50}$ =0,23 $\mu$ g/ml et  $IC_{50}$ =54 $\mu$ g/ml obtenues pour la même espèce rapporté par **Dormana et ses collaborateurs (2003) et Erkan., (2008)** respectivement. Ceci peut être dû à plusieurs facteurs tels que : la méthode d'extraction, la nature des composés phénoliques des huiles, la teneur en composés phénoliques totaux, le lieu et la période de cueillette de la plante (**Stefanovits-bányai et al., 2003**)

**Tableau N°5** : pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'HE, BHA et BHT

HUILES ESSENCIELLES	% Inhibition in DPPH							
	12.5 $\mu$ g	25 $\mu$ g	50 $\mu$ g	100 $\mu$ g	200 $\mu$ g	400 $\mu$ g	800 $\mu$ g	$IC_{50}\mu$ g/ml
4mg <b>HE</b>	5.39 $\pm$ 1.47	12.46 $\pm$ 0.86	26.46 $\pm$ 0.20	39.99 $\pm$ 0.73	59.85 $\pm$ 0.35	75.40 $\pm$ 0.20	82.73 $\pm$ 0.12	156.52 $\pm$ 0.50
<b>BHA</b>	76,55 $\pm$ 0,48	79,89 $\pm$ 0,26	81,73 $\pm$ 0,10	84,18 $\pm$ 0,10	87,13 $\pm$ 0,17	89,36 $\pm$ 0,19	90,14 $\pm$ 0,00	6.14 $\pm$ 0.41
<b>BHT</b>	49,09 $\pm$ 0,76	72,63 $\pm$ 2,06	88.73 $\pm$ 0,89	94.00 $\pm$ 0,31	94.97 $\pm$ 0,08	95.38 $\pm$ 0,41	95.02 $\pm$ 0,23	12.99 $\pm$ 0.41

La comparaison de l'activité du piégeage du radical DPPH de l'HE du romarin et des standards (BHA et BHT) montre une activité du romarin antiradicalaire dépendante de la concentration. A chaque fois que la concentration augmente, le pourcentage d'inhibition augmente. A la concentration de 50µg/ml, le pourcentage d'inhibition moyenne est de l'ordre de 156.52%, 6.14% et 12.99% pour l'extrait, BHA et BHT respectivement.

d'après nos résultats, la valeur  $IC_{50} = 40.44\mu\text{g/ml}$  obtenue pour l'extrait méthanolique de *R.officinalis* et la valeur  $IC_{50} = 156.52\mu\text{g/ml}$  obtenue pour l'HE du romarin ont montré que l'efficacité de l'extrait contre l'oxydation était supérieure à l'efficacité de l'huile essentielle.

## II.2. Activité piégeage du radical libre ABTS

**TableauN°6** : pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction de la concentration de l'extrait, BHA et BHT.

Extracts	% Inhibition in ABTS assay							
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	$A_{c,50}$ µg/mL
Extrait R	13.57±1.6	17.22±2.9	18.77±0.78	27.71±1.7	43.03±3.2	58.56±3.1	89.56±3.5	39.02±1.0
BHT	49.22±0.75	59.22±0.59	78.55±3.43	90.36±0.00	92.18±1.27	93.37±0.86	94.87±0.87	1.59±0.03
BHA	83.42±4.09	93.52±0.09	93.58±0.09	93.63±0.16	93.63±0.95	94.20±0.90	95.39±2.62	1.03±0.00

D'après ce tableau, on remarque que le taux d'inhibition augmente en fonction de l'augmentation de la concentration de l'extrait  $IC_{50} = 39.87\pm 0.18\%$ .

ce qui signifie que toutes les molécules  $ABTS^+$  sont réduites en ABTS.

**Tableau N°7** : pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction de la concentration de l'EH, BHA et BHT.

HE 4mg	% Inhibition in ABTS							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
HE	6.58±2.47	6.93±0.62	9.87±0.18	21.95±0.15	22.16±1.86	34.76±1.22	56.61±1.24	667±3.36
BHA	69.21±0,40	78.23±1,34	88.12±1,28	88,76±3,07	90.85±1,74	90.95±0,51	96.68±0.39	1.29±0.30
BHT	92.83±1,42	94.68±0,42	94.95±0,90	95.32±0,25	95.59±0,47	95.83±0,15	95,86±0,10	1.81±0.10

D'après les résultats du tableau N°05, la valeur IC<sub>50</sub>= 39.87µg/ml obtenue pour l'extrait méthanolique de *R.officinalis* et La valeur IC<sub>50</sub>= 667µg/ml obtenue pour l'HE du romarin ont montré que l'efficacité de l'extrait contre l'oxydation était supérieure à l'efficacité de l'huile essentielle.

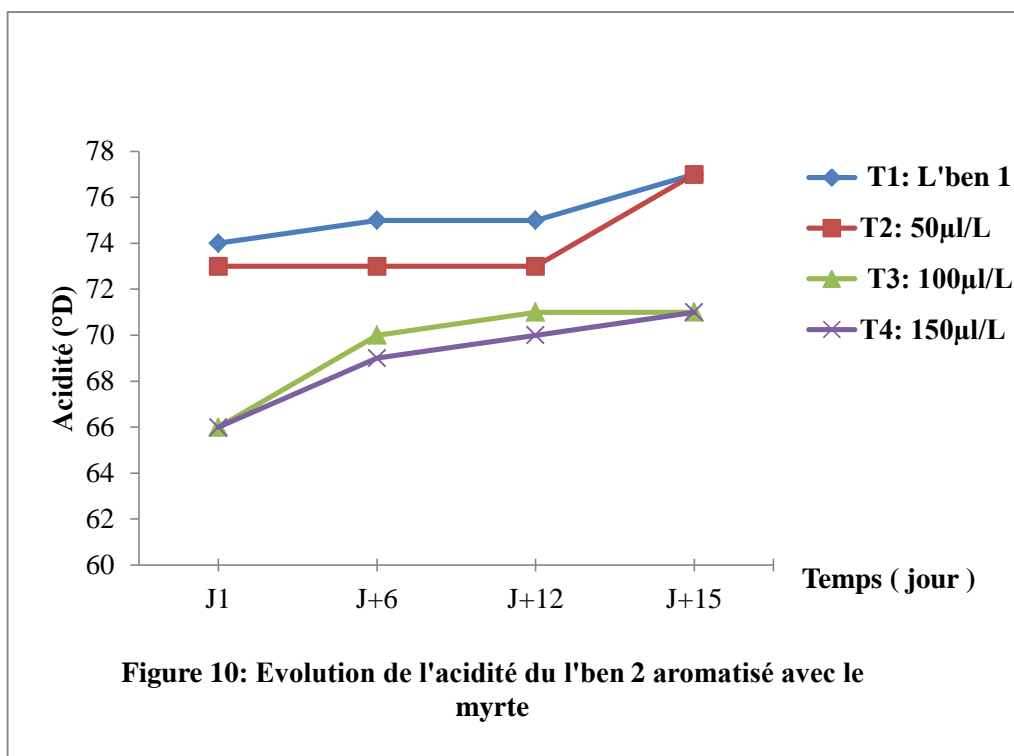
Les résultats obtenus dans la présente étude pourraient être expliqué par la qualité des composés phénoliques dans l'extrait, à savoir l'acide rosmarinique, l'acide carnosique qui sont connus pour leur forte activité antioxydante. Celle-ci peut être influencée par de nombreux facteurs externes tels que les conditions climatiques de la région de la collecte ainsi que la période de collecte des échantillons qui influencent fortement l'état physiologique de la plante.

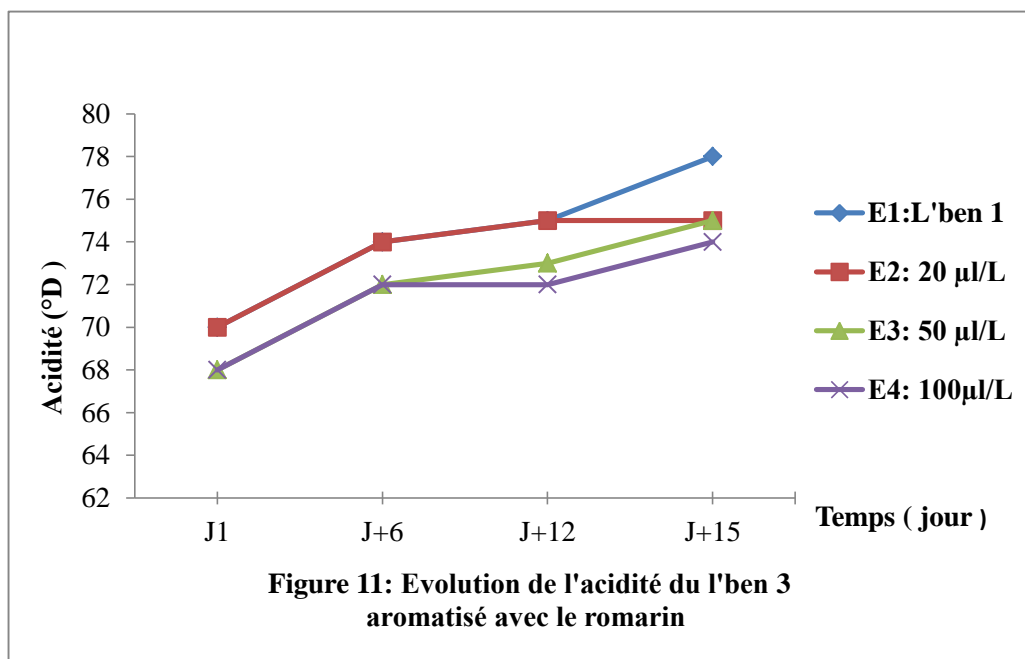
### 1. Résultats du suivi de l'acidité au cours de stockage du l'ben :

Les résultats de suivi de l'acidité juste après l'élaboration du l'ben, et pendant 15 jours de stockage à 6°C, pour les trois types de l'ben (l'ben sans additif, l'ben aromatisé avec le myrte, l'ben aromatisé avec romarin) sont représentés dans le (tableau 8).

**Tableau N°08** : Résultats d'analyse physico-chimique des trois échantillons de l'ben (acidités Dornic).

Durée de conservation	L'ben sans additif (l'ben 1)		L'ben aromatisé avec myrte (l'ben 2)			L'ben aromatisé avec romarin (l'ben 3)		
	T1	E1	T2	T3	T4	E2	E3	E4
<b>Jours</b>								
<b>Acidité (°D)</b>								
<b>Jour 1</b>	74	70	73	66	66	70	68	68
<b>Jour 6</b>	75	74	73	70	69	74	72	72
<b>Jour 12</b>	75	75	73	71	70	75	73	72
<b>Jour 15</b>	77	78	77	71	71	75	75	74





Le suivi de l'évolution de l'acidité Dornic au cours de la conservation à 6°C

Pour l'ben1, sans additif, (voir tableau 8) a montré que ce paramètre enregistre des valeurs comprises entre 70 et 78°D dont la valeur la plus faible qui est de 70°D est enregistrée au bout du 1er jour. Cependant, la valeur la plus élevée, qui est de 77-78°D, est enregistrée le 15<sup>ème</sup> jour de conservation.

Les valeurs de l'acidité Dornic obtenues durant la conservation pour le l'ben 2( aromatisé avec le myrte) (tableau 8) a montré une variation entre les différentes concentrations T2(50µl/l), T3(100µl/l), T4(150µl/l) ce qui indique une diminution de 73, 66, 66 °D, respectivement, au bout du 1er jour. Puis une faible augmentation entre le 6<sup>ème</sup> et 12<sup>ème</sup> jour de conservation, pour atteindre une valeur maximale le 15<sup>ème</sup> jour qui est de 77, 71, 71°D.

La même variabilité d'acidité est enregistrée pour le l'ben3(aromatisé avec le romarin) (tableau 8) avec des valeurs du E2(20µl/l) , E3(50µl/l), E4(100µl/l) de 70, 68, 68°D, respectivement au bout du 1er jour. Cependant une légère augmentation entre le 6<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> jour, pour atteindre la valeur la plus élevée au bout dy15<sup>ème</sup> jour qui est de 75, 75, 74°D, respectivement.

La principale conséquence de l'acidification est l'augmentation de la concentration d'acide lactique dans le milieu, qui signifie la diminution du pH de celui-ci (**Tamagnini et al., 2006**). Toutefois cette variation de l'acidité pour l'ben 1 (sans additif), 2 (aromatisé avec le myrte) et 3 (aromatisé avec le romarin) entre dans l'intervalle d'acceptabilité de la norme algérienne qui tolère de 60°- 85°D.

L'augmentation de l'acidité au cours de la conservation s'explique par la fermentation lactique assurée par les bactéries lactiques mésophiles présentes dans l'ben

Les résultats de l'acidité obtenus dans notre étude sont meilleurs que ceux rapportés par **El Marnissi et al., (2013)** et **Boubekri et al. (1984)**, et qui sont de 80°D et 82°D respectivement

De plus, nos résultats corroborent avec ceux de **Tantaoui Elaraki (1983)**, qui ont noté une acidité titrable entre 71°D et 78°D pour le l'ben marocain

D'autre part, nous remarquons une augmentation de l'acidité en fonction du temps qui est plus rapide pour l'ben 1 que celle des deux autres l'ben aromatisés, dont la progression de réaction d'acidification est très lente durant les 15 jours. Quoique les valeurs de l'acidité du l'ben témoin et les deux sortes de l'ben aromatisé à faible dose d'HE soient presque similaires au 1<sup>er</sup> jour, les fortes concentrations en HE ont induit une diminution de l'acidité notable dès le 1<sup>er</sup> jour de conservation.

Globalement, au cours de la conservation, l'acidité des laits fermentés préparés à des concentrations de 100 ul /L et 150 ul/L d'H.E de myrte et de 50 ul/L et 100 ul/L de H.E de romarin, est nettement plus faible que le témoin, cette diminution de l'acidité s'exprime par l'effet bactériostatique de l'extrait de myrte et du romarin dont l'action semble d'autant plus accentuée en fonction de la concentration incorporée dans les laits fermentés acidifiés.

## 2. Evaluations des analyses bactériologiques :

L'évolution de la croissance des germes testés s'est effectuée sur une période de 15 jours à partir du 1<sup>er</sup> jour, 6<sup>ème</sup> jour, 12<sup>ème</sup> jour et 15<sup>ème</sup> jour selon la date de péremption de l'ben qui est de 14 jours. Les résultats obtenus sont ceux des analyses microbiologiques des germes de

contamination de l'ben aromatisés à l'H.E du myrte et du romarin, l'évolution de la croissance des germes de contamination, pendant 15 jours, est représentée dans le tableau 9.

**Tableau N° 09** : Tableau récapitulatif des résultats microbiologiques

	échantillon	Résultats				
		Coliforme totaux	Coliforme fécaux	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i>	
le myrte	Jour 1	T1	$2,7 \cdot 10^4$	200	Absent	Absent
		T2	$2,3 \cdot 10^4$	160	Absent	Absent
		T3	$2,3 \cdot 10^4$	150	Absent	Absent
		T4	$2,3 \cdot 10^4$	120	Absent	Absent
	Jour 6	T1	$1,2 \cdot 10^4$	200	Absent	Absent
		T2	$1,2 \cdot 10^4$	160	Absent	Absent
		T3	$1 \cdot 10^4$	150	Absent	Absent
		T4	$1 \cdot 10^4$	110	Absent	Absent
	Jour 12	T1	$4 \cdot 10^3$	160	Absent	Absent
		T2	$2 \cdot 10^3$	120	Absent	Absent
		T3	$2 \cdot 10^3$	120	Absent	Absent
		T4	$2 \cdot 10^3$	88	Absent	Absent
	Jour 15	T1	$3 \cdot 10^3$	140	Absent	Absent
		T2	$2 \cdot 10^3$	90	Absent	Absent
		T3	$2 \cdot 10^3$	80	Absent	Absent
		T4	$1 \cdot 10^3$	64	Absent	Absent
le romarin	Jour 1	E1	$2,1 \cdot 10^4$	120	Absent	Absent
		E2	$2 \cdot 10^4$	99	Absent	Absent
		E3	$1,4 \cdot 10^4$	98	Absent	Absent
		E4	$1 \cdot 10^4$	98	Absent	Absent
	Jour 6	E1	$1,1 \cdot 10^4$	120	Absent	Absent
		E2	$1,1 \cdot 10^4$	98	Absent	Absent
		E3	$1 \cdot 10^4$	98	Absent	Absent
		E4	$6 \cdot 10^3$	98	Absent	Absent
	Jour 12	E1	$6 \cdot 10^3$	100	Absent	Absent
		E2	$7 \cdot 10^3$	67	Absent	Absent
		E3	$8 \cdot 10^3$	65	Absent	Absent
		E4	$4 \cdot 10^3$	65	Absent	Absent
	Jour 15	E1	$5 \cdot 10^3$	85	Absent	Absent
		E2	$7 \cdot 10^3$	64	Absent	Absent
		E3	$8 \cdot 10^3$	60	Absent	Absent
		E4	$2 \cdot 10^3$	59	Absent	Absent

Parmi les germes recherchés dans notre étude, certains étaient également détecté mais avec des valeurs plus au moins faible ; c'est le cas pour les coliformes totaux et les coliformes fécaux. Les staphylocoques et la salmonelle n'ont pas été détecté.

➤ **Coliformes totaux :**

Le suivi des coliformes totaux dans les échantillons du l'ben1(témoin), 2( aromatisé avec le myrte) et 3( aromatisé avec le romarin) n'a pas montré une grande différence significative entre les diverses concertations, donc au bout du 1<sup>er</sup> jour on note une charge moyenne de  $2,4.10^4 / 2,3.10^4 / 1,4.10^4$  UFC/ml, pour nos trois échantillons respectifs. Nous remarquons une légère diminution notable au cours du 6ème et 12ème jour qui est de  $1,15.10^4 / 1.10^4 / 9.10^3$  UFC/ml, respectivement et de  $5.10^3 / 2.10^3 / 6.10^3$  UFC/ml, jusqu' au 15ème jour de conservation pour atteindre  $4.10^3 / 1,6.10^3 / 5,6.10^3$  UFC/ml, respectivement. Nos résultats sont conformes à la norme fixé par **JORA, 2017** ( $3.10^4$  à  $3.10^5$  ), la diminution du taux des coliformes totaux peut être liée à la présence de souches productrices de bactériocine (**Benkerroum et al., 2000**).

D'autre part, la présence des coliformes n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale ; certains coliformes sont, en effet, présents dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier (**Larpent., 1990**). Néanmoins, le contact de l'HE avec les macromolécules comme les lipides ou les protéines protège les micro-organismes de l'action des HE (**Tassou et al., 1995**)

➤ **Coliformes fécaux :**

On a enregistré la présence de coliformes fécaux dans l'ben 1 et l'ben 2 et l'ben 3 avec une population moyenne respectivement de 160 /143/98 UFC/ml dans le 1<sup>er</sup> jour, suivi d'une diminution au bout du 6ème et 12ème jour avec 160/140/98UFC/ml, respectivement et de 130/109/65,6 UFC/ml, pour atteindre les valeurs minimales au 15ème jour, respectivement 112,5/78/61UFC/ml. Nos résultats sont conformes à la norme JORA (2017), qui est de 30 à  $30.10^2$  UFC/ml.

Nos résultats sont supérieurs à ceux enregistrés par différentes études effectuées au Maroc par **EL Marnissi et al (2013)** avec moyen de  $1,2 \cdot 10^4$  UFC/ml **Tantaoui-Elaraki (1983)** avec valeur de  $5,05 \cdot 10^5$  UFC/ml **Benkerroum,(1984)** ,**hammama, (1992)** avec valeur dépassant le  $10^4$  , et **Zinedine et al. (1996)**  $4 \cdot 10^4$  UFC/ml

D'autre part, l'acidité développée dans le milieu exerce un effet inhibiteur sur la majorité des germes pathogènes. Il s'avère aussi que plus la concentration en HE augmente plus le nombre de coliforme est réduit **Meziene et al. (1997)**. Cette diminution peut être due à la diminution du pH et aussi à la présence d'un taux élevé de bactéries lactiques (ELMarnissi et al., 2013).

#### ➤ **Staphylocoques :**

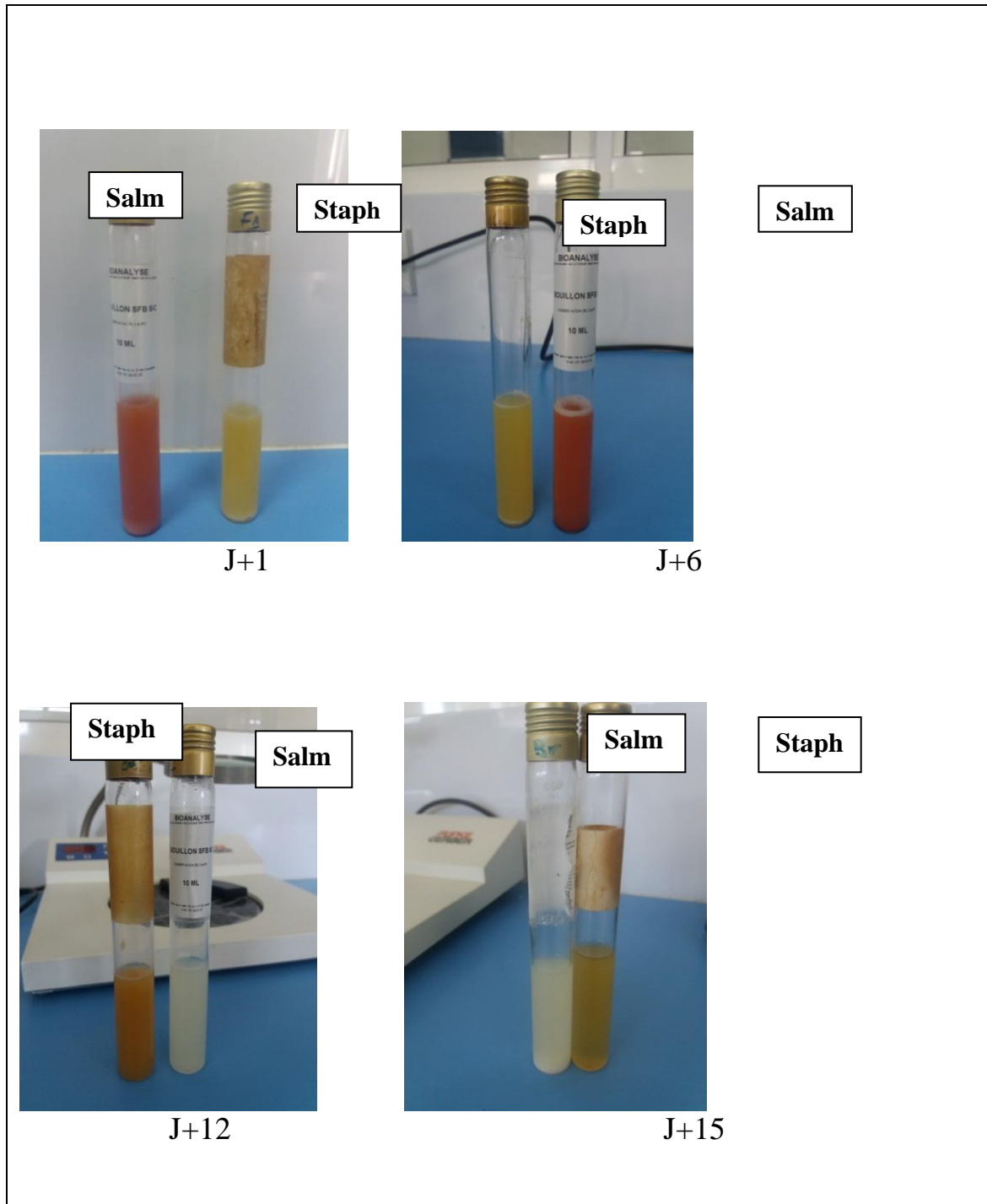
Le suivi et la recherche des Staphylocoques dans les trois échantillons de l'ben1, 2et 3 avec les différentes concentration s'est révélée négatif ce qui est conforme à la norme algérienne fixé par le **JORA (2017)** qui est de  $3 \cdot 10^2$  à  $3 \cdot 10^3$

Des études similaires concernant la recherche des staphylocoques s'est révélée négative (**hammama, 1992** ), contrairement à celle rapportée par **EL Marnissi et al (2013)** et **Benkerroum et al (1984)**.

#### ➤ **Salmonelles :**

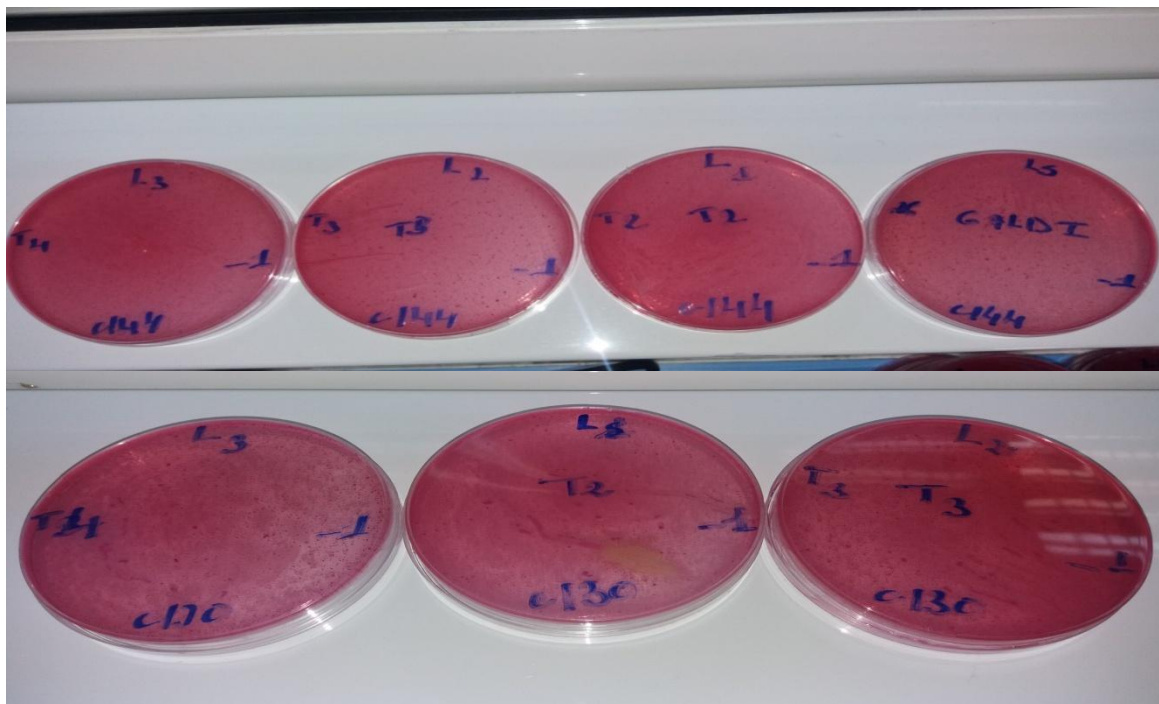
Les salmonelles sont absentes pour les différents types de l'ben1, 2 et 3 analysés, ce qui est conforme à la réglementation algérienne ( **J.O.R.A , 2017** ). La principale source de contamination serait l'excrétion fécale des salmonelles , dissémination de la bactérie dans l'environnement et la contamination de la peau des mamelles et du matériel ( **Guy, 2006**).

Selon **EL Marnissi et al, 2013**), aucun des échantillons de l'ben analysés ne révèle la présence de salmonelle comme c'était le cas dans de précédentes études [**hammama, 1992** , **Zinedine et al 1996** ,**El marnissi et al,2012**]. Le pH acide du « Lben » peut expliquer l'absence de ce germe pathogène. En effet, **Dubois et al.** ont constaté que les Salmonella ne résistaient pas à des pH compris entre 4,6 et 4,8.

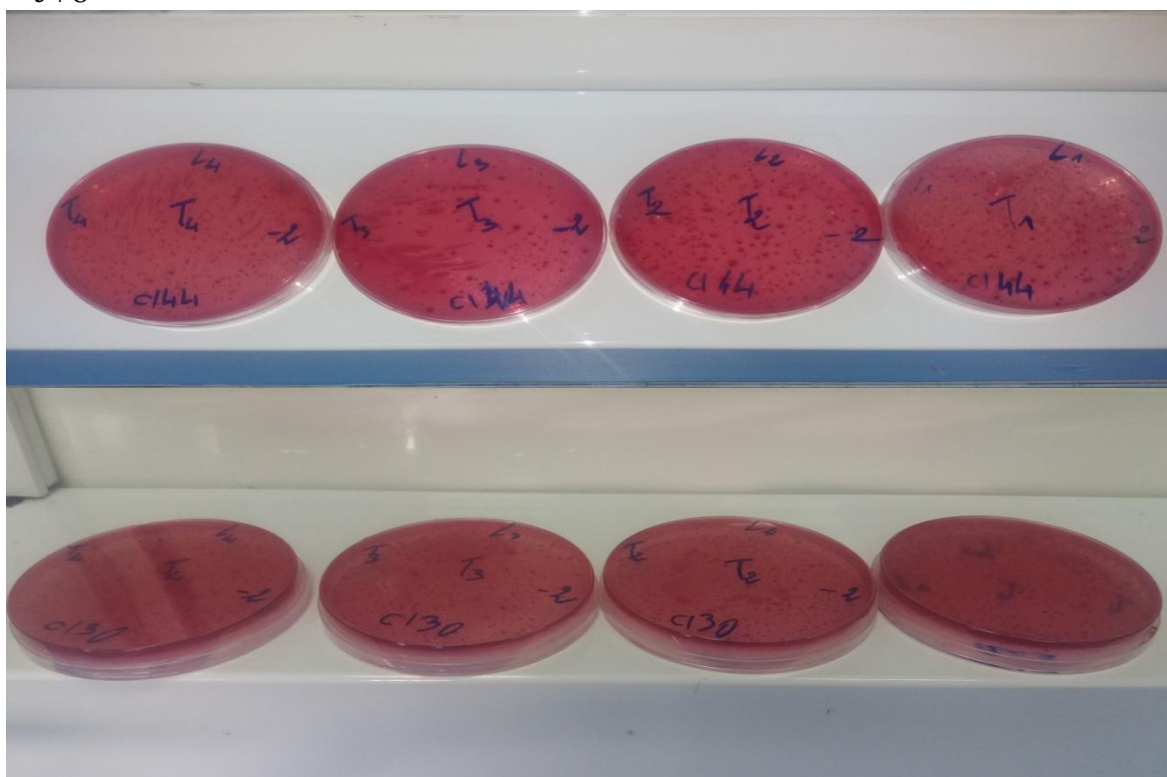


**Photos 8 : Résultats du suivi du Salmonelles et Staphylocoques identique pour les trois types de l'ben**

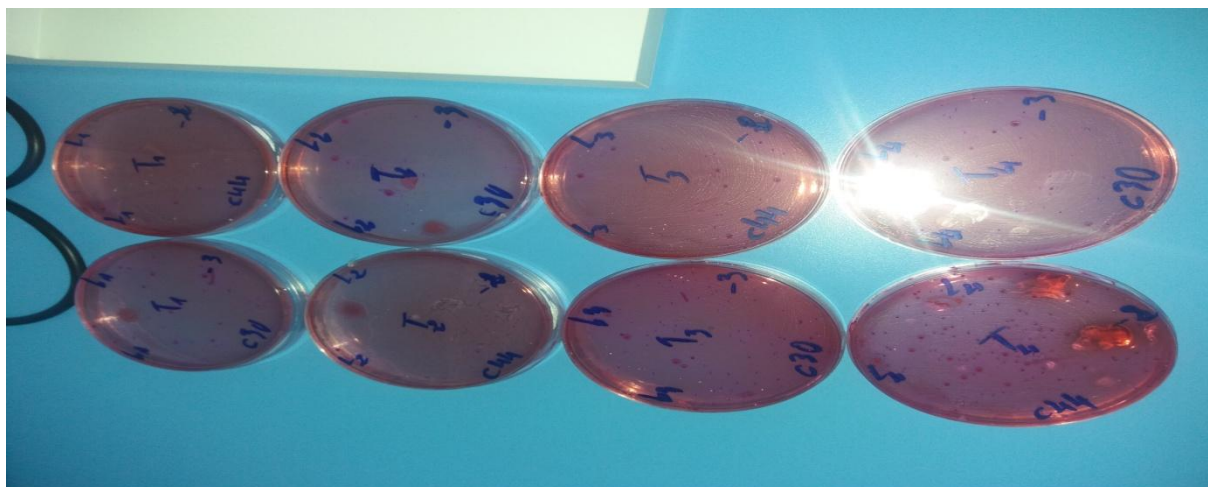
J+1



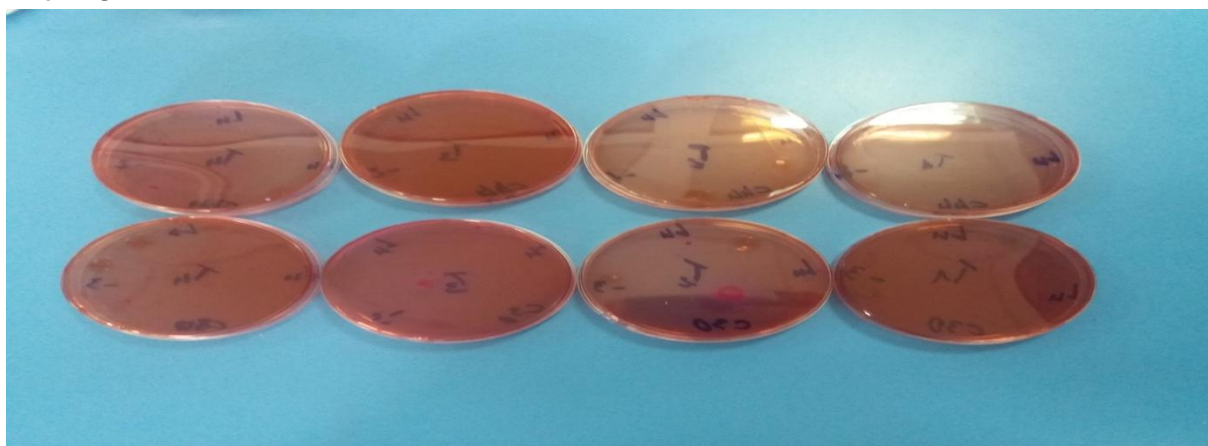
J+6



J+12

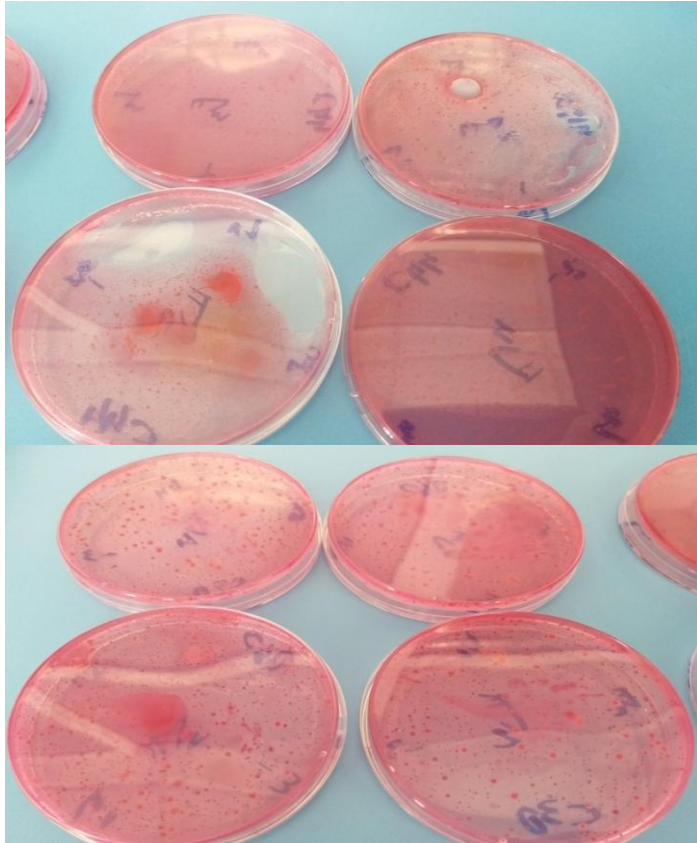


J+15

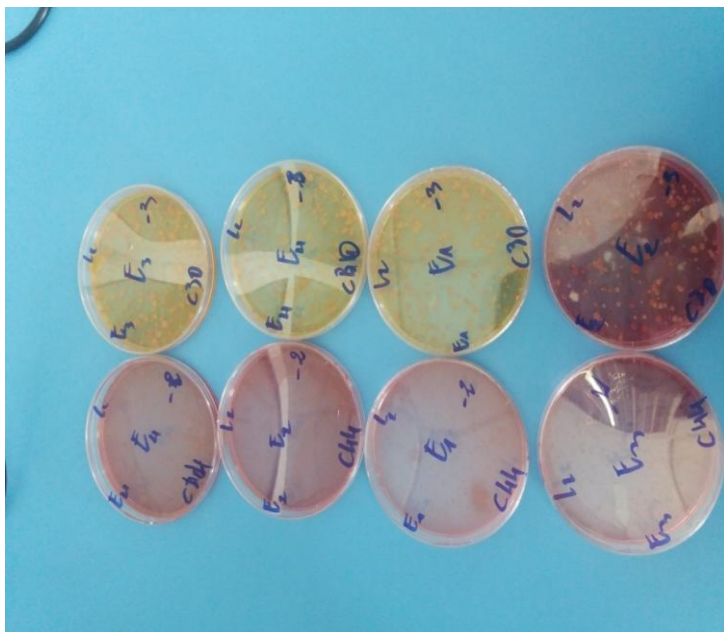


**Photos 9 : Résultats de suivi des coliformes fécaux et totaux de lb'en 1(témoin) et l'ben 2(aromatisé avec le myrte ) avec les différentes concentrations**

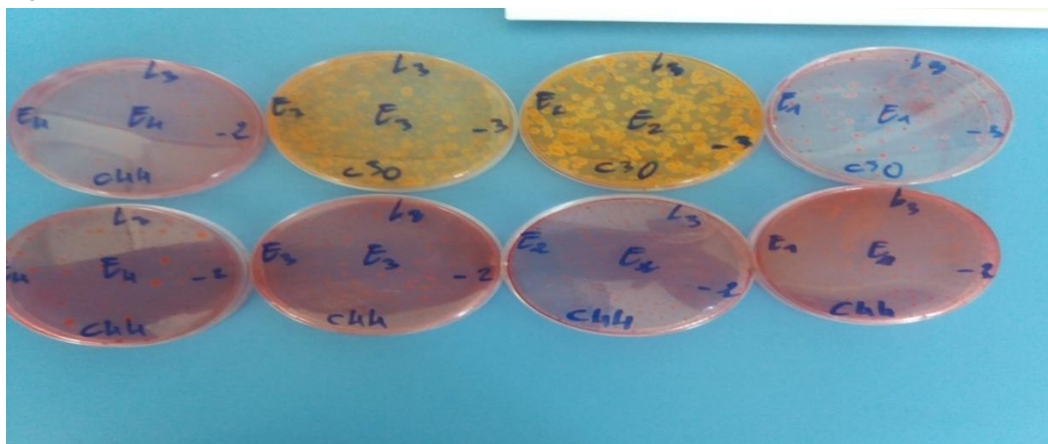
J+1



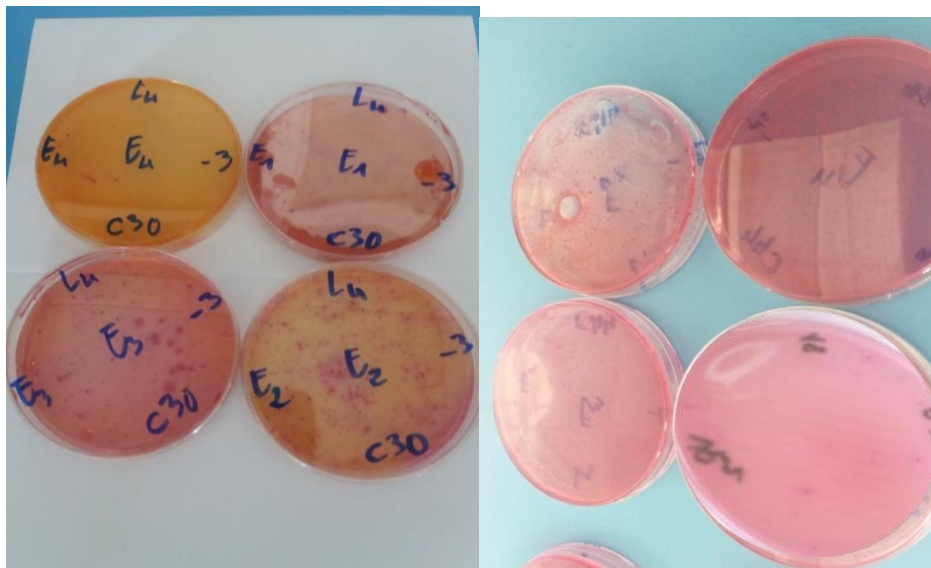
J+6



J+12



J+15



Photos 10 : Résultats de suivi des coliformes fécaux et totaux de l'ben 1(témoin) et l'ben 3 (aromatisé avec le romarin) avec les différentes concentrations

3. Evaluation de l'analyse sensorielle :

Les figures 12 et 13 illustrent les profils d'analyse sensorielle des différents types de l'ben élaborer ( sans additif , aromatisé avec myrte , aromatisé avec romarin )

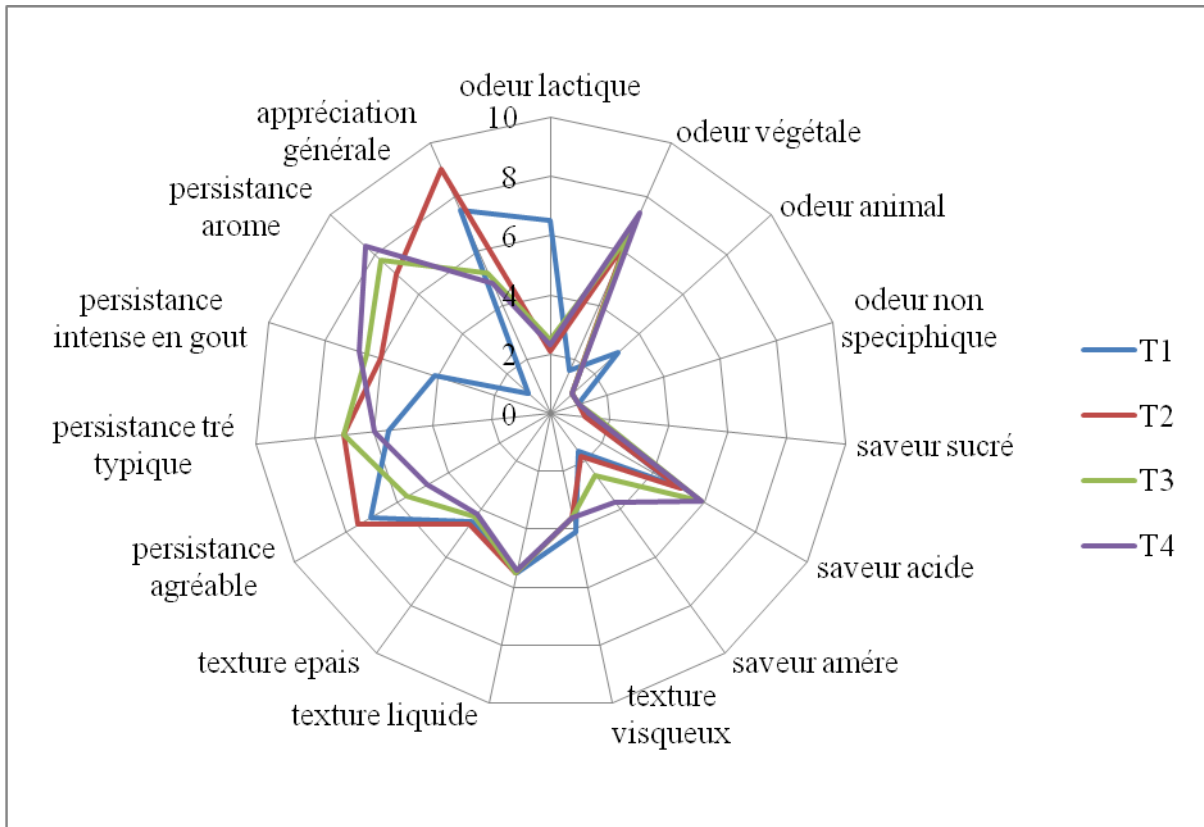
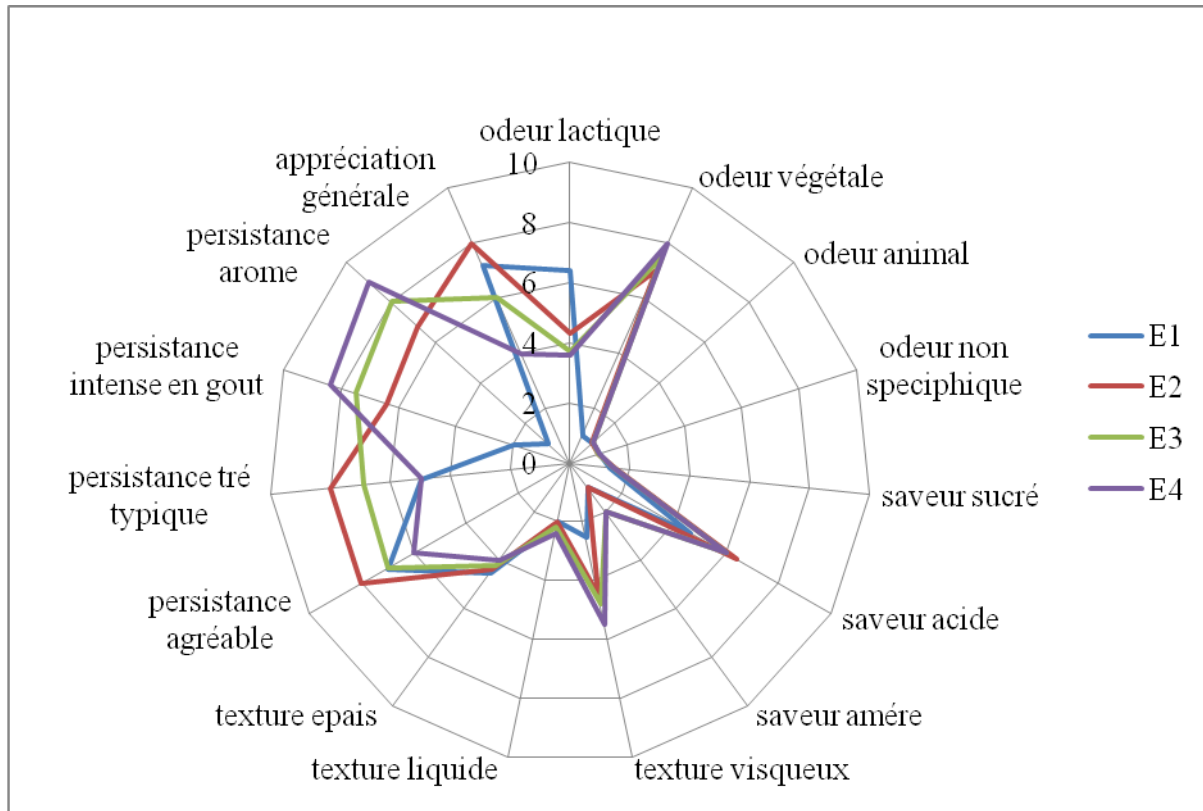


Figure 12 : Profils sensoriels de 4 l'ben préparés à différentes concentrations de l'huile essentielle du Myrte



**Figure 13 :** Profils sensoriels de 4 l'ben préparés à différentes concentrations de l'huile essentielles du Romarin

Ce test révèle que l'ben aromatisé à faible concentration soit a base de myrte ou romarin est le plus apprécié des autres types de l'ben aromatisé..En effet les dégustateurs étaient favorable 50% pour l'ben aromatisé a faible dose du myrte 50µl/L ,40 % pour l'ben aromatisé a faible dose du romarin 20µl/L , 10% pour les fortes concentrations de myrte et romarin respectivement 100µl/L , 150µl/L et 50µl/L, 100µl/L .

# **Conclusion et Perspectives**

### *Conclusion et Perspectives*

Ce travail avait pour objectif de réaliser la fabrication d'un nouveau produit naturel qui est le petit lait « l'ben » additionné à des l'huiles essentielles : le myrte et le romarin. Pour cela, nous avons effectué au préalable un hydrodistillation des feuilles des deux espèces le *Rosmarinus officinalis* L. et le *Myrtus Communis* L. Dans le but de valoriser, de révéler potentiel des H.E en tant qu'alternative aux arômes et conservateurs artificiels utilisés dans les industries agro-alimentaires. Au cours de cette étude, nous avons pu conclure sur les points suivants :

D'après nos résultats , il s'avère que l'utilisation des concentration de 100µl/L et 150µl/L de H.E du myrte aussi bien H.E avec dose de 50µl/L et 100µl/L du romarin touchent sensiblement l'acidité du l'ben , Toutefois pour les concentrations 50µl/L de H.E de myrte et 20µl/L de H .E de romarin montrent des ré

sultats classé indifféremment avec le témoin

Le suivi des analyses bactériologique des trois échantillons l'ben 1(sans additif) l'ben 2(aromatisé avec myrte) et l'ben 3(aromatisé avec romarin) a révélé l'absence des Salmonelles et Staphylocoques et la présence de taux modérée des germes coliformes , néanmoins ce taux diminue progressivement au cours de conservation qui peut être due aux effets antimicrobien de bactérie lactique et des plantes aromatisantes (myrte et romarin) .

Les résultats des analyses sensorielles de l'incorporation de l'H.E dans l'ben ont révélé qu'il existe des convergences entre les caractéristiques des produits aromatisés du point de vue organoleptique. En effet, le l'ben aromatisé avec le myrte est le plus apprécié par les dégustateurs ainsi que le l'ben aromatisé avec le romarin en deuxième position , suivi du l'ben 1(sans additif).

A la lumière de nos résultats, nous pouvons conclure que les HE de «*Rosmarinus officinalis* L.» et «*Myrtus Communis* L.» semblent être plus appropriés comme agents conservateurs et aromatiques dans le lait fermenté.

Dans le but d'améliorer la qualité des produits consommés et de créer de nouveaux produits en vue de leur commercialisation, ainsi que pour prolonger la date de consommation des aliments, nos perspectives sont les suivants :

- Isoler les bactéries lactiques du l'ben et d'étudier leur comportement vis-à-vis des huiles essentielles de «*Rosmarinus officinalis*» et «*Myrtus Communis* »
- Etudier l'effet du «*Rosmarinus officinalis*» et du «*Myrtus Communis* » sur les ferments lactiques du l'ben.
- Optimiser la dose en HE à utiliser pour avoir un produit à commercialiser et en faire un alicament.
- Extraire les composants actifs de ces huiles essentielles et de les appliquer directement dans l'ben.
- Appliquer ces HE à d'autres produits laitiers (beurre, yaourt) ou d'autres aliments.
- Faire des tests de toxicité pour pouvoir en faire un nouveau produit commercial.

*Résumé*

**Résumé**

Cette étude vise à évaluer l'activité antioxydante des extraits obtenus après extraction avec l'éthanol du romarin et du myrte. L'objectif est de valoriser ces échantillons en les incorporant ensuite dans un produit laitier fermenté c'est le petit lait.

L'objectif de ce travail consiste à suivre les paramètres physico-chimique d'où l'acidité et les paramètres microbiologiques d'où la recherche des germes de contamination qui sont : les coliformes fécaux et les coliformes totaux et les salmonelle et les staphylocoques , de ce produit artisanal au cours du conservation à 6°C.,

Les analyses physico-chimiques de 2 type de l'ben montrent des résultats dans les normes, Les analyses microbiologiques est révélé que , les coliformes totaux et les coliformes fécaux , diminuent au cours de la conservation qui peut être due aux effets antimicrobien de romarin et de myrte . les staphylocoques et salmonelle sont absente pendant toute la période de conservation. Pour les sujets dans l'analyse sensorielle, a indiqué la préférence de l'ben 2 aromatisé avec myrte.

**Mots-clés :** Antioxydant, l'ben aromatisé, romarin, myrte , Analyses physico-chimiques et microbiologique

## Summary

Our study is based on the activities evaluation of antioxidant's extract, that was obtained after the abstraction of rosemary ethanolic and myrtle, our purpose is to develop their samples and incorporate it on a fermented milk, or what we call whey.

The purpose of our work consists to follow and analyze physico-chemical parameters, where the acid and microbiological research of germs are used in the sake of germs research of contamination, mentioning : fecal coliforms and total coliforms, salmonella and staphylococcus, for the artisanal product which is at 6°C conservation. The analyze of the two type of sour milk, shows the results in the norms, the microbiological analysis shows that the fecal coliforms and the total coliforms decreases while the conservation, which is probably due to the effects of antimicrobial rosemary and myrtle, the staphylococcus and the salmonella were absent during the conservation, and for the sensorial analysis it indicates the preference of sour milk and the both were aromatised with myrtle.

## ملخص :

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم نشاط مضادات الأكسدة في المستخلصات التي تم الحصول عليها بعد استخراج إكليل الجبل و الريحان الهدف الرئيسي هو تثمين هذه العينات من خلال دمجها ثم في منتج الألبان المخمرة ، هو اللبن لهذا السبب تم متابعة تحليل للمعايير الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية وكذلك التحليل الذوقي .

وقد تم تحليل المعيار الفيزيائي والكيميائي الذي يدل على الحموضة و تم البحث في أربعة مؤشرات تلوث: القولونيات البرازية ، القولونيات الكلية ، السالمونيلا والمكورات العنقودية.

تُظهر نتائج المعايير الفيزيائية والكيميائية أن حموضة اللبن مطابقة للمعايير الوطنية.

تظهر النتائج الميكروبيولوجية الغياب التام للمكورات العنقودية والسالمونيلا طوال فترة التخزين ، ولكن تبين أن القولونيات الكلية والبكتريا القولونية البرازية تتناقص أثناء التخزين ، وهو ما قد يكون بسبب تأثيرات مضادة للميكروبات لبنات إكليل الجبل و الريحان .

يُظهر التحليل الذوقي تفضيل لبن دا نكهة الريحان أكثر من إكليل الجبل.

الكلمات المفتاحية: لبن عطري ، إكليل الجبل ، الريحان ، نشاط مضاد للأكسدة ، تحليل فيزيائي كيميائي ، تحليلات ميكروبيولوجية ، تحليل ذوقي



# **Références Bibliographiques**



**Références bibliographique :**

**A :**

**Aboutabl** E.A., Meselhy K.M., Elkhreisy E.M., Nassar M.I. et Fawzi R. (2011). Composition and bioactivity of essential oils from leaves and fruits of *Myrtus communis* and *Eugenia supraxillaris* (Myrtaceae) Grown in Egypt . *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14: 2, 192-200.

**Aherne** S.A., Kerry J.P. and O'Brien N.M., (2007) Effects of plant extracts on antioxidant status and oxidant-induced stress in Caco-2 cells. *British Journal of Nutrition* ; 97 ; 321-8

**Aidi Wannès** W., Mhamdi B. et Marzouk B. (2007). Essential oil composition of two *Myrtus communis* L . varieties grown in North Tunisia . *The Italian Journal of Biochemistry*, 56(2), 180-186

**Aidi Wannès** W., Mhamdi B. et Marzouk B. (2009). GC comparative analysis of leaf essential oils from two myrtle varieties at different phenological stages . *Chromatographia*, 69, No. 1/2, 145–150.

**Aidi Wannès** W., Mhamdi B., Sriti J., Ben Jemia M., Ouchikh O., Hamdaoui G., Kchouk M. E. et Marzouk B. (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology*, 48 ;1362–1370.

**Aidi Wannès** W., Mhamdi B., Sriti J. et Marzouk B. (2010). Changes in essential oil composition of Tunisian *Myrtus communis* var. *italica* L. during its vegetative cycle . *Journal of Essential Oil Research*, 22, 13-18. Res., 9, 283-

**Aidi Wannès** W., Mhamdi B., Kchouk M.E. et Marzouk B. (2011). Composition of fruit volatiles and annual changes in the leaf volatiles of *Myrtus communis* var . *baetica* in Tunisia. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, LXXXVIII, 123-129

**Aidi Wannès** W. et Marzouk B. (2012). Maturational effect on essential oil yield and composition of *Myrtus communis* var . *Baetica* fruit. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15:5, 847-853

**Akin** M., Aktumsek A. et Nostro A. (2010). Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn . and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 9 (4), 531-535.

**Albert**.Y. Leung, Steven Foster,(1996) *Encyclopedia of Common Naturel Ingredients Used In Foods, Drugs, And Cosmetics*, 2ème edition , Awrley- interscience publication, P 445.

**Angioni** A., BARRA A., CERETI E., BARILE D., COISSON J.D., ARLORIO M., DESSI S., CORONEO V. et CABRAS P., (2004) : Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L., *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 52, pp : 3530 – 3535

**Anonyme 1** .**Société privée**. Additifs alimentaires [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.additifs-alimentaires.net/E392.php>>

**Anonyme 2**,( 1993) : Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : alimentation et nutrition N°28-ISBN - N° 92-5-20534-6.

**Anonyme 3** <http://zhour-abada.e-monsite.com/accueil/presentation/wilaya-de-tebessa.html#page1>

**Anton R.**, Lobstein A., (2005) Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments, et huiles essentielles. Paris et Cachan : Tec&Doc , 522p.

**Aouadhi Samia**, (2010), Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle, étude de 57 plantes recommandées par les herboristes, Faculté de médecine de Tunis Master spécialisé en toxicologie,

**Aprotosoie**, A.C., Spac, A., Hancianu, M., Miron, A., Tanasescu, V.F., Dorneanu, V., Stanescu, U., (2010) . The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foenicul*)

**Arnold,N.**,Valentini, G., Bellomaria,B., Laouer, H.(1997) Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. From Algeria and *R. Officinallis L.* from other countries . J.essent.Oil Res. 9: 167-175

**Aruoma O.I.**, HALLIWELL B., AESCHBACH R., et LÖÖLIGERS J., (1992) : Antioxidant and prooxidant properties of active rosemary constituents: Carnosol and carnosic acid. Xenobiotica, Vol. 22, pp : 257 – 268

**Aruoma**, O. I., Spencer, J. P. E., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., Munoz, A., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B. (1996). An Evaluation of the Antioxidant and Antiviral Action of Extracts of Rosemary and Provencal Herbs . Food and Chemical Toxicology . 34: 449-456.

**Arvy M-P.**, Gallouin F., ( 2003) Epices, aromates et condiments. Paris : Belin, 412 p. um vulgare Mill.). Farmacia 58, 46-53

**Ashnagar A.**, Naseri N. G. et Bayemani A. (2009). Isolation and determination of the major chemical compounds present in essential oil of the leaves of *Myrtus* plant grown in Khuzestan province of Iran. Asian Journal of Chemistry, 21, No. 7, 4969-4975.

**Asllani U.** (2000). Chemical composition of Albanian myrtle oil (*Myrtus communis L.*). Journal of Essential Oil Research, 12 : 2, 140-142

**Atik bekkara**, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. (2007); Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé. 7: 6-11.

**Avezard .C.L**, et Lablee. J, (1990) : Laits et produits laitiers recombines, In LUQUEE F.M, Laits et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 637 pages

**B:**

**Balentine C.W.**, Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. (2006) .The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and during storage of ground beef. *Meat Science*.73, p.413-421

**Barboni T.**,( 2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p26

**Barboni T.**, Venturini N., Paolini J., Desjobert J. M., Chiaramonti N. et Costa J. (2010). Characterisation of volatiles and polyphenols for quality assessment of alcoholic beverages prepared from Corsican *Myrtus communis* berries. *Food Chemistry*, 122 , 1304–1312.

**Belaiche P.**, (1979.) "L'aromatogramme" : Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1. Ed. MALOINE, Paris. 204.

**Bellakhdar J.**, (1997.) La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press. Paris. France

**Beloued A.** (1998). Plantes médicinales d'Algérie, OPU, Alger. 218 p.

**Benhabiles N.E.H.** Et Aït Ammar H., (2001) : Comparative study of Algeria's *Rosmarinus eriocalys* and *Rosmarinus officinalis*. *Perfumer & Flavorist*, Vol. 26, pp : 40 – 48

**Benhegra,H.** Haddad ,Dj.(2013).Extraction et caractérisation des composés phénoliques de *Myrtus communis* L en vue de leur incorporation dans la margarine. Mémoire fin de cycle. Université Abderrahmane MIRA de Bejaia, Algérie. <http://univ-bejaia.dz/dspace/123456789/5579>

**Ben Hsouna A.**, Hamdi N., Miladi R. et Abdelkafi S. (2014). *Myrtus communis* essential oil: Chemical composition and antimicrobial activities against food spoilage pathogens. *Chemistry and Biodiversity* , Vol. 11, 571- 580.

**Benkerroum**, N., Tantaoui-Elaraki, A., El Marrakchi, A.( 1984). Hygienic quality of Moroccan lben. *Microbiol. Alim. Nutr.*, 2 : 199–206

**Benkerroum**. N, Oubel. H, Zahar, M. Dlia. S, et Filali-Maltouf. A, (2000): Isolation of a bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and application to control *Listeria monocytogenes* in Moroccan lben. *J. Appl. Microbiol.* 89: pp 960– 968.

**Berka-Zougali B.**, Hassani A., Besombes C. et Allaf K. (2010). Extraction of essential oils from Algerian myrtle leaves using instant controlled pressure drop technology. *J. Chromatogr. A*, 1217, 6134–6142.

**Berka-Zougali B.**, Ferhat MA, Hassani A., Chemat F. et Allaf K.S. (2012). Comparative study of essential oils extracted from Algerian *Myrtus communis* L. leaves using microwaves and hydrodistillation. *Int J Mol Sci*, 13 : 4673–95.

**Biokar Diagnostics** – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – [www.biokar-diagnostics.com](http://www.biokar-diagnostics.com) (*Biokar Diagnostics, Beauvais, France*)

- Boelens M. H.** et Jimènez R. (1991). The chemical composition of Spanish myrtle leaf oils . Part 1. J. Ess. Oil Res., 3, 173-177
- Boubekri, C.**, Tantaoui Elaraki, A., Berrada M., Benkerroum, N. (1984). Caractérisation physico-chimique du lben marocain. Le Lait., 64 : 436-447.
- Boudier. J. F.** (1990) : Produits frais In « lait et produits laitiers Vache, Brebis, Chèvre » Vol II. Luquet. F. M, Ed. Tec et Doc, Lavoisier Paris, pp 39-56.
- Boukef M.K.**, (1986) . Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Agence de coopération culturelle et technique. Paris
- Boullard , B.** (2001) ; Plantes médicinales du monde réalités et croyances. ESTEM (Ed) Paris .660 p.
- Bousbia.N** ; (2011)« Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires » ; thèse de doctorat ; université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique .
- Boutekdjiret C.**, Belabbes R., Bentahar F., Bessiére J. M., et Rezzoug S. A., (2004) : Isolation of rosemary oils by different processes. J. Essent. Oil Res., Vol. 16, pp : 195–199
- Bouzabata A.**, Boussaha F., Casanova J. et Tomi F. (2010). Composition and chemical variability of leaf oil of *Myrtus communis* from north-eastern Algeria. Natural Product Communications, 5(10),1659-1662.
- Bouzabata A.**, Bazzali, O., Cabral, C., Gonçalves, M.J., Cruz, M.T. et Bighelli, A. (2013a). New compounds, chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity of the essential oil from *Myrtus nivellei* Batt.&Trab., an endemic species of Central Sahara. J. Ethnopharmacol, 149 (3), 613–620.
- Bouzabata A.**, Castola V., Bighelli A., Abed L., Casanova J. et Tomi F. (2013b). Chemical variability of Algerian *Myrtus communis* L.. Chemistry and Biodiversity, 10, 129-137.
- Bouzabata A** , Bighelli A , Abed L , Casanova J et Tomi F (2014) Composition et variabilité chimique de l' *Eucalyptus bosistoana* Huile essentielle du Sahara algérien .communication sur les produits naturels 9(5) : 701-2
- Bouzabata A.**, Cabral C., Gonçalves M. J., Cruz M. T., Bighelli A. et Cavaleiro C. (2015). *Myrtus communis* L. as source of a bioactive and safe essential oil. Food Chem. Toxicol. 75:166-72.
- Božin B.**, Mimica-Dukiš N., Simin N. et Anačkov, G. (2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. J. Agric. Food Chem., 54, 1822-1828.
- Bozin B.**, Mimica-Dukic N., Samojlik I., et Jovin e., (2007 ) : Antimicrobial and antioxidant properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia Officinalis* L., *Laminaceae*) essential oils. J. Agric. Food Chem., Vol. 55, pp : 7879– 7885.
- Brada M.**, Tabti N., Boutoumi H., Wathelet J.P. et Lognay G. (2012). Composition of the essential oil of leaves and berries of Algerian myrtle (*Myrtus communis* L.) . Journal of Essential Oil Research, 24, No. 1, 1-3.

**Bradesi P.**, Tomi F. et Casanova J. (1997). Chemical composition of myrtle leaf essential oil from Corsica (France) . *Essent. Oil Res.*, 9, 283-288.

**Brand-Willams W.**, Cuvellier M. E., Berset C.(1995) : Use of free radical method to evaluate Antioxydant activity , *Lebensen . Wiss . Technol.* 28 :25-30.

**Bulut G.** et Tuzlaci E. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Turgutlu. Manisa, Turkey. *Journal of Ethnopharmacology* 149, p633–647.

### C :

**Celiktas O. Y.**, Hames kocabas e. E., bedir e., verdar sukan f., ozek t., et Baser K. H. C.,( 2007 ): Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis L.*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.*, Vol. 100, pp : 553–559.

**Cevat A. et Musa Ö.**, (2007). Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis L.*) fruits growing wild in Turkey, *Journal of Food Engineering*, 79, 453-458

**Chalchat, J.C.**, Garry, R.P. et Michet, A. (1998). Essential oils of myrtle (*Myrtus communis L.*) of the Mediterranean littoral . *J. Essent. Oil Res.*, 10, 613-617.

**Chalchat J. C.**, Figueredo G., Özcan M. M. et Unver A. (2010). Effect of hydrodistillation and microwave distillation extraction methods on chemical compositions of essential oil of pickling herb and myrtle plants. *South west J Hortic Biol Environ*, 1, No. 2, 133-141.

**Charfi D.** (1995). Effet des eaux usées traités sur les caractéristiques physico-chimiques du sol Et sur la physiologie végétale, *Fac. Sci. De Sfax*.

**Cheftel. J.C.**, et Cheftel. H, (1976) : Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Ed. Tec et Doc Lavoisier, Paris, pp 4-56

**Chryssavgi G.**, Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T. et Michael K.. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus L.* and *Myrtus communis L.*: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107, 1120–1130.

**Couplan F.** (2009). Le régal végétal : Plantes sauvages comestibles. Edition sang de la terre. 189 p.

**Couverchel F-J.** (1839). *Traité des fruits tant indigènes qu'exotiques, ou dictionnaire carpologique.* Paris, ville de Lyon: Imprimerie et librairie de Bouchard Huzard. 619 p.

**CUVELIER M.E.**, RICHARD H. et BERSET C., (1996 ): Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and Rosemary. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, Vol. 73, pp : 645 – 652.

### D:

- Dangles O. (2006).** Propriétés chimiques des polyphénols. Et les polyphénols en agroalimentaire. Ed. TEC et DOC. Lavoisier . Paris.
- Delaveau P, (1982) :** histoire et renouveau des plantes médicinales, Paris albin Michels : éditeur. p348
- Deriu A., Branca G., Molicotti P., Pintore G., Chessa M., Tirillini B., Paglietti B., Mura A., Sechi L.A., Fadda G. et Zanetti S. (2007).** In vitro activity of essential oil of *Myrtus communis* L . against *Helicobacter pylori* . Letters to the Editor/International Journal of Antimicrobial Agents, 30: 562-565
- Derwich E., Benziane Z. and Chabir R, (2011) .** Aromatic and medicinal plants of morocco: chemical composition of essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Juniperu Phoenicea*. International journal of applied biology and pharmaceutical technology . 2, 145-153
- DIAB Y., Auezova L., Chebib H., Chalchat J.C. Et Figueredo G., (2002 ) :** Chemical composition of Lebanese rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil as a function of the geographical region and the harvest time. J. Ess. Oil Res., Vol. 14, pp : 449 - 452.
- DJENANE D., Sanchez-Escalante A., Beltran J.A. Et Roncales P., (2002) :** Ability of  $\alpha$ -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. Food Chem., Vol. 76, pp : 407–415.
- Djeridane A.M. Youcefi B., Nadjemi D. Boutassouna P., Stocker N. (2006).**
- Djilani A. et Dicko A. (2012).** The therapeutic benefits of essential oils . In: Bouayed J, editor. Nutrition, well-being and health . In Tech , 155-78.
- DORMAN H.J.D., Peltoketo A., Hiltunen R. Et Tikkanen M.J., ( 2003) :** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. Food Chem. Vol. 83, pp : 255–262
- Dubois, G., Smorgiewic, Z. (1982).** Inhibition de quelques bactéries pathogènes et potentiellement pathogènes par *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*. *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus helveticus*. Le lait., 62 : 681-687.

### E:

- ELAMRANI A., Zrira S. Et Benjlali B., Berrada .M ,( 2000 ):** A study of Moroccan rosemary oils. J. Ess. Oil Res., Vol. 12, pp : 487 – 495.
- El Marnissi, B., Bennani, L., El oulali lalami, A., Aabouch, M., Belkhou R. (2012).** Contribution a l'étude de la qualité microbiologique de denrées alimentaires commercialisées à Fès-boulemane. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn., 6 : 98-117.
- El Marnissi B ; Belkhou R ; El Ouali lalami A et Bennani L .(2013).** Caractérisation Microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben) .Les technologies de laboratoire ,8(33) .100-111

**Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E. (2008);** Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis L.*) . Extract, blackseed (*Nigella sativa L.*) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chem. 110: 76-82

### F:

**FAO . (1995) :** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection Alimentation et nutrition n°28

**Favier A.(2003) ;** Le stress oxydant interet conceptuel et experimental dans la compréhension des mecanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique 108-117.

**Favier A. (2006) ;** Stress oxydant et pathologiques humaines. Ann Pharm. Fr 64 :390-396

**Faucon M. ( 2012)**Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : fondements & aide à la prescription : monographies : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques. Paris : Sang de la Terre et Médical, 879p.

**Fernandez-Lopez J, Zhi N, Aleson-Carbonell L, PerezAlvarez JA and Kuri V (2005).** Antioxidant and antibacterial activites of natural extracts: application in beef meatballs. Meat scinence.p.69:371-380.

**Fernandez X., Chemat F., Do T.K.T.( 2012)** Les huiles essentielles : vertus et applications. Paris : Vuibert, 159p.

**Fidon C., (1992) .** Le Myrte : Mythe et Réalités Thèse pour le Diplôme D'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de Franche-Comté. Faculté de Médecine et de Pharmacie de Besançon.

**Fioretto A., Papa S., Pellegrino A. et Fuggi A., (2007) .** Decomposition dynamics of *Myrtus communis L.* and *Quercus ilex* leaf litter: Mass loss, microbial activity and quality change. Applied Soil Ecology , 26, 32-40.

**Flamini G., Cioni P.L., Morelli I., Macchia M., Et Ceccarini L., (2002) :** Main Agronomic – Productive characteristics of two ecotypes of *Rosmarinus officinalis L.* and chemical composition of their essential oils. J. Agric. Food Chem., Vol. 50, pp : 3512–3517.

**Flamini G., Cioni P. L., Morelli I., Maccioni S. et Baldini R. (2004).** Phytochemical typologies in some populations of *Myrtus communis L.* on Caprione Promontory (East Liguria, Italy) . Food Chemistry, 85, 599-604

**Fournier P-V. (2010),** Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France. Paris : Omnibus (un département de place des éditeurs), 1047p.

**F.piozzi, J. (1996)** Phytochemistry, , Vol : 6, 146

### G:

**Gachkar**, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli , I. (2007); Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chem. 102: 898-904.

**Georgantelis** D., Ambrosiadis I., Katikou P., Blekas G., Et Georgakis S.A.,( 2007) : Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. Meat Science, Vol. 76, pp : 172 – 181

**Ghasemi E.**, Raofie F. et Mashkouri-Najafi N. (2010). Application of response surface methodology and central composite design for the optimisation of supercritical fluid extraction of essential oils from *Myrtus communis* L. leaves. Food Chem., 126, 1449-1453.

**Gortzi O.**, Lalas S, Chinou I et Tsaknis J (2008). Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. Eur Food Res Technol, 226 : 583-90

**Gosta**, (1995) : CD manuel de transformation du lait, Ed. Tetra pack processing systems, AB. Sweden, pp 215-232.

**Goursaud**. J, (1985) : Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet. F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris, pp 1-4

**Grégoire .A.** (2010), Le grand livre des plantes aromatiques médicinales. Bagneux : Sélection Reader's Digest, 398 p.

**Guerzani**. J, (2003): Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic bacteria in (fermented milk), pp 1-11.

**Guiraud** JP, (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition Dunod. Paris. pp: 136-139

**Gürdal B.** et Kültür Ş. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris . Muğla, Turkey. Journal of Ethnopharmacology 146, p113–126.

**Guy FI.** (2006). Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contaminations par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du massif central. Thèse de Doctorat d'état, université Paul-Sabatier de Toulouse, France, 17p.

### H:

**Hamama**, A., 1992. Moroccan Traditional Dairy Products. In applications of Biotechnology to traditional fermented foods. National Research Council. National Academy Press, Washington D.C. pp. 75-80.

**HAraguchi** H., Saito T., Okamura N. Et Yagi A.,( 1995) : Inhibition of lipid peroxidation and superoxide generation by diterpenoids from *Rosmarinus officinalis*. Planta Med., vol. 61, pp : 333–336.

**Hayder N.**, Abdelwahed A., Kilani S., Ben Ammar R., Mahmoud A., Ghedira K. et Chekir-Ghedira L. (2004). Anti-genotoxic and free radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis* . Mutat. Res., 564, 89–95.

**Heinrich**, M., Kufer, J., Leonti, M., Pardo-de-Santayana , M. (2006) Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences .J Ethnopharmacol .107: 157-160.

**Holley, R.A.**, Patel, D.,( 2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials . Food Microbiology 22, 273-292.

**Houlihan C.M.**, Ho C.T. Et Chang S.S., (1985) : The structure of rosmariquinone: A new antioxidant isolated from *Rosmarinus officinalis L.* J. Amer. Oil Chem. Soc., Vol. 62, pp : 96 – 98.

### I:

**Inan Ö.**, Özcan M. M. et Al Juhaimic F.Y. (2012). Antioxidant effect of mint, laurel and myrtle leaves essential oils on pomegranate kernel, poppy, grape and linseed oils. Journal of Cleaner Production, 27, 151-154.

**INATANI R.**, NAKATANI N. et FUWA H.,( 1983) : Antioxidant effect of the constituents of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and their derivatives. Agric. Biol. Chem., Vol. 47, pp : 52– 528.

### J:

**Jaganmohan R.L.**, Meenakshi S., Raghavan D. Et Abraham K.O., (1997) : Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*): impact of drying on its flavor quality. J. Food Qual., Vol. 21, pp : 107 – 115.

**Janz J. A. M.**, Morel P. C. H., Wilkinson B. H. P., Et Purchas R. H.,( 2007) : Preliminary investigation of the effects of low-level dietary inclusion of fragrant essential oils and oleoresins on pig performance and pork quality. Meat Sci., Vol. 75, pp : 360–365.

**Jeantet Romain**, C.T., GARRIC Gilles, BRULÉ Gérard, (2017). INITIATION A LA TECHNOLOGIE FROMAGERE, lavoisier TEC & DOC ed.

**Jerkovic I.**, Radonic A. et Borcic, I. (2002). Comparative study of leaf, fruit and flower essential oils from Croatian *Myrtus communis L.* during a one-year vegetative cycle. J. Essent . Oil Res., 14, 266-270.

**J.O.R.A.N°69**,( 1993) : Arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, pp16-20.

**J ORA** : n° 70 du 7 novembre (2004). Arrêté 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de préparation des échantillons pour l'essai et les dilutions en vue de l'examen microbiologique.

**Judde A.(2004)** ; Prevention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique ; Mécanismes, conséquences, moyens de mesure, duels antioxydant pour quelles applications .11.PP :414-418.

### K:

**Karou D.**, Dicko M. H. Simpore J. and Traoré A., S., (2005).Antioxydant and antimicrobial Activities of polyphénols from rthnomedicinal plants of Burkina-Fasso.In African journal of biotechnology vol.4 pp. 823-828.

**Khan M.**, Al-Mansour M. A., Mousa A. A. et Alkathlan H. Z. (2014). Compositional characteristics of the essential oil of *Myrtus communis* grown in the central part of Saudi Arabia. Journal of Essential Oil Research, 26, No. 1, 13-18.

**Koukos P. K.**, Papadopoulou K. I. et Papagiannopoulos A. D. (2001). Chemicals from Greek Forestry Biomass : Constituents of the leaf oil of *Myrfus communis L.* grown in Greece. J. Essent. Oil Res., 13, 245-246.

**Kohen R.** and Nyska A.(2002) :Invited Review ;Oxydation Of Biological Systems :Oxydative Stress Phénomena , Antioxydants, Redox Reactions, and Méthods for Their Quantication.Toxicol. Path, 30 ;620-650.

### L:

**Lacoste S.** (2006). Les plantes qui guérissent: les secrets de la phytothérapie. Paris: LEDUC, 399.

**Larousse** des plantes médicinales. (2013), Paris : Larousse, 335p.

**Larran S.**, RINGUELET J.A., CARRANZA M.R., HENNING C.P., RE M.S., CERIMELE E.L. et URRUTIA M.I.,( 2001) : In vitro fungistatic effect of essential oils against *Ascosphaera apis*. J. Ess. Oil Res., Vol. 13, pp : 122 – 124.

**Laurent BM.**,( 1980). L'huile de myrte Les huiles essentielles, Séduits Publishing Corp, Carol Stream, Etats-Unis, 45.

**Le Floc'h E.** (1983). Contribution à une étude ethnobotanique de la Flore Tunisienne. Tunisia: Imprimerie Officielle de la République Tunisienne.

**Li, C.**, Oldham, C.D., May, S.W.N. (1994). N-Dimethyl-1,4-phenylenediamine as an alternative reductant for peptidylglycine. Alpha-amidating mono oxygenase catalysis.Biochem.J.300 :31-36.

**Luquet F.M.** (1990). Les produits laitiers. Deuxième édition. Paris : Lavoisier. p45.

**Luquet. F. M**, De Roissant. H, (1994) : Les bactéries lactiques, tome 2, Ed. LORICA. Uriage, 571 pages

**Luquet F.M** et Corrieu G,( 2005) : Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Tec et Doc, Lavoisier. Paris 307p.

### M:

**Makhloufi Ahmed** ,(2009) . Thèse présentée à l'université Aboubaker belkaid faculté des sciences laboratoires produits naturels par MR Makhloufi Ahmed pour obtenir le grade de doctorat d'état en biologie.

**Martini.M.C** ; ( 2011)« Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie » ; Edition Lavoisier ; pp 358.

**Masatoshi H.** Et Hiroaki K., (1997) : Repellency of rosemary oil and its components againts the Onion aphid, Neotoxoptera formosana. Appl. Entomol. Zoot., Vol. 32, pp : 3303 - 3310.

**McCormick K. A.**, Olivares J. S., Fisher R. A., Nahir T. M., Et Phelps C. L., (2006) : Effect of sample preparation on the amounts of  $\alpha$ -pinene and verbenone extracted from rosemary. J. Essent. Oil Res., Vol. 18, pp : 478–480.

**Messaoud C.**, Béjaoui A. et Boussaid M. (2011). Fruit color, chemical and genetic diversity and structure of *Myrtus communis* L. var. italica Mill. morph populations. Biochemical Systematics and Ecology, 39, 570-80.

**Messaoud C.** et Boussaid. M. (2011). *Myrtus communis* Berry color morphs : A comparative analysis of essential oils, fatty acids, phenolic compounds and antioxidant activities. Chemistry and Biodiversity, Vol. 8, 300-310.

**Messaoud C.**, Laabidi A. et Boussaid M. (2012). *Myrtus communis* L. infusions: the effect of infusion time on phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. J Food Sci, 77 (9) : 941-7.

**Meziane T.**, Bodineau L, Retiere C, Thournelin G (1997) The use of lipid markers to define sources of organic matter in sediment and food web of the intertidal salt marsh-flat ecosystem of Mont-Saint-Michel Bay, France. J Sea Res 38:47-58

**Meziti A.**(2009) Activité antioxydante des extraits de *Nigella sativa* L etude in vitro et in vivo ,mémoire de magister en biochimie appliquée,option :molécules bioactives, université EL HADJ LAKHDAR Batna pp 71.

**Michel M** ; Romain J ; Gerard B et Pierre S,( 2000) : les produits industriels laitiers, Edition technique et documentation.

**Migliore, J.** (2011). Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre *Myrtus* en méditerranée et au sahara. Thèse de doctorat, Université Paul Cézanne d'Aix-Marseille III. Pp.66-117.

**Mimica-Dukiš N.**, Bugarin D., Grboviš S., Mitiš-Šulafiš D., Vukoviš-Gačiš B., Orčiš D., Jovin E. et Couladis. M. (2010). Essential oil of *Myrtus communis* L . as a potential antioxidant and antimutagenic agents. Molecules, 15, 2759-2770.

- Minichini. F**, Loizzo M.R. , Bonesi F.,Luca D., Statti G., A., Cindio B., minichi F., Tundis R.,(2011) / Phytochemical profile ,antioxydant, anti-inflammatory and hypoglycémie potentiel of hydroalcoholic extracts from *Citrus media L.* cv diamante flowers,leaves and fruits at two maturity stages ;*Food and Chemical Toxicology* ;49 :149-1555.
- MOIÑO M. I.**, Martinez C., Sotomayor J. A., Lafuente A., Et Jordan M. J., (2008) : Polyphenolic transmission to segureño lamb meat from ewes dietary supplemented with the distillate from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves. *J. Agri. Food Chem.*, Vol. 56, pp : 3363–3367.
- Moradi M.**, Kaykhahi M., Ghiasvand A. R., Shadabi S. et Salehinia A. (2012). Comparison of Headspace Solid-phase Microextraction, Headspace Single-drop Microextraction and Hydrodistillation for Chemical Screening of Volatiles in *Myrtus Communis L* . *Phytochem. Anal.*, 23, 379-386
- Mothana R. A. A.**, Kriegisch S., Harms M., Wende K. et Lindequist U. (2011). Assessment of selected Yemeni medicinal plants for their in vitro antimicrobial , anticancer and antioxidant activities. *Pharmaceutical Biology*, 49 (2) : 200–210.
- Mulas M.**, Francesconi A. H. D. et Perinu B. (2002b). Myrtle (*Myrtus communis L.*) as a new aromatic crop: cultivar selection. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9, 127–131
- Muzon Ozcan.**(1999) Antioxydant Activity of Rosmary, 50(50), P: 355. **Mulas M.**, Francesconi A. H. D., Perinu B. et Fadda A. (2002a). ‘Barbara’ and ‘Daniela’: Two cultivars for myrtle berries production. *Acta Horticulturae*, 576, 169

### N:

- Nakatani N.** Et Inatani R.,( 1984) : Two antioxidative diterpenes from Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) and a revised structure for rosmanol. *Agric. Biol. Chem.* Vol. 48, pp : 2081–2085
- Noelli G. P.** (1997) ; Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol,pharmacol* ;48 :517-527.

### O:

- O’grady M. N.**, Maher M., Troy D. J., Moloney A. P., Et Kerry, J. P., (2006) : An assessment of dietary supplementation with tea catechins and rosemary extract on the quality of fresh beef. *Meat Sci.*, Vol. 73, pp : 132–143.
- O.P.U. NT.** WS. Benston, (1984) *Fleurs algeriennes* . P 54.
- Ouadghiri M**, Vancanneyt M, Vandamme P, Naser S., Gevers G, Lefebvre K. and Swings J, (2009). Identification of lactic acid bacteria in Moroccan raw milk and traditionally Fermented skimmed milk l’ben. *J. Appl. Microbial.* 106, pp486–495.

**Owlia P.**, Sadari H, Rasooli I et Sefidkon F. (2009). Antimicrobial characteristics of some herbal oils on *Pseudomonas aeruginosa* with special reference to their chemical compositions . Iran J Pharm Res, 8 (2): 107–14.

**Owlia P.**, Moein Najafabadi L., Mousavi Nadoshan S., Rasooli I. et Sadari H. (2010). Effects of sub-minimal inhibitory concentrations of some essential oils on virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* . Journal of Essential Oil Bearing Plants, 13:4, 465-476.

**Özek T.**, Demirci B. et Baser K.H.C. (2000). Chemical composition of Turkish myrtle oil . J. Essent. Oil Res., 12, 541-544. -

### P:

**Parry E. J.**, (1921) : The chemistry of essential oils and artificial perfumes (4th ed.). London: Scott Greenwood & Son.

**Pereira P. C.**, Cebola M. J. et Bernardo-Gil M. G. (2009). Evolution of the yields and composition of essential oil from portuguese myrtle (*Myrtus comunis L.*) through the vegetative cycle. Molecules, 14, 3094-3105

**Pezhmanmehr M.**, Dastan D., Ebrahimi S. N. et Hadian J. (2010). Essential oil constituents of leaves and fruits of *Myrtus communis L.* from Iran . Journal of Essential Oil Bearing Plants, Vol 13, Issue 1, 123-129.

**Pirbalouti A. G.**, Broujeni V. N., Momeni M., Poor F. M. et Hamedi B. (2011). Antibacterial activity of Iranian medicinal plants against *Streptococcus iniae* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Arch. Biol. Sci., Belgrade, 63 (1), 59-66.

**Ponce A. G.**, Roura S. I., Del Valle C. E. Et Moreira M. R.,( 2008) : Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: In vitro and in vivo studies. Postharv. Bio. Techno., Vol. 49, pp : 294– 300

**Porte A.**, De O., Godoy R.L., Lopes D., Koketsu M., Goncalves S.L. et Torquillo H.S., (2000) : Essential oil of *Rosmarinus officinalis L.* (rosemary) from Rio de Janeiro, Brazil. J. Ess. Oil Res., Vol. 12, pp : 577 – 580.

**Pottier-Alapetite G.**, (1979). Flore de la Tunisie. Angiospermes, dicotylédones dialypétales. Imprimerie officielle de la république Tunisienne Tunis: Publications Scientifiques Tunisiennes, 1, 654.

**Pousset J.L.**, Rey J. P., Levesque J., Coursaget P. et Galen F.X. (1993). Hepatitis B surface antigen (HBs Ag) inactivation and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition in vitro by *Combretum glutinosum* per . (Combretaceae), extracts. Phytotherapy research, 7(1), 101-102.

### Q:

**Quézel P.** et Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed CNRS, Paris, France, p. 636.

**Quezel, P ; et Santa, S.** (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II Edition. CNRS. Paris

### R:

**Rasooli, I.,** Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M. B.(2008) Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. International J of Food Microbiology.122:135-139.

**Richheimer S.L.,** Bernart M.W., King G.A., Kent M.C. Et Bailey D.T.,( 1996). Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from Rosemary . J. Am. Oil Chem. Soc. Vol. 73, pp : 507–514.

**Rosato A.,** Vitali C., De Laurentis N., Armenise D. et Antonietta Milillo M. (2007). Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. Phytomedicine,14 : 727–32

### S:

**Sacchetti,** et Ses Collaborateurs (2005). Growing in Argentina. Bioresource Technology. (In press).

**Sanchez-Escalante A.,** Djenane D., Torrescano G., Beltran J.A., et Roncales P., (2001) : The effects of ascorbic acid, taurine, carnosine and rosemary powder on colour and lipid stability of beef patties packaged in modified atmosphere. Meat Sci., Vol. 58, pp : 421–429.

**Sargin S.,** Akçicek E. et Selvi S. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants used by the local people of Alaşehir (Manisa) in Turkey. Journal of Ethnopharmacology 150, p860–874.

**Sarl T.** (2007). La boutique en corse, les plantes adaptées aux jardins et espaces verts varois. France: régis rostein. Pp. 4-8.

**Savikin-Fodulovic** Katarina P., Bulatovic Vanja M., Menkovic Nebojsa R. et Grubisic Dragoljub V. (2000). Comparison between the essential oil of *Myrtus communis* L. obtained from naturally grown and in vitro plants. Journal of Essential Oil Research, 12:1, 75-78.

**Schneider A.**( 2002) Arbres et arbustes thérapeutiques : les connaître, les protéger, les utiliser. Montréal : Ed. de l'Homme, 384p.

**Sebranek J. G.,** Sewalt V. J. H., Robbins K. L., Et Houser T. A.,( 2005) : Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. Meat Sci., Vol. 69, pp : 289–296.

**Senatore F.**, Formisano C., Napolitano F., Rigano D. et zcan M. (2006). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Myrtus communis L.* growing wild in Italy and Turkey . Journal of Essential Oil Bearing Plants, 9:2, 162-169.

**Serrano E.**, Palma J., Tinocco T., Venancio F. Et Martins A., (2002) : Evaluation of the essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) from different zones of “Alentejo” (Portugal). J. Ess. Oil Res., Vol. 14, pp : 87 – 92.

**Shylaja M.R.**, Et Peter K.V., (2004) : The functional role of herbal spices. In: Peter, K.V. ed. Handbook of herbs and spices, Vol. 2. England: Woodhead Publishing Limited.

**Sohal R.**, S., Mockett R., J., and Orr W., C.,(2002) ;Mechanisms of aging an appraisal of the oxydative stress hypothesis.Free Radical Biol.Med ;33 :575-586.antixdants antiradicals and Antimicrobials in foods. Food Chem.91 :621-632.

**Sotelo-Felix J.I.**, Martinez-Fong D., Muriel P., Santillan R.L., Castillo D. Et Yahuaca P., (2002) : Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis (Lamiaceae)* in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. J. Ethanopharmacol. Vol. 81, pp : 145–154.

**Stoutz. P. W**, Voisin. J. L, (1986) : Lait acidifiés in « Lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre » Vol 1, Ed. Tec et Doc Lavoisier, 441 pages.

**Sumbul S.**, Ahmad M. A., Asif M., Saud I. et Akhtar M. (2010). Evaluation of *Myrtus communis Linn. berries* (common myrtle) in experimental ulcer models in rats. Hum Exp Toxicol, 29(11) : 935-944

**Sumbul, S.**, Aftab Ahmad, M., Asif, M. et Akhtar, M. (2011). *Myrtus communis Linn.* - A review. Indian Journal of Natural Products and Resources, 2, 395-402.

### T:

**Takenaka M.**, Watanabe T., Sugahara K., Harada Y., Yoshida S. Et Sugawara F., (1997) : New antimicrobial substances against *Streptomyces scabies* from Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*). Biosci. Biotechnol. Biochem. Vol. 61, pp : 1440 – 1444.

**Tamagnini. LM**, Sousa. BG, Gonzlez. RD, Budde. CE,( 2006): Microbiological characteristics of Crotting goat cheese made in different seasons. Small Ruminant Research, pp 175 –180 .

**Tantaoui-Elaraki, A.**, Berrada, M., El Marrakchi, A., Berramou, A. (1983) . Etude sur le leben marocain. Le Lait., 63 : 230–245.

**Tassou C.**, DrosinosE. H., Nychas G.-J. E.( 1995). Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 jC and 10 jC. Journal of Applied Bacteriology, 78, pp. 593– 600

**Tsai, P.**, Tsai, T., Ho, S. (2007), in vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. Food Chem. (in press).

**Tuberoso C. I. G.**, Barra A., Angioni A., Sarritzu E. et Pirisi F. M. (2006). Chemical composition of volatiles in Sardinian myrtle (*Myrtus communis L.*) alcoholic extracts and essential oils . J. Agric. Food Chem., 54, 1420-1426.

**Tucker A.O.**, Et Maciarello M. J., (1986 ): The essential oils of rosemary cultivars. Flavour Fragrance J., Vol. 1, pp : 137–142

### V:

**Vignola. C. L.**, (2002) : Science et Technologie du Lait : Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada, 600 pages.

**Viuda-Martos M.**, Sendra E., Pérez-Alvarez J. A. et Fernández-López J. (2011). Identification of flavonoïd content and chemical composition of the essential oils of Moroccan herbs: myrtle (*Myrtus communis L.*), rockrose (*Cistus ladanifer L.*) and Montpellier cistus (*Cistus monspeliensis L.*). Essent. Oil Res., 23, 1-9.

### W:

**Wang W.**, WENG X. et CHENG D., (2000) : Antioxidant activities of natural phenolic components from *Dalbergia odorifera* T. Chen. Food Chem., Vol. 71, pp : 45 –49.

**Wang W.**, Wu N., Zu Y.G. et Fu YJ. ( 2008 ) Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis L.* essential oil compared to its main components. Food Chemistry ; 108 ; 1019-22

**Wayner, D. D. M.** Burton, G., w., Ingold, K. U. et Locke, S. (1985).Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxydant capacity of human blood plasma By controlled peroxydation .FEBS Letters,187 :33-37.

**Weckesser S.** ,Engel K ,Simon-haarhaus B ,Wittmer A ,Pelz K ,Schempp CM (2007). Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeast with dermatological relevance. Phytomedicine;508-16

**Weyerstahl P.** et Marschall H. (1994). Constituents of the essential oil of *Myrtus communis L.* from Iran. Flavour and Fragrance Journal, Vol. 9, 333-337.

**Wichtl M.**, Anton R., Lassechere-Bernard M. ( 2003 ) Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2e éd. française (4e éd. allemande). Paris : Tec et Doc, 692p.

**Winston, G.,W.**, Regoli , F.,Dugas, A.J, Fong ,J., H., Blanchard., K., A., (1998). A rapid gas Chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxydants and biological Fluids .Free Radical Biol Med,24 :480-493.

**Y:**

**Yadegarinia D.**, Gachkar L., Rezaei M. B., Taghizadeh M., Astaneh S. A. et Rasooli I. (2006). Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita L.* and *Myrtus communis L.* essential oils. *Phytochemistry* 67: 1249-1255.

**Yesil Celiktas O.**, Hames Kocabas E.E., Bedir E., Vardar Sukan F, Ozek T., Baser K.H.C ( 2007) Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry* ; 100 ; 553-559

**Yokozawa T.**, Oura, H., Sakanaka, S., Ishigaki, S. et Kim, M. (1994). Depressor effect of tannin in green tea on rats with renal hypertension. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 58, 855-858.

**Z :**

**Zanetti S.**, Cannas S., Molicotti P., Bua A., Cubeddu M., Porcedda S., Marongiu B. et Sechi L.A. (2010). Evaluation of the antimicrobial properties of the essential oil of *Myrtus communis L.* against clinical strains of *Mycobacterium* spp. *Interdisc Perspect Infect Dis*, 1-4.

**ZHENG W.** et **WANG S.Y.**, (2001) : Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 49, pp : 5165 – 5170.

**Zinedine, A.**, Faid, M., Benlemlih, M., Simard, R. E., Lefebvre, G. (1996). Microflores d'intérêt hygiénique et d'altération des produits laitiers traditionnels marocains [Microflora with sanitary and spoilage impact in Moroccan traditional dairy products]. *Société informations études et édition en nutrition et alimentation* ., 14 : 331-338.

**Zivanovic S.**, Chi S., Et Draughon A. F., (2005) : Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *J. Food Sci.*, Vol. 70, pp : M45–M51.

**Ziyyat A.**, Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M. et Benjelloun W.(1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *J Ethnopharmacol*, 58 : 45-54

**Zomorodian K.**, Moein M., Lori Z. G., Ghasemi Y., Rahimi M. J., Bandegani A., Pakshir K., Bazargani A., Mirzamohammadi S. et Abbasi N. (2013). Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil from *Myrtus communis* leaves . *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16:1, 76-84.

**Zoubeidi.C** ; ( 2004 ) « Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis .Labiatea* »; thèse de magistère ; université de Ouargla.

# Annexes

## ANNEXE I

**1. Préparation des dilutions :**

Un volume de 1ml de l'échantillon (l'ben) a été homogénéisé avec 09 ml d'eau peptonée . Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond à la dilution 1/10 ou  $10^{-1}$ .

Ensuit un volume de 01 ml de la dilution (10-1) est prélevé aseptiquement à l'aide d'une micropipette et introduite dans un tube à essai contenant 09 ml d'eau de peptone . On obtient ainsi la dilution  $10^{-2}$  et ainsi jusqu'à la dilution  $10^{-10}$ . (**Guiraud, 2003 ; JORA n° 70 du 7 novembre 2004 ; Arrêté 11 septembre 2004**).

**2. Dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux :**

Le principe consiste à compter les colonies caractéristiques des coliformes totaux qui se développent en 24 h à 30°C et les coliformes fécaux qui se développent en 24 h à 44°C, sur milieu d'énumération sélective gélose DCL 1% puis à confirmer le nombre de colonies par fermentation du lactose dans le milieu (*Biokar Diagnostics, Beauvais, France*).

Un volume de 2 ml de la dilution mère est mélangés à approprié 15 ml de milieu maintenu à 45°C, dans deux séries des boîte de Pétri. Puis mélanger avec précaution par rotation lente en forme de huit et laisser les boites se solidifier.

La première série a été incubée à une température de 30°C pendant 24 heures pour la recherche de coliformes totaux et la deuxième série est incubée à 44°C pendant 24 heures pour la recherche de coliformes fécaux.

Les coliformes donnent des colonies rouges avec halo de précipité d'acide biliaire, dont le diamètre et supérieur à 0,5 mm. Le nombre de bactéries coliformes par gramme est donné par la formules suivante ;

$$N = \frac{C}{1,1} \times 10^n$$

N : nombre de coliformes

C : somme de colonies ;

n : facteur de dilution.

### 3. Recherche des *Staphylococcus aureus* :

Ce germe Gram positif halophile est souvent isolé ou dénombré dans des milieux fortement salés (e.g. Milieu Chapman). Le nombre de staphylocoques tolérés dans les aliments est généralement peu élevé, ce qui nécessite l'utilisation de milieux liquides d'enrichissement ; dans ce cas le milieu de GIOLOTTI CANTONI (GC) (CUQ, 1993).

Un volume de 1 ml de la solution mère de chaque échantillon a étéensemencé dans 9ml de milieu GC dans des tubes à essai. L'incubation a été faite à une température de 37°C pendant 24 heures. Il y a un noircissement de milieu si les *Staphylococcus aureus* sont présent.

### 4. Recherche des *Salmonelles* :

La recherche des salmonelles se fait en suivant trois étapes qui sont : le pré-enrichissement, l'enrichissement et l'isolement sur un milieu sélectif (CUQ, 1993). Dans ce cas le recherche été fait dans le milieu d'enrichissement sélectif Bouillon SFB sélénite- cystine

Un volume de 1 ml de la solution mère de chaque échantillon a étéensemencé dans 9ml de milieu bouillon SFB s /c dans des tubes à essai. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 heures. Il y a blanchement de milieu si les Salmonelles sont présent.

### 5. Appareillage et produits chimiques :

#### a. Appareillage :

Réfrigérateur, Autoclave, Etuve (Mettler) réglée à différentes températures à 28 °c , 30°c, d'autre à 44°c ,d'autre à 37°c Micropipette, Bécher, Pipette 10 ml, Burette , bouteilles en verre stérile , flacon stérile ,erlenmeyer , boîte de pétri , tube à essai , compteur de colonies , **hydrodistillateur de type Clevenger**

#### b. Produits chimiques :

-Hydroxyde de sodium NaOH (0.1N), eau distillé.

-Phénolphtaléine 1 %.

- eau peptone

#### c. Milieu de culture :

Gélose DCLA , bouillon SFB s /c, bouillon Giolitti

## 6. Composition des milieux de culture :

### \* Bouillon Giolitti cantoni staphylococci broth :

Tryptone.....	10 g
Extrait de viande.....	5g
Extrait de levure.....	5g
Chlorure de lithium.....	5g
Mannitol.....	20g
Chlorure de sodium.....	5g
Glycine.....	1,2g
Pyruvate de sodium.....	3g
Eau distillée.....	1000 ml

Ph : 6,9 ±0,2

### \* Gélose lactosée au désoxycholate agar :

- Peptone pepsique de viande .....	10,00 g
- Lactose .....	10,00 g
- Désoxycholate de sodium.....	0,50 g
- Chlorure de sodium.....	5,00 g
- Citrate de sodium.....	2,00 g
- Rouge neutre .....	0,03 g
- Agar agar bactériologique.....	15,00 g

Ph : 0,2±7,1

### \* Bouillon sélénite au cystéine SFB :

Tryptone .....	5g
----------------	----

---

Lactose.....	4g
Phosphate disodique .....	10g
Sélénite .....	4g
Hydrogénosélénite de sodium .....	4g
Cystéine .....	100mg
Eau distillée .....	1L

PH : 7,0

## 7. Compositions des solutions de titrage :

### \* Eau peptone :

NaCl .....	9g
Peptone.....	1g
Eau distillée.....	1000ml

Autoclaver 20 minute à 120 °C ; pH=7

### \* La phénolphtaléine :

Phénolphtaléine.....	1g
Alcool éthylique à 95°.....	100ml

### \* Hydroxyde de sodium (NaOH) à 1/9 N :

Hydroxyde de sodium .....	40g
Eau distillée.....	1000ml

## ANNEXE II

### FICHE DE TEST SENSORIELLE

N° Dégustateur :

NOM :

PRENOM :

DATE :

Veillez examiner et goûter chaque échantillon, et donnez une note de 1 à 10 selon l'intensité du caractère.

		Echantillon			
		T 1(-)	T2	T3	T4
Odeur	Lactique				
	Végétale				
	Animale				
	Non spécifique				
Saveur	Sucré				
	Acide				
	Amère				
Texture	Visqueux				
	Liquide				
	Epais				
Persistance	Agréable				
	Très typique				
	Intense en gout				
	Arome				
Appréciation générale					

## ANNEXE III



**Photos 11:** les ferments lactiques mésophilesensemencés dans l’ben



**Photo 12 :** Compteur colonies

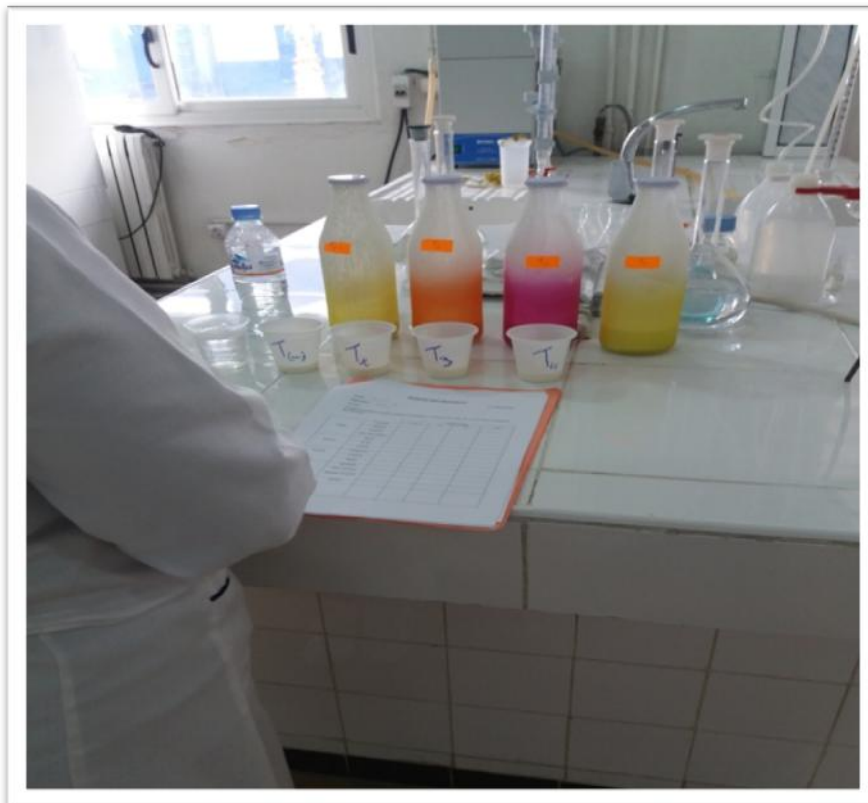


Photo 13: Analyse sensorielle effectué par les dégustateurs

Association Tunisienne des Sciences Biologiques	الجمعية التونسية للعلوم البيولوجية	Tunisian Association of Biological Sciences
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Membre de l'ICBMB</li> <li>• Membre de la FASBMB</li> <li>• Membre de l'U'SB</li> <li>• Membre de la FEBS</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Member of the ICBMB</li> <li>• Member of the FASBMB</li> <li>• Member of the U'SB</li> <li>• Member of the FEBS</li> </ul>

### CERTIFICATE OF ATTENDANCE

**This is to certify that**  
 Name : BENABDALLAH  
 Surname : AMINA

**Participated and presented the communication:**

Entitled : EVALUATION DES POLYPHÉNOLS TOTAUX ET DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DE CINQ ESPÈCES : ARTEMISIA HERBA ALBA ASSO, MARRUBIUM VULGARE L., MENTHA PIPERITA L., THYMUS VULGARIS L. ET ROSMARINUS OFFICINALIS L.

Authors : BENABDALLAH, AMINA, HAOU, SIHEM., BOUMENDJEL, MAHIEDDINE., BOUDJEMAA, LASMAR., TAIR, HOUSSEM., ACHOURI, SIHEM., ZEMOURI, SABRINA., CHAOUA, SELMA.

Type : Poster

at the 30th international congress of the Tunisian Society of Biological Sciences (ATSB) held in Sousse, Tunisia on 25-28 march 2019.

ATSB Congress Organization Board  
 The secretary general  
 Association Tunisienne des Sciences Biologiques  
 الجمعية التونسية للعلوم البيولوجية

ATSB International Union of Biochemistry and Molecular Biology - FASBMB (Federation of African Societies of Biochemistry and Molecular Biology) - ATSB International Union of Biological Sciences - FEBS (Federation of European Biochemical Societies)