

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique**

**Université Abderrahmane Mira  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences alimentaires**

**MEMOIRE DE FIN DE Cycle**

**En vue de l'obtention du diplôme master  
Biotechnologies, Agro-Ressources, Aliment, Nutrition  
Industrie laitière**

***Etude de l'activité antioxydante  
de fromages fondus***

**Réalisé par:**

**M<sup>elle</sup> Bouslimane Zina**

**M<sup>elle</sup> Yahiaoui Hayat**

**Membres du jury :**

**Présidente : Mme Guerfi F.**

**Promotrice : Pr Louaileche H.**

**Examinatrice : Mme Benmeddoure.**

**Examineur : Mr Cherifi Ch.**

**Promotion 2012-2013**



## *Remerciements*

Louange à **Allah**, seigneur de l'univers, le tous puissant et le miséricordieux, qui nous a inspiré et comblé de bienfaits, on lui rend grâce

Nous tenons à exprimer notre gratitude et notre profonde reconnaissance au professeur **LOUAILECHE H** qui a accepté de nous guider dans ce travail, nous a soutenu et encouragé avec une patience sans égale.

Notre gratitude va également à:

**Mme Benmeddoure** et **Mme Guerfi F** et **Mr Cherifi ch**, membres du jury, qui donneront à notre travail une valeur ajoutée à travers leurs recommandations et leurs remarques,

**M<sup>f</sup> Chaalal**, pour le suivi lors de notre stage au laboratoire,  
**M<sup>elle</sup> Boukhanoufe Samia**, qui nous a encouragé et soutenu dans les moments les plus difficiles ;

**Layla et fairouz**

**Mme Bessati Naima** pour sa disponibilité.

Merci à tous.



## Dédicace



Je tiens à dédier ce travail à :

- Ma mère la perle la plus chère, La source de tous mes espoirs
- Mon père, La base de toute ma carrière ;  
Je vous remercie à ma manière, Car vous êtes les plus chers qui existent sur terre.ont  
Que le dieu vos protège.
- Mon cher ami Boualem qui nous a vraiment aidés a réalisant ce travail.
- Mes chers frère Samir, Yahia, lyes et ma sœur lynda
- Mes chers amies : Zina, Zineb, Sihem, Tafaith, Fahima Chahina et Rekaia.

HAYAT



## Dédicace



Je tiens à dédier ce travail à :

- Ma mère la perle la plus chère, La source de tous mes espoirs
- Mon père, La base de toute ma carrière ;  
Je vous remercie à ma manière, Car vous êtes les plus chers qui existent sur terre.

Que le dieu vos protège.

- Mon cher ami Ali, qui m'a motivé et soutenu tout au long de ce travail.
- Mes chers frère Massi et Zaki
- Mes sœurs Silia, Ahlam et son mari, Ferial et son mari ainsi pour mes trésors Abderraouf et Ranis
- Toi khalti Faiza la lune de ma vie que le dieu la protège ;
- Mes chers amies : Hayat, Basma, Chabha, Ibtissam,.

ZINA



---

## Sommaire

Listes des tableaux et des figures.....	.....
Liste des abréviations.....	.....
Introduction.....	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>I. Les fromages.....</b>	<b>2</b>
<b>Définition.....</b>	<b>2</b>
<b>I.2. Classification.....</b>	<b>2</b>
<b>I.3. Le fromage fondu.....</b>	<b>2</b>
<b>I.3.1.Définition.....</b>	<b>2</b>
<b>I.4. Composition et valeur nutritionnelle.....</b>	<b>2</b>
<b>I.5. Intérêts de la consommation des fromages.....</b>	<b>4</b>
<b>II. Radicaux libres et antioxydants.....</b>	<b>5</b>
<b>II.1.Le stress oxydatif.....</b>	<b>5</b>
<b>II.2.Les radicaux libres.....</b>	<b>5</b>
<b>II.3.Les espèces réactives à l’oxygène.....</b>	<b>5</b>
<b>II.3.1.Le peroxyde d’hydrogène.....</b>	<b>5</b>
<b>II.3.2. Le radical hydroxyle HO<sup>•</sup>.....</b>	<b>6</b>
<b>II.3.3. L’anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>).....</b>	<b>6</b>
<b>II.4.Espèces réactives de l’azote.....</b>	<b>6</b>
<b>II.4.1. Peroxynitrite (OONO<sup>-</sup>).....</b>	<b>6</b>
<b>II.4.2. Monoxyde d’azote (NO<sup>•</sup>).....</b>	<b>6</b>
<b>II.5. Les cibles des espèces réactives à l’oxygène.....</b>	<b>6</b>
<b>II.6. Les antioxydants.....</b>	<b>7</b>
<b>II.6.1.Antioxydants enzymatiques.....</b>	<b>7</b>
<b>II.6.1.1.La glutathion peroxydase.....</b>	<b>7</b>
<b>II.6.1.2.La superoxyde dismutase (SOD).....</b>	<b>7</b>
<b>II.6.1.3.La catalase.....</b>	<b>8</b>
<b>II.6.2. Antioxydants non enzymatiques.....</b>	<b>8</b>
<b>II.6.2.1. Les vitamines.....</b>	<b>8</b>
<b>II.6.2.2. Les polyphénols.....</b>	<b>8</b>
<b>II.6.2.3. La lactoferrine.....</b>	<b>9</b>
<b>II.6.2.4. Les oligo-éléments.....</b>	<b>9</b>

*Matériels et méthodes*

1. Echantillons.....	10
2. Détermination de taux d'humidité.....	10
3. Dosage des protéines.....	10
4. Dosage des polyphénols totaux .....	11
5. Mesure de l'activité antioxydante.....	12
5.1. Détermination de l'activité scavenger du radical DPPH.....	12
5.2. Pouvoir réducteur.....	12
5.3. Détermination l'activité scavenger de peroxyde d'hydrogène.....	13
5.4. Test au phosphomolybdate d'ammonium.....	14
6. Analyse statistique.....	15

*Résultats et discussion*

1. Taux d'humidité.....	16
2. Teneurs en protéines.....	16
3. Teneurs en polyphénols totaux.....	17
4. Activité antioxydante des fromages.....	19
4.1. Activité antiradicalaire.....	19
4.2. Pouvoir réducteur.....	20
4.3. Activité scavenger de peroxyde d'hydrogène.....	21
4.4. Test au phosphomolybdate d'ammonium.....	22
5. Effet de la concentration des extraits de fromage R sur l'activité des antioxydants...23	
5.1. Activité antiradicalaire.....	23
5.2. Pouvoir réducteur .....	23
6. Corrélation entre les teneurs en polyphénols et les activités antioxydantes.....	24
Conclusion.....	27
Référence bibliographique	

### *Liste des tableaux*

<b>Tableau I</b>	Voies technologiques et classes de fromage	3
<b>Tableau II</b>	Taux d'humidité des fromages analysés	16
<b>Tableau III</b>	Teneurs en protéines des lots de fromages analysés	17
<b>Tableau IV</b>	Teneur en polyphénols totaux des lots de fromages analysés	18
<b>Tableau V</b>	Activité antiradicalaire (%) des lots de fromages analysés	19
<b>Tableau VI</b>	Pouvoir réducteur des lots de fromages analysés	21
<b>Tableau VII</b>	Activité scavenger de peroxyde d'hydrogène des lots de fromages analysés	22
<b>Tableau VIII</b>	Activité antioxydante (test au phosphomolybdate) des lots de fromages	23

### *Liste des figures*

<b>Figure 1</b>	Courbe d'étalonnage de dosage des protéines.	11
<b>Figure 2</b>	Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux	12
<b>Figure 3</b>	Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur	13
<b>Figure 4</b>	Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante «phosphomolybdate d'ammonium».	14
<b>Figure 5</b>	Teneurs en protéines des fromages	17
<b>Figure 6</b>	Teneurs en polyphénols totaux des fromages	18
<b>Figure 7</b>	Activité antiradicalaire des extraits de fromage	19
<b>Figure 8</b>	Pouvoir réducteur des différents extraits des fromages	20
<b>Figure 9</b>	Activité scavenger du peroxyde d'hydrogène	21
<b>Figure 10</b>	Activité antioxydante "phosphomolybdate d'ammonium" des fromages	22
<b>Figure 11</b>	Effet de la concentration de l'extrait sur l'activité antiradicalaire du fromage	23
<b>Figure 12</b>	Effet de la concentration de l'extrait de fromage sur le pouvoir réducteur	24
<b>Figure 13</b>	Corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité antiradicalaire des fromages	25
<b>Figure 14</b>	Corrélation entre la teneur en polyphénols et le pouvoir réducteur des fromages	25
<b>Figure 15</b>	corrélation entre les teneurs en polyphénols et l'activité scavenger H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25
<b>Figure 16</b>	Corrélation entre la teneur en polyphénols des fromages et le test au phosphomolybdate d'ammonium	26

## *Liste des abréviations*

**Abs:** Absorbance.

**ADN :** Adénosine Désoxyribose.

**BSA:** Albumine Sérum Bovine.

**EAA:** Equivalent Acide Ascorbique.

**EAG:** Equivalent Acide Gallique.

**MS:** Matières Sèche.

**NADPH:** Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

**pH :** Potentiel d'Hydrogène.

**TP :** Tampon Phosphate.

**UV:** Ultraviolet.

# *Introduction*

## Introduction

La nutrition est une fonction de chaque organisme. Elle est réalisée grâce à l'alimentation. De plus en plus l'attention des scientifiques s'oriente vers la meilleure alimentation c'est-à-dire celle qui maintiendrait en bonne santé et protègerait contre les maladies. C'est ainsi que le souci se tourne sur la nutrition antioxydante (**Pasma, 2010**).

Le fromage est le plus ancien moyen de conservation de la qualité nutritionnelle du lait. Le fromage fondu est un aliment énergétique riche en protéines et en minéraux. Cet aliment hautement digestible, joue un rôle très important d'alimentation de tous les groupes d'âge (**Eck et Gillis, 2006**). Au cours des dernières décennies, il y a un intérêt croissant pour l'étude des effets du fromage sur la santé.

Afin de mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit cette étude, une synthèse bibliographique est présentée sur la composition de fromage, les intérêts de consommation ainsi que les antioxydants présents dans les fromages.

La deuxième partie est consacrée à la détermination des teneurs en protéines et en polyphénols, substances ayant des propriétés antioxydantes, d'échantillons de fromages fondus. L'activité antioxydante des fromages analysés a été également évaluée en utilisant quatre tests (activité antiradicalaire, pouvoir réducteur, activité scavenger de peroxyde d'hydrogène et le test au phosphomolybdate).

*Synthèse*  
*bibliographique*

## I. Les fromages

### I.1. Définition

Selon le décret français du 30 décembre 1988, «la dénomination « **fromage** » est réservée au produit fermenté, affiné ou non, obtenu à partir des matières suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre, utilisée seule ou en mélange et coagulé en tout ou en partie avant l'égouttage ou après l'élimination partielle de la phase aqueuse ; le fromage est obtenu par coagulation du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulant ».

### I.2. Classification

La variété des fromages dépend des paramètres technologiques au cours de la fabrication (tableau I).

### I.3. Le fromage fondu

Le fromage fondu est le produit obtenu par mélange de fromages de différentes origines et à différents stades de maturation. Il est obtenu par broyage, mélange, fonte et émulsification, sous l'action de la chaleur et d'agents émulsifiants, avec ou sans adjonction de denrées alimentaires laitières ou non (Eck et Gillis, 2006).

### I.4. Composition et valeur nutritionnelle

La composition des fromages dépend de la composition du lait d'origine et de la technologie employée, notamment degré d'égouttage et conditions d'affinage.

- **Les protéines**

Selon le mode d'élaboration, le fromage renferme 4% (fromage fondu) à 40% (parmesan) de protéines. Il s'inscrit ainsi parmi les meilleures sources alimentaires de protéines ayant une digestibilité élevée. Lors de l'affinage, une partie importante se trouve dégradée et solubilisée en oligopeptides et acides aminés sous l'influence d'enzymes, différentes selon la microflore. Outre sa teneur élevée en protéines, la haute valeur biologique de fromage lui est conférée par sa composition en peptides et en acides aminés, intéressante sur le plan nutritionnel (Lopez-Exposito *et al.*, 2012).

**Tableau I : Voies technologiques et classes de fromage (st-Gelais et Tirard-Collet cités par Vignola, 2002).**

Critères de classification	Classes associées à chaque critère			
<b>Coagulation</b>	Lactique	Mixte		Présure
<b>Egouttage</b>	Lent	Pressé non cuit	Cuit non pressé	Pressé cuit
<b>Affinage</b>	Sans affinage			
	Croute fleurie			
			Croute lavée	
			Persillée	
			Affinage dans la masse sans ouverture	
			Avec ouverture	
<b>HRED</b>	Pate fraiche	Pâte molle	Pate semi-ferme	Pate ferme ou dure
<b>Exemples de fromages canadiens</b>	Chèvre frais Cottage Fromage à la crème quark	brie camembert pyramide de chèvre féta paillot de chèvre	mozzarella Cantonnier ermite havarti oka saint-paulin vacherin tomme bleu de brebis	brick cheddar emmenthal gouda fromage en grains raclette suisse canadien chèvre noir

HRED : Humidité Relative Extrait Dégraissé.

- **Les lipides**

La matière grasse est l'un des composants principaux des fromages (20 à 35% de la masse sèche). Les lipides du lait (triglycérides, phosphoglycérides et sphingosides) se trouvent dans le fromage sous forme émulsionnée, ce qui les rend plus digestibles (Walther *et al.*, 2008).

- **Le lactose**

Les fromages affinés sont pratiquement dépourvus de lactose. Une grande quantité de lactose est éliminée au cours de l'égouttage et la quantité restante dans le caillé est transformée en acide lactique au cours de l'affinage (**Walther et al., 2008**).

- **Les vitamines**

La plupart des vitamines liposolubles du lait sont conservées dans la matière grasse du fromage. Quant à la teneur en vitamines hydrosolubles, celle-ci varie considérablement selon les fromages; elle est le résultat de deux facteurs opposés : la perte qui survient au cours de l'égouttage, et l'enrichissement qui survient au cours de l'affinage (synthèse de plusieurs vitamines du groupe B (riboflavine, pyridoxine, acide folique, thiamine et vitamine B<sub>12</sub>) par la microflore bactérienne (**Lopez-Exposito et al., 2012**).

- **Les minéraux**

Les fromages constituent certainement les meilleures sources alimentaires en minéraux (phosphore, zinc et magnésium) ; le minéral le plus important dans le lait et précisément dans le fromage est le calcium dont la teneur est de 6 à 11g/kg dans le fromage à pâte dure et semi-dure (**Moreno-Rojas et al., 2010**).

### **I.5. Intérêts de la consommation des fromages**

Le fromage est un aliment hautement digestible ; cette propriété le rend indispensable à toutes les tranches d'âge.

✓ Le calcium joue un rôle clé dans la santé osseuse, plus particulièrement pendant l'enfance et l'adolescence où la croissance staturale s'accompagne d'une minéralisation accrue de l'os néoformé (**Esterle, 2010**), en prévenant le risque d'ostéoporose ainsi que la régulation de l'activité plaquettaire, et empêche la décomposition dentaire (**Eck et Gillis, 2006**).

✓ Le fromage est riche de protéines de haute valeur nutritionnelle, la matière grasse, le calcium et le phosphore qui maintiennent des muscles et des os et en vitamines qui sont indispensables pour un métabolisme équilibré.

✓ L'hypercholestérolémie figure parmi les facteurs de risque des maladies cardiovasculaires. Il a été démontré que certains peptides issus de l'hydrolyse de protéines laitières peuvent réduire le taux de cholestérol sérique, contribuant ainsi à la réduction du risque des maladies cardiovasculaires (**Nagaoka et al., 1999**).

✓ Les hydrolysats de protéines laitières (caséines, protéines sériques) ont un effet sur le système immunitaire en augmentant l'activité des cellules immunitaires, la prolifération des lymphocytes, la synthèse d'anticorps et la régulation des cytokines (**Gill *et al.*, 2000**).

## **II. Radicaux libres et antioxydants**

### **II.1. Le stress oxydatif**

Le stress oxydant est un déséquilibre de la balance entre la formation des espèces réactive à l'oxygène et les antioxydants qui régulent leur production, en faveur des premières (**Pincemail *et al.*, 2003**). Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale, d'activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine,...). En fin, une alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant.

De nombreux travaux indiquent que le stress oxydant est impliqué dans le développement de plusieurs pathologies (maladies cardiovasculaires, cancer, diabète,...) (**Pincemail *et al.*, 2002**).

### **II.2. Les radicaux libres**

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié (**Afonso *et al.*, 2007**). La présence d'un électron célibataire confère souvent à ces molécules une grande instabilité ; elles ont la possibilité de réagir avec de nombreux composés (**Amzal, 2010**). Elles peuvent entraîner des lésions tissulaires en captant des électrons d'une molécule stable pour essayer d'apparier leurs propres électrons, laissant ainsi la molécule originale dans un état instable (**Filaire et Tomi, 2012**).

### **II.3. Les espèces réactives à l'oxygène**

De manière générale, toute réaction biochimique faisant intervenir de l'oxygène moléculaire est susceptible d'être à l'origine d'une production des radicaux libres oxygénés.

#### **II.3.1. Le peroxyde d'hydrogène**

Il peut générer des radicaux libres en réagissant avec des métaux de transitions, peut diffuser à travers les membranes (**Amzal, 2010**).

### II.3.2. Le radical hydroxyle HO<sup>•</sup>

L'espèce la plus réactive dans l'attaque des molécules biologiques produite à partir de peroxyde d'hydrogène dans la réaction de Fenton en présence de Fe<sup>2+</sup> ou Cu<sup>2+</sup> (**Wilson et Salamatian, 2003**).

### II.3.3. L'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)

Il est naturellement produit dans toutes les cellules des êtres vivants. C'est la forme réduite de l'oxygène moléculaire; il est le premier radical formé lors du transport des électrons au niveau de la chaîne respiratoire (**Gardès-Albert, 2006**).

## II.4. Espèces réactives de l'azote

### II.4.1. Peroxynitrite (OONO<sup>-</sup>)

Un agent oxydant puissant qui n'est pas un radical libre. Il peut générer le radical dioxyde de nitrogène (NO<sub>2</sub>) et capable d'oxyder les protéines et les bases azotiques des brins d'ADN par une grande similarité de l'oxydation par le radical hydroxyle (**Massion et al., 2002**).

### II.4.2. Monoxyde d'azote (NO<sup>•</sup>)

C'est une espèce radicalaire produite par les systèmes enzymatiques (NO synthases). Il est responsable d'une grande diversité d'effets sur l'organisme, lorsqu'il est engendré en grandes quantités non régulées, il provoque le stress oxydatif (**Massion et al., 2002**).

## II.5. Les cibles des espèces réactives à l'oxygène

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes des molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une vague d'attaque chimique (**Favier, 2003**).

### ➤ Les protéines

Les métabolites dérivés de l'oxygène altèrent la structure des protéines par oxydation de leurs acides aminés constitutifs. Ils provoquent la fragmentation et la modification de leur

conformation et de leur charge électrique. Ces différentes altérations modifient l'activité biologique des protéines (Inhibition des activités enzymatiques).

L'accumulation des protéines oxydées peut être à l'origine de nombreuses maladies (Alzheimer, dystrophie musculaire) (**Favier, 2003**).

➤ **Les lipides**

Les lipides, principalement les acides gras polyinsaturés, peuvent subir une attaque radicalaire par le radical hydroxyle ( $\bullet\text{OH}$ ), capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué. En effet, l'atteinte des phospholipides par ces espèces entraîne une modification de la fluidité membranaire, altère les systèmes de transfert d'ions, ainsi que le fonctionnement de nombreux transporteurs (**Favier, 2003**).

➤ **L'ADN**

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. L'action des ERO sur l'ADN a mis en évidence des lésions diverses (modifications des bases nucléiques, apparition des sites abasiques, apparition des adduits de l'ADN, cassure de simple ou double brins) (**Favier, 2003**).

## **II.6. Les antioxydants**

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (**Berger, 2006**). Ce sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées (**Pelli et Lyly, 2003**).

Il existe deux grands groupes d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques généralement d'origine alimentaire.

### **II.6.1. Antioxydants enzymatiques**

#### **II.6.1.1. La superoxyde dismutase (SOD)**

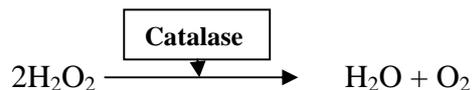
Est l'enzyme antioxydant le plus important dans la défense contre le stress oxydatif c'est une métalloprotéine capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation (**Favier, 2003**).



La SOD transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui est éliminé par la glutathion peroxydase ou catalase, empêchant ainsi la formation d'ERO plus agressifs comme la peroxydation lipidique ou le radical hydroxyle (Afonso *et al.*, 2007).

### II.6.1.2. La catalase

C'est un enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène, produit par la réaction de dismutation, en eau et en oxygène qui sont des composés stables (Mandell, 2013).



### II.6.1.3. La glutathion peroxydase

Enzyme à sélénium présent à la fois dans le cytosol et la mitochondrie, transforme le peroxyde d'hydrogène mais aussi les peroxydes lipidiques. Le peroxyde d'hydrogène et les lipoperoxydes sont réduits en présence de glutathion (Wilson et Salamatian, 2003).

## II.6.2. Antioxydants non enzymatiques

### II.6.2.1. Les vitamines

#### ➤ La vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)

La vitamine E Constitue le principal antioxydant biologique de sérum lipidique, est un important protecteur cellulaire contre des dommages oxydants, elle serait régénérée par la vitamine C (Rontani *et al.*, 2008).

#### ➤ Vitamine A

La vitamine A dérive du carotène. Cet antioxydant protège les membranes cellulaires, piège directement les radicaux libres en cas de pression partielle d'oxygène basse. Les lipides favorisent la résorption de la vitamine A (Sarazin *et al.*, 2000).

### II.6.2.2. Les polyphénols :

Ce sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux. Ils sont présents dans tous les organes de la plante. Ils sont considérés comme des substances chimiques à effets antioxydants et anti-inflammatoires. Ce sont des piègeurs potentiels d'espèce radicalaire, qui sont donc capable d'inhibé la peroxydation lipidique, de prévenir l'athérosclérose (Bonfont-Rousselot, 2012). Les fromages ne contiennent que des petites quantités en polyphénols (1,298 $\mu$ g/g) mais possèdent une activité antioxydante importante (Sharma *et al.*, 2011).

#### **II.4.2.3. La lactoferrine**

Est une glycoprotéine transporteuse du fer qui appartient à la famille des transferrines, sa principale fonction biologique est de piéger les radicaux libres et de protéger l'organisme contre le stress oxydatif, la teneur en lactoferrine sous forme de trace dans le lactosérum (0,009g/l) (Wal, 2011).

#### **II.6.2.4. Les oligo-éléments**

➤ **Sélénium :**

Est un élément antioxydant ; il participe à la destruction des radicaux libres. Le sélénium a des propriétés antioxydantes, une carence modérée en sélénium semble à accroître la sensibilité à diverses maladies (cancers, maladies cardiovasculaires) (Roussel et Favier, 2009).

➤ **Zinc**

Le zinc est important pour les mécanismes de défense de l'organisme contre les maladies inflammatoires. Il joue un rôle important dans la prévention des maladies chroniques et dégénératives liées au vieillissement par la limitation des molécules hautement réactives. Les principales sources alimentaires du zinc sont les céréales, les produits laitiers et les produits carnés (Pelli et Lyly, 2003).

*Matériel*  
*et méthodes*

## Matériels et méthodes

### 1. Echantillons

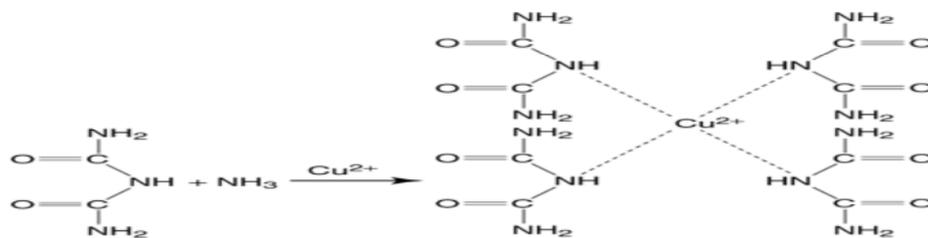
3 lots (P, T et R) de fromages fondus ont été utilisés dans la présente étude ; chaque lot est représenté par trois échantillons.

### 2. Détermination de taux d'humidité

2g d'échantillon sont répartis sur la surface de la capsule du dessiccateur ; les résultats sont affichés directement sur l'appareil.

### 3. Dosage des protéines

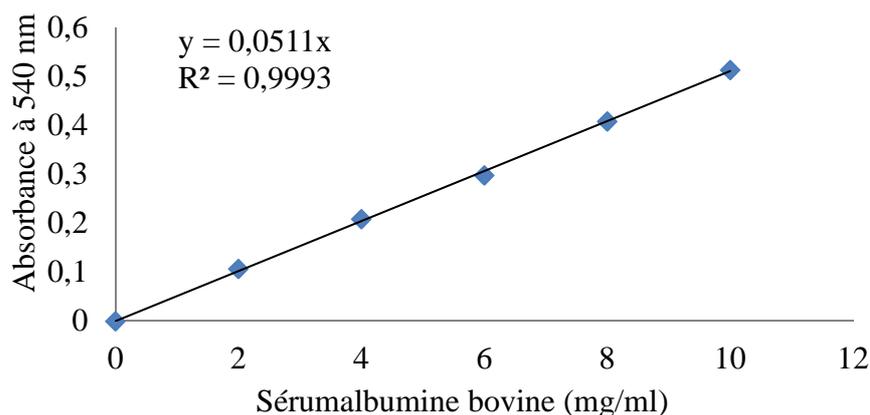
Les teneurs en protéines sont déterminées selon la méthode classique de **biuret** développée par **Gornall (1949)**. En milieu alcalin (NaOH), à froid, les ions cuivriques ( $\text{Cu}^{2+}$ ) forment avec les liaisons peptidiques un complexe de coordination coloré en rose, qui ajouté à la teinte bleue du réactif de Gornall donne finalement une coloration pourpre (bleue-violette). Cette réaction est positive dès que la molécule possède 3 à 4 liaisons peptidiques. La réaction impliquée est la suivante :



Complexe coloré en violet

2000  $\mu\text{l}$  de réactif de Gornall sont ajoutés à 500  $\mu\text{l}$  d'extrait ; le mélange est bien homogénéisé puis l'incuber pendant 10 min. L'absorbance est lue à 540 nm (**Perrin, 2011**).

Une courbe d'étalonnage est utilisée pour déterminer la concentration en protéines dans les fromages, qui sera exprimée en g/100g MS (figure 1).



**Figure 1** : Courbe d'étalonnage de dosage des protéines.

#### 4. Dosage des polyphénols totaux

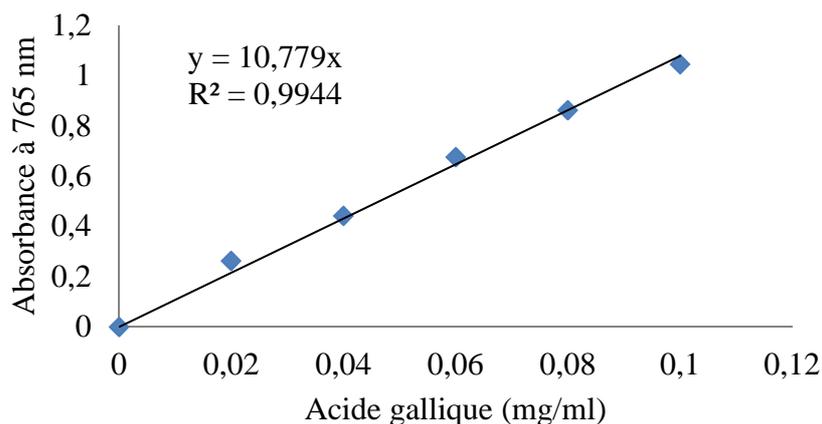
##### Préparation des extraits

20 ml d'acétone 80% sont ajoutés à 2g de chaque échantillon ; les mélanges sont homogénéisés pendant 2 min puis centrifugés (5000 tr/20 min) et filtrés. Les filtrats sont conservés à 4°C.

Le dosage des polyphénols totaux est basé sur la réaction d'oxydoréduction. Le réactif de Folin-Ciocalteu, acide de couleur jaune, c'est un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et de l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) qui est réduit lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel (**Gülçin et al., 2010**).

La teneur en composés phénoliques a été déterminée selon la méthode rapportée par **Apostolidis et al., (2007)**. 500µl de filtrat sont additionnés de 750 µl de réactif de Folin-Ciocalteu et de 600µl de carbonate de sodium (7.5%). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, la lecture a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm.

La concentration en composés phénoliques exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de matière sèche d'échantillon est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (figure 2).



**Figure 2:** Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.

## 5. Mesure de l'activité antioxydante

### 5.1. Détermination de l'activité scavenger du radical DPPH

Ce test est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à exercer un « effet scavenger » sur le radical stable DPPH (2,2diphényl-1-picrylhydrazyl) **Kazeem et al. (2012)**. C'est un test de décoloration (violette au jaune) qui évalue la diminution de l'absorbance de la solution du DPPH à 517 nm, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

Le protocole rapporté par **Gülçin et al. (2010)** consiste à mélanger 1000 µl de la solution DPPH avec 500 µl d'extrait. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue à 517 nm. L'activité antiradicalaire est exprimée par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{AC - A}{AC} * 100$$

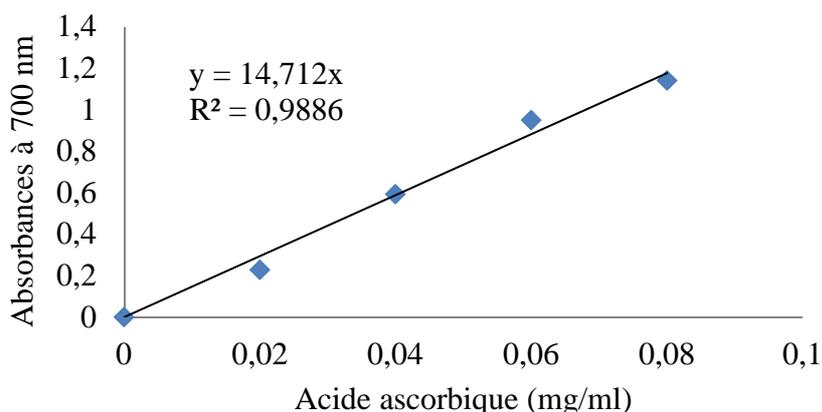
A : absorbance de l'extrait.  
AC : absorbance de contrôle.

### 5.2. Pouvoir réducteur

Cette activité est basée sur la réaction d'oxydoréduction. C'est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) de complexe ferricyanure [ $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ ] en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). La forme réduite donne une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait.

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode rapportée par **Meira et al. (2012)**. 250µl de tampon phosphate (0.2 M, pH 6,6), et 250µl de ferricyanure de potassium (1%) sont additionnés à 500µl d'extrait. Après agitation, le mélange est incubé dans un bain marie à 50 °C pendant 20 min. 250µl d'acide trichloracétique (10%), 1000µl d'eau distillée et 200 µl de chlorure ferrique (0.1%) sont additionnés au mélange. L'absorbance a été mesurée à 700 nm après 10 min d'incubation à l'obscurité.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide ascorbique EAA/100g par référence à une courbe d'étalonnage (figure 3).



**Figure 3:** Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.

### 5.3. Détermination l'activité scavenger de peroxyde d'hydrogène

Le principe de la réaction est de neutraliser le peroxyde d'hydrogène par un antioxydant qui va faciliter sa décomposition en molécules d'eau.

Echantillon	Blanc d'Echantillon	Témoin
150 µl d'extrait	150 µl d'extrait	150 µl d'acétone 80%
↓	↓	↓
1000 µl H2O2	1000 µl TP	1000 µl H2O2
↓	↓	↓
1350 µl TP	1350 µl TP	1350 µl TP
↓	↓	↓
Absorbance à 230nm après 15 min d'obscurité		

- H2O2 (40mM) préparé dans la solution TP (0.1 M, pH 7,4), TP (0.1 M, pH 7,4).

Le pourcentage de l'activité scavenger de peroxyde d'hydrogène est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'activité scavenging du H}_2\text{O}_2 = [(A_T^- - (A_E - A_{BE})) / A_T^-] 100$$

$A_T^-$ : absorbance du témoin.

$A_{BE}$ : absorbance du blanc échantillon.

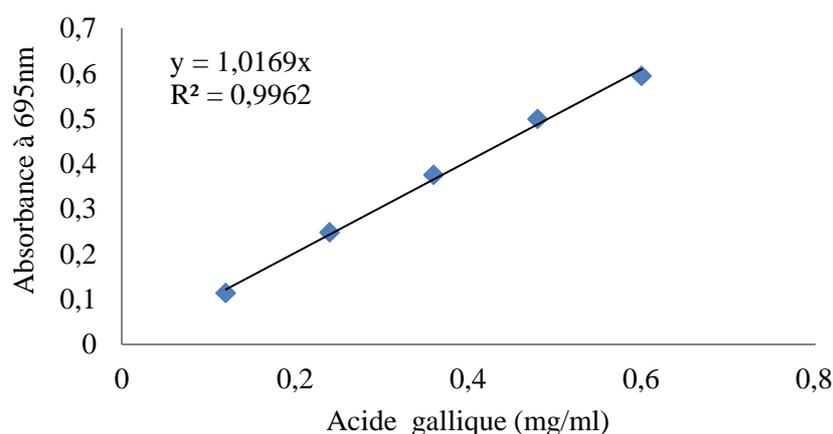
$A_E$ : absorbance de l'échantillon.

#### 5.4. Test au phosphomolybdate d'ammonium

Le test de phosphomolybdate d'ammonium est aussi utilisé pour déterminer la capacité antioxydante totale ; il est basé sur la réduction d'ions  $\text{Mo}^{6+}$  en ions  $\text{Mo}^{5+}$  par les antioxydants contenus dans l'extrait. Par conséquent, il y a formation d'un complexe phosphate- $\text{Mo}^{5+}$  de couleur verdâtre, en milieu acide, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en antioxydants.

Le protocole expérimental est celui décrit par **Meot-Duros *et al.* (2008)**. 2000  $\mu\text{l}$  de réactif de molybdate (molybdate d'ammonium à 4 mM, phosphate de sodium à 28 mM et acide sulfurique à 0,6 mM) sont ajoutés à 200  $\mu\text{l}$  d'extrait. Après 90 min d'incubation à 95°C, l'absorbance est mesurée à 695 nm

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique EAG/100g par référence à une courbe d'étalonnage.



**Figure 4:** Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante «phosphomolybdate d'ammonium».

## **6. Analyse statistique**

Une analyse descriptive des résultats de trois essais de neuf échantillons a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2007.

Une étude statistique a été faite par l'analyse de la variance (ANOVA/MANOVA), en utilisant le test LSD, à un facteur pour les différents dosages avec le logiciel STATISTICA 5.5 Fr. Quant à l'analyse statistique des résultats du pouvoir réducteur, activité antiradicalaire, et l'activité scavenger de peroxyde d'hydrogène ainsi que le test phosphomolybdate d'ammonium a été réalisée à deux facteurs et cela pour la comparaison de ces résultats et la mise en évidence des différences significatives ou non entre les échantillons.

*Résultats  
et discussion*

## **Résultats et discussion**

### **1. Taux d'humidité**

Les taux d'humidité des fromages analysés sont présentés dans le tableau II. D'après les résultats obtenus, les taux d'humidité varient de 46,06% à 55,54 %; les fromages du lot P ont des taux d'humidité faible par rapport aux fromages des lots T et R. Pour les fromages du lot T, l'analyse statistique indique la présence de différences significatives ( $p < 0.05$ ) entre T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> et T<sub>3</sub> ; par contre cette différence est peu marquée entre les échantillons du lot R et du lot P.

Les résultats obtenus répondent aux normes fixées par le journal officiel des communautés européennes (minimum 43%).

**Tableau II:** Taux d'humidité des fromages analysés.

	Taux d'humidité (%)	Moyenne
P1	47,18 <sup>A</sup>	46,61±0.56 <sup>c</sup>
P2	46,06 <sup>B</sup>	
P3	46,59 <sup>B</sup>	
T1	47,89 <sup>B'</sup>	49,17±2.56 <sup>b</sup>
T2	47,50 <sup>C'</sup>	
T3	52,11 <sup>A'</sup>	
R1	51,41 <sup>B''</sup>	53,47±2.06 <sup>a</sup>
R2	55,54 <sup>A''</sup>	
R3	53,46 <sup>A''</sup>	

- Toutes les valeurs présentent la moyenne de trois essais (.n=3)
- les lettres désignées A, B, C, A', B', C', A'', A'' et B'' présentent les différences significatives  $p < 0.05$  et sont classés par ordre croissant  $A > B > C$  (analyse statistique de même lot).
- les lettres désignées a, b et c présentent les différences significatives ( $p < 0.05$ ) et les résultats sont classés par ordre croissant  $a > b > c$  (analyse statistique de trois échantillons).

### **2. Teneurs en protéines**

La teneur en protéines des échantillons des fromages a été mesurée par la méthode de Biuret et les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 5. Les résultats montrent que les échantillons de fromages R<sub>3</sub> et R<sub>2</sub> ont des teneurs en protéines élevées par rapport au fromage

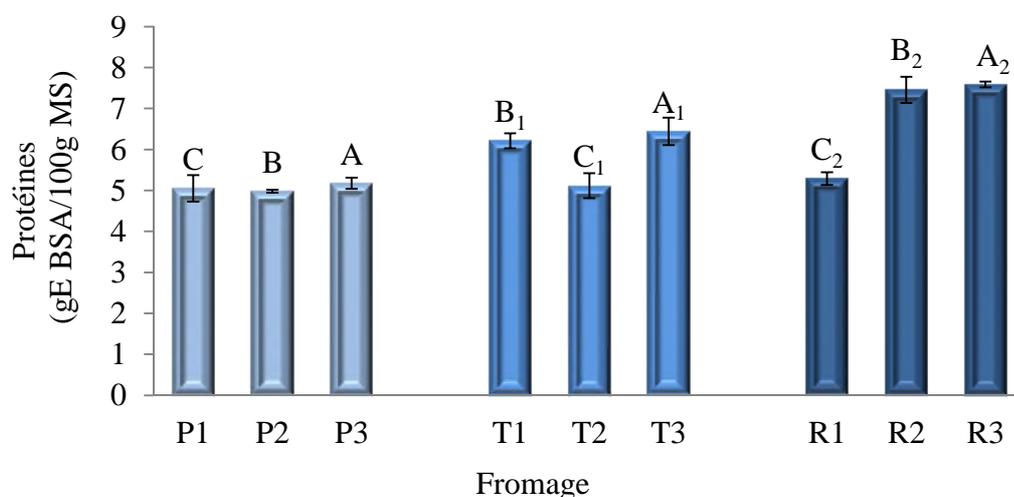
## Résultats et discussion

R<sub>1</sub>. De même, les fromages du lot T présentent des différences significatives ( $p < 0.05$ ); l'échantillon T<sub>2</sub> a la teneur la plus faible.

Les résultats présentés dans le tableau III nous permettent de constater que les échantillons de fromage du lot R présentent des teneurs en protéines élevées ( $6,77 \pm 1,29$  g EBSA/100g MS), comparativement aux fromages des lots T et P.

**Lopez-Exposito *et al.* (2012)** ont rapporté des concentrations en protéines inférieures (4%) à celles de présente étude.

Les teneurs en protéines établies par la commission du codex alimentarius sont 16,97% pour le fromage fondu, 47,68% pour l'emmental et 42,19% pour le cheddar.



**Figure 5:** Teneurs en protéines des fromages.

- Toutes les valeurs présentent la moyenne de trois essais ( $n=3$ )
- les lettres désignées A, B, C, A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, C<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub> et C<sub>2</sub> présentent les différences significatives  $p < 0.05$  et sont classés par ordre croissant (analyse statistique de même lot).
- Les barres verticales représentent les écarts-types.

**Tableau III :** Teneurs en protéines des lots de fromages analysés.

Lot	P	T	R
Protéines (g/100g MS)	$5,07 \pm 0,1^c$	$5,92 \pm 0,71^b$	$6,77 \pm 1,29^a$

- les lettres désignées a, b et c présentent les différences significatives ( $p < 0.05$ ), et sont classés par ordre croissant  $a > b > c$  (analyse statistique de trois lots).

### 3. Teneurs en polyphénols totaux

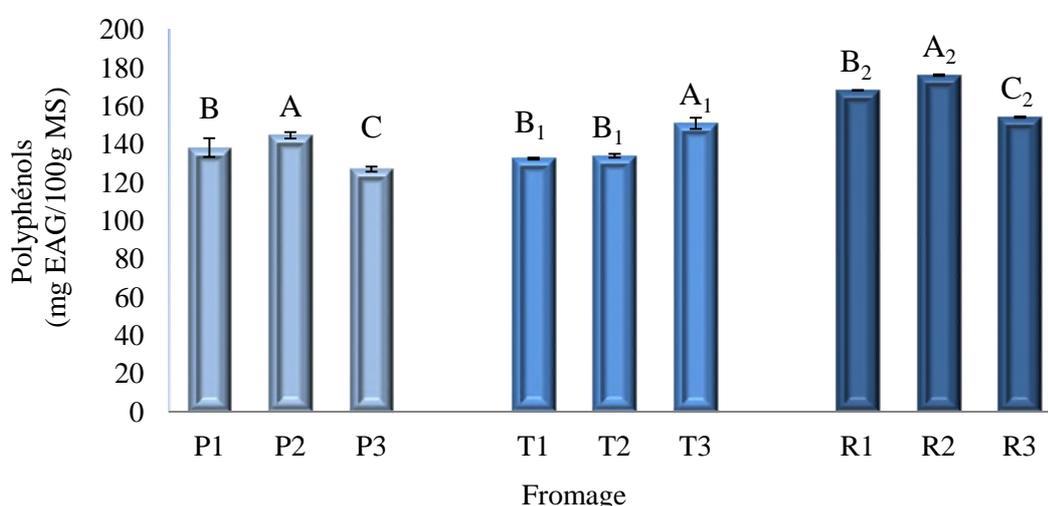
Les teneurs en composés phénoliques des extraits des fromages analysés sont illustrées dans la figure 6.

## Résultats et discussion

D'après l'analyse statistique, des différences significatives ( $p < 0.05$ ) existent entre les extraits des fromages du lot P et du lot R; l'extrait de fromage P<sub>2</sub> a un taux plus élevé que P<sub>1</sub> et P<sub>3</sub>. Pour les extraits des fromages du lot T, les différences sont peu marquées.

Les extraits des fromages du lot R présentent des taux élevés en phénols totaux (tableau IV) contrairement aux extraits des fromages des lots P et T.

Les différents extraits des fromages montrent que tous ces fromages fondus contiennent des composés phénoliques mais en quantités variables. En effet, des résultats semblables ont été rapportés par **Apostolidis *et al.* (2006)** dans une étude effectuée sur trois types de fromages (cheddar, feta et roquefort) pour déterminer les phénols totaux qui varient de 100 à 250 µg/g. Ces variations dépendent de la matière première (fromages affinés ou non) utilisée pour la fabrication des fromages fondus (**Meira *et al.*, 2012**).



**Figure 6:** Teneurs en polyphénols totaux des fromages.

- Toutes les valeurs représentent la moyenne de trois essais (n=3).
- Les lettres désignées A, B, C, A<sub>1</sub> > B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub> et C<sub>2</sub> présentent des différences significatives ( $p < 0.05$ ), et sont classés par ordre croissant A > B > C, A<sub>1</sub> > B<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> > B<sub>2</sub> > C<sub>2</sub>
- Les barres verticales représentent les écarts-types.

**Tableau IV :** Teneur en polyphénols totaux des lots de fromages analysés.

Lot	P	T	R
Polyphénols (mg EAG/100g)	136,60±8,94 <sup>b</sup>	139,15±10,27 <sup>b</sup>	166,16±11,14 <sup>a</sup>

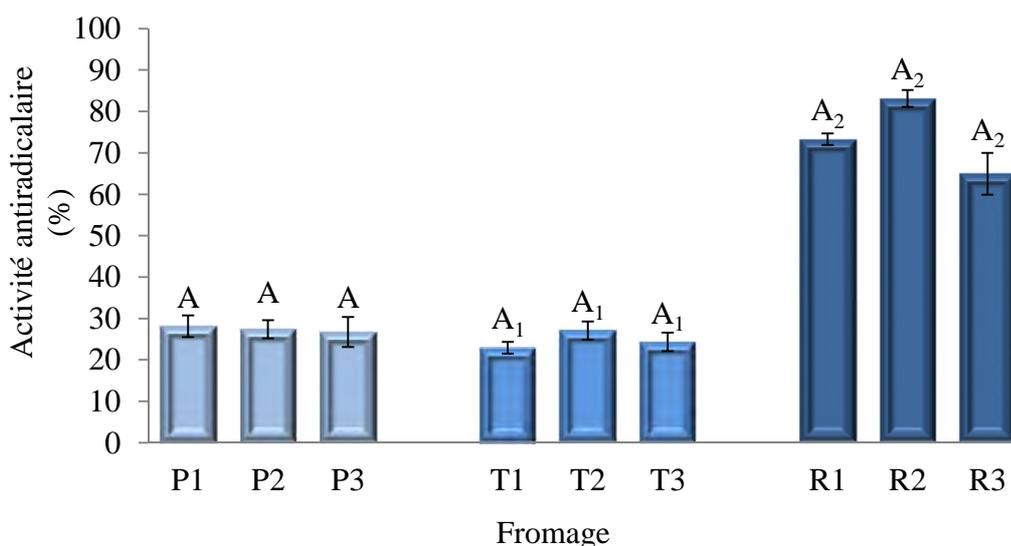
- les lettres désignées a, b présentent les différences significatives ( $p < 0.05$ ), sont classés par ordre croissant a > b (analyse statistique de trois lots).

### 4. Activité antioxydante des fromages

#### 4.1. Activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire des extraits des fromages vis-à-vis du radical DPPH est illustrée dans la figure 7. D'après l'analyse statistique, aucune différence significative ( $p < 0.05$ ) n'a été signalée entre les extraits des fromages du même lot.

Les résultats de tableau V montrent que les extraits des fromages du lot R présentent la meilleure activité antiradicalaire ( $73,78 \pm 9,07\%$ ), suivis par les extraits des fromages des lots T et P qui possèdent une faible activité. En effet, les mêmes résultats ont été rapportés par **Apostolidis *et al.* (2006)** dans une étude effectuée sur trois types de fromages (cheddar, feta et roquefort) pour déterminer l'activité antiradicalaire de ces fromages, comprise entre 25 et 90%. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH dans les fromages dépend du degré de protéolyse et du type de culture bactérienne impliquée dans la maturation des fromages (**Meira *et al.*, 2012**) utilisés pour la fabrication des fromages fondus.



**Figure 7:** Activité antiradicalaire des extraits de fromage.

- Toutes les valeurs représentent par la moyenne de trois essais ( $n=3$ ).
- Les barres verticales représentent les écarts-types.

**Tableau V:** Activité antiradicalaire (%) des lots de fromages analysés

Lot	P	T	R
Activité antiradicalaire (%)	$27,43 \pm 0,69^b$	$24,78 \pm 2,12^b$	$73,78 \pm 9,07^a$

- Les lettres désignées a, b présentent les différences significatives ( $p < 0.05$ ), et sont classés par ordre croissant  $a > b$  (analyse statistique de trois lots).

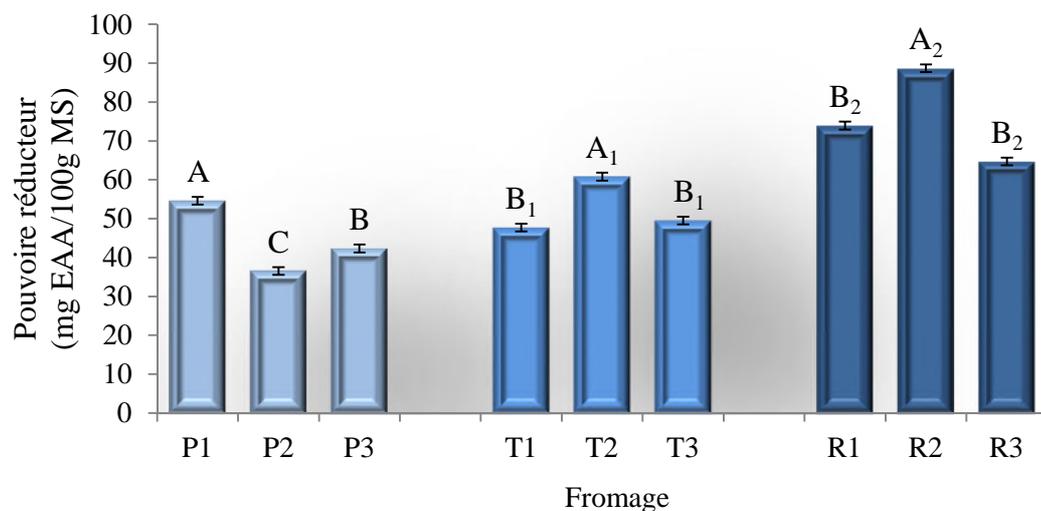
### 4.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits des fromages est illustré dans la figure 8.

Selon les résultats obtenus, tous les extraits de fromages ont une habilité à réduire l'ion  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  mais avec des aptitudes différentes ; l'extrait du fromage  $R_2$  présente un pouvoir réducteur plus élevé par rapport aux extraits des fromages  $R_1$  et  $R_3$ . De même, les extraits des fromages du lot T présentent des différences significatives ( $p < 0.05$ ) ; l'extrait de l'échantillon  $T_2$  a une capacité réductrice élevée suivi des extraits des échantillons  $T_3$  et  $T_1$ . Pour les fromages du lot P, des différences significatives existent entre les trois échantillons ; l'extrait de l'échantillon  $P_1$  présente le meilleur pouvoir réducteur.

D'après le tableau VI, les résultats montrent que les extraits des fromages du lot R ont donné une activité réductrice supérieure à celle des extraits des fromages des lots T et P ; ceci peut être dû à la nature et la teneur en antioxydants présents dans les échantillons.

Selon l'étude réalisée par **Maeira *et al.* (2012)** sur le pouvoir réducteur varie entre 0,13 et 0,42 unités (absorbance à 700 nm) selon le fromage (feta, cheddar et roquefort).



**Figure 8:** Pouvoir réducteur des différents extraits des fromages.

- Toutes les valeurs représentent la moyenne de trois essais ( $n=3$ ).
- Les lettres désignées (A, B, C, A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> et B<sub>2</sub>) présentent des différences significatives ( $p < 0.05$ ) et les résultats sont classés par ordre croissant  $A > B > C$  (analyse statistique de même lot).
- Les barres verticales représentent les écarts-types.

**Tableau VI** : Pouvoir réducteur des lots de fromages analysés.

Lot	P	T	R
Pouvoir réducteur (mg EAA/100gMS)	44,50±4,09 <sup>b</sup>	52,69±7,98 <sup>b</sup>	75,78±16,97 <sup>a</sup>

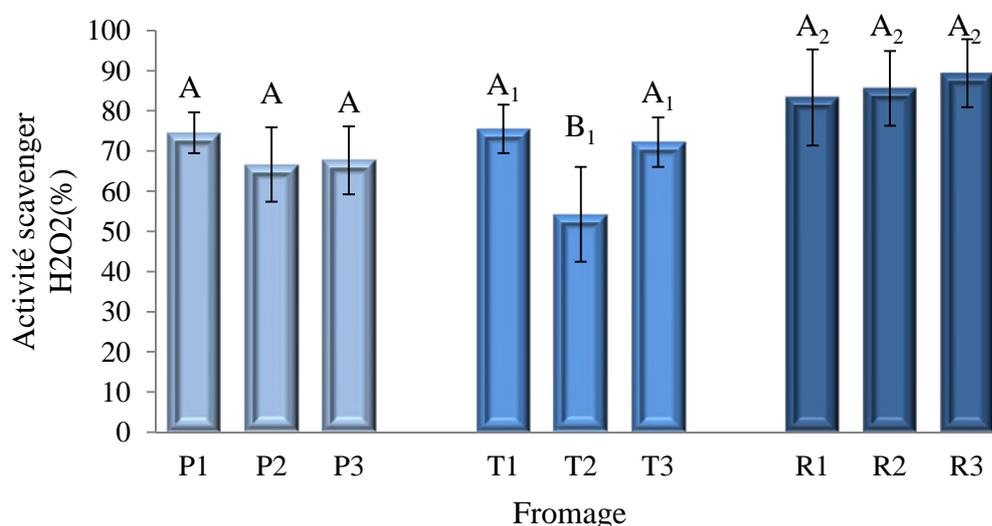
• Lettres désignées a, b présentent les différences significatives ( $p < 0.05$ ) ; les résultats sont classés par ordre croissant  $a > b$  (analyse statistique de trois lots).

### 4.3. Activité scavenger de peroxyde d'hydrogène

Les pourcentages d'activité scavenger du peroxyde d'hydrogène des extraits des fromages sont illustrés dans la figure 9.

D'après l'analyse statistique, des différences significatives ( $p < 0.05$ ) existent entre les extraits des échantillons des fromages du lot T ; l'extrait du fromage T<sub>2</sub> présente une activité scavenger plus faible que celle des échantillons T<sub>1</sub> et T<sub>3</sub>. Par contre les extraits des échantillons des fromages des lots P et R ne présentent aucune différence significative.

Les résultats illustrés dans le tableau VII montrent que les extraits des fromages du lot R présentent les meilleures activités scavenger du peroxyde d'hydrogène (86,10±3,04 %) par rapport aux extraits des fromages des lots T et P qui possèdent une activité scavenger moins efficace, 67,30±11,42% et 69,62±4,29%, respectivement.



**Figure 9**: Activité scavenger du peroxyde d'hydrogène.

- Toutes les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois essais ( $n=3$ )
- Les lettres désignées (A, B<sub>1</sub>, A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub>) présentent des différences significatives ( $p < 0.05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant  $A > B$  (analyse statistique de même lot).
- Les barres verticales représentent les écarts-types.

**Tableau VII :** Activité scavenger de peroxyde d’hydrogène des lots de fromages analysés.

Lot	P	T	R
Activité scavenger (%)	69,62±4,29 <sup>b</sup>	67,30±11,42 <sup>b</sup>	86,10±3,04 <sup>a</sup>

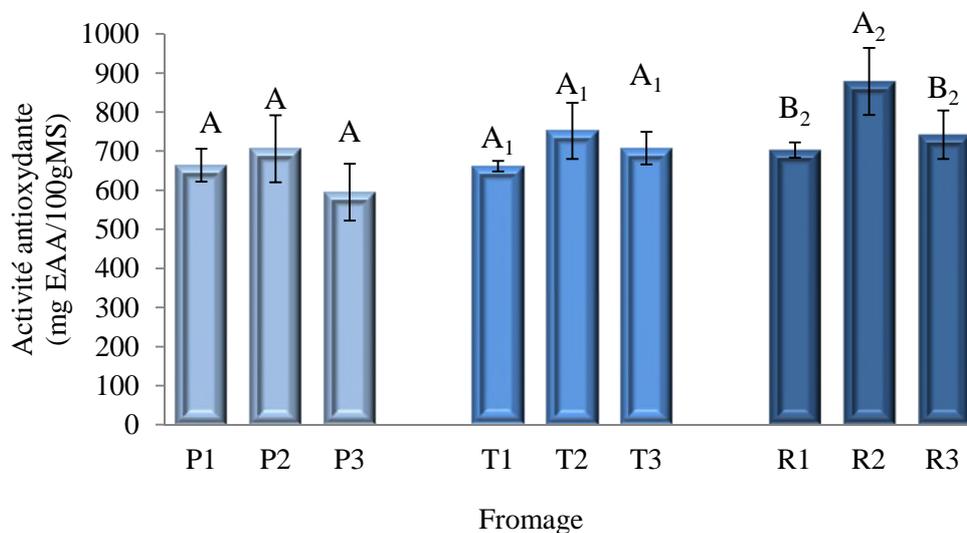
•Lettres désignées a et b présentent les différences significatives ( $p < 0.05$ ), et sont classés par ordre croissant  $a > b$  (analyse statistique de trois échantillons).

**4.4. Test au phosphomolybdate d’ammonium**

Les valeurs obtenues lors de la mesure des activités antioxydantes des extraits des fromages par le test de phosphomolybdate d’ammonium sont illustrées dans la figure 10.

Les résultats de la figure 10 montrent que les extraits des échantillons de fromages du lot R présentent des différences significatives ( $p < 0.05$ ), contrairement aux extraits des lots T et P. L’extrait de fromage R<sub>2</sub> a une activité antioxydante plus élevée que R<sub>1</sub> et R<sub>3</sub>.

Les résultats présentés dans le tableau IX indiquent clairement que les extraits de trois lots présentent la même capacité antioxydante qui permet de réduire les ions Mo<sup>6+</sup> en ion Mo<sup>5+</sup>.



**Figure 10 :** Activité antioxydante “phosphomolybdate d’ammonium“ des fromages.

- Les valeurs représentent la moyenne de trois essais (n=3) ;
- Les lettres désignées présentent des différences significatives ( $p < 0.05$ ).
- Les résultats sont classés par ordre croissant  $A > B$  (analyse statistique des lots).
- Les barres verticales représentent les écarts-types.

**Tableau VIII** : Activité antioxydante (test au phosphomolybdate) des lots de fromages.

Lot	P	T	R
Activité antioxydante (g EAG/100g MS)	654,92±56,32 <sup>a</sup>	707,09±45,07 <sup>a</sup>	774,33±92,07 <sup>a</sup>

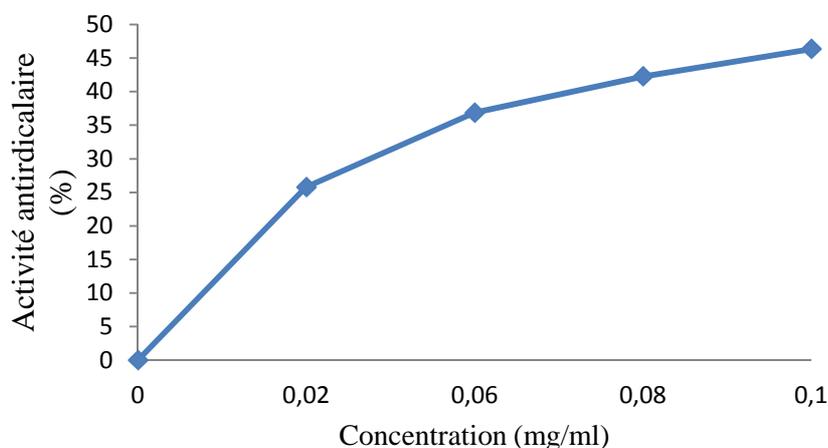
- La Lettre désignée a représente la comparaison (p< 0.05) d'analyse statistique de trois échantillons.

### 5. Effet de la concentration des extraits de fromage R sur l'activité des antioxydants

#### 5.1. Activité antiradicalaire

Les résultats de l'effet scavenger contre le radical DPPH des différents extraits des fromages R en fonction des concentrations sont illustrés par la figure 11.

Les extraits des fromages R montrent que l'activité antiradicalaire est proportionnelle à la concentration des extraits. Une augmentation importante de pourcentage dès la plus petite concentration testée (0,02 mg/ml) a été marquée ; ces résultats nous permettent de déduire que la concentration a une influence sur l'activité antiradicalaire

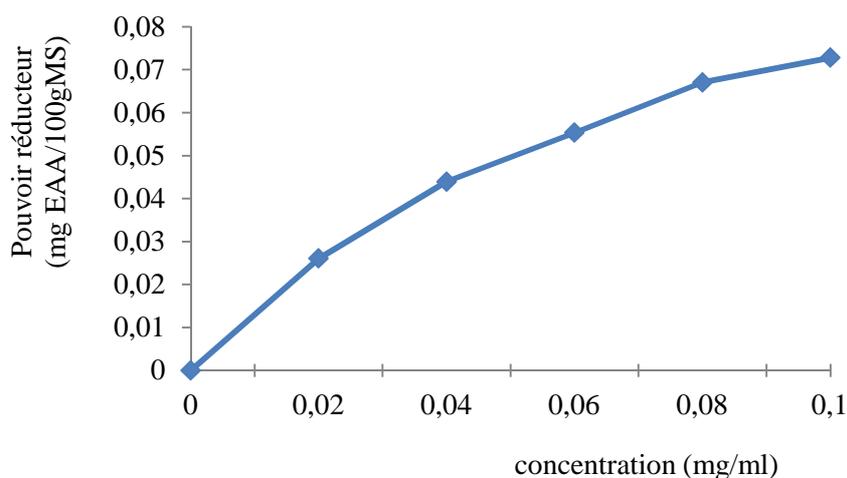


**Figure 11**: Effet de la concentration de l'extrait sur l'activité antiradicalaire du fromage.

#### 5.2. Pouvoir réducteur

Les résultats de l'effet de la concentration de l'extrait du fromage R sur le pouvoir réducteur est présenté dans la figure 12.

Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur augmente en fonction de la concentration de l'extrait de fromage.



**Figure 12:** Effet de la concentration de l'extrait de fromage sur le pouvoir réducteur.

### 6. Corrélation entre les teneurs en polyphénols et les activités antioxydantes

L'activité antioxydante des extraits des fromages augmente de manière significative avec la concentration en composés phénoliques.

Les résultats de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antiradicalaire des extraits des fromages analysés sont présentés dans la figure 13 ; une bonne corrélation ( $R=0,688$ ) existe entre ces deux paramètres. L'activité antiradicalaire des extraits des fromages serait due à leur richesse en phénols totaux. En effet, les mêmes résultats ont été rapportés par **Apostolidis *et al.* (2006)**.

D'après les résultats illustrés dans la figure 14, une corrélation positive existe également entre les concentrations de fromages en composés phénoliques et leur capacité réductrice, avec un coefficient de corrélation de 0.644 ; le pouvoir réducteur dépend de la teneur en composés phénoliques des extraits des fromages.

La corrélation entre les teneurs en composés phénoliques des fromages analysés et l'activité scavenger du peroxyde d'hydrogène (figure 15) est positive mais faible ( $R=0,486$ ) ; ces résultats indiquent que l'activité scavenger du peroxyde d'hydrogène dépend aussi de la teneur en composés phénoliques des extraits des fromages.

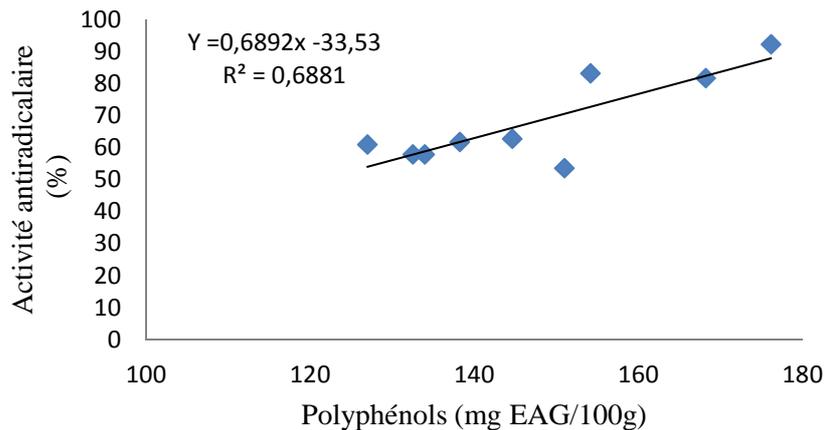


Figure 13: Corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité antiradicalaire des fromages.

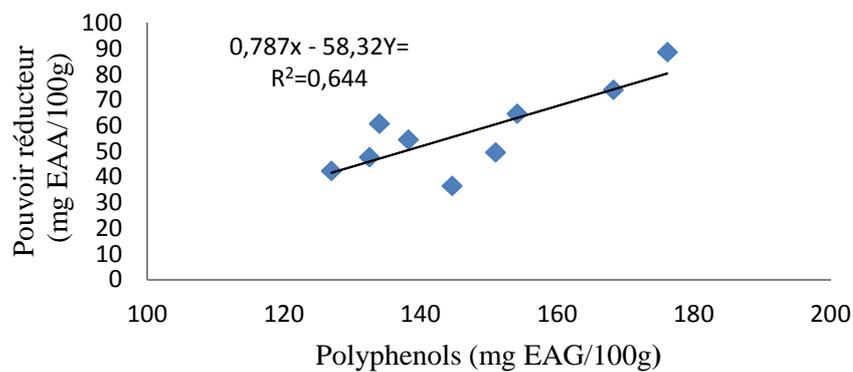


Figure 14: Corrélation entre la teneur en polyphénols et le pouvoir réducteur des fromages.

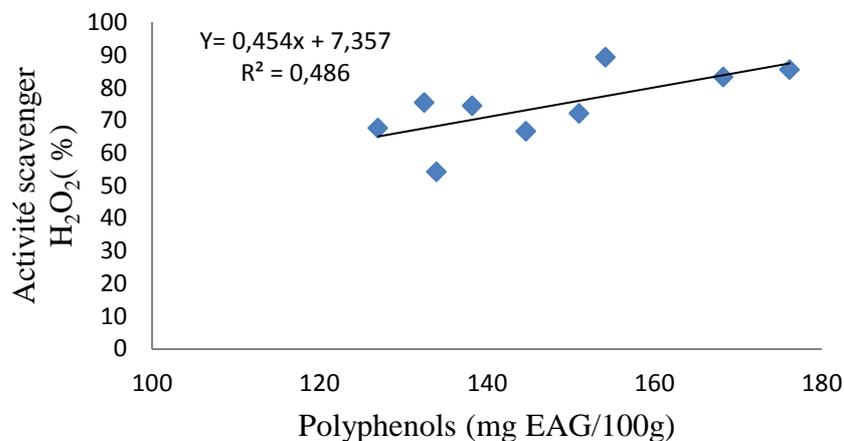
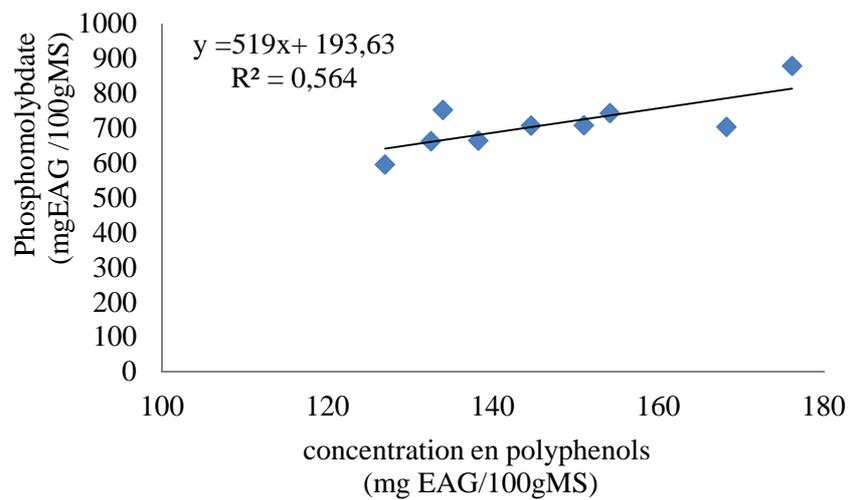


Figure 15: corrélation entre les teneurs en polyphénols et l'activité scavenger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## Résultats et discussion

Les résultats de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante (phosphomolybdate d'ammonium) sont présentés dans la figure 16. Une corrélation positive est démontrée ( $R=0,564$ ) entre l'activité antioxydante et la teneur en phénols totaux des extraits des fromages ; ces résultats indiquent que l'activité antioxydante dépend de la teneur en composé phénolique des extraits.



**Figure 16:** Corrélation entre la teneur en polyphénols des fromages et le test au phosphomolybdate d'ammonium.

# *Conclusion*

### Conclusion

La présente étude est consacrée aux dosages des protéines et des composés phénoliques et ainsi qu'à la détermination du pouvoir antioxydant de trois lots de fromages fondus.

Les teneurs en composés phénoliques des fromages analysés diffèrent selon le lot. Elles varient entre  $136,60 \pm 8,94$  et  $166,16 \pm 11,14$  mg/100g de matière sèche.

Les différentes méthodes utilisées ont permis d'établir que, les molécules bioactives de ces fromages peuvent protéger l'organisme et lutter contre le stress oxydatif, de plusieurs façons : soit par un effet de piégeage de radicaux libres, soit par un effet réducteur. Les extraits des fromages analysés sont tous capables d'inhiber ou de retarder significativement le phénomène d'oxydation.

Les fromages étudiés constituent de ce fait, une source potentielle d'antioxydants. Leur consommation régulière est donc bénéfique pour l'organisme du fait d'un effet protecteur contre les maladies dégénératives, métaboliques ou cardiovasculaires.

Cette étude n'a pas exploré toutes les propriétés des ces fromages fondus. Il serait intéressant de compléter notre analyse par :

- Un contrôle qualitatif et quantitatif des extraits afin d'identifier les molécules bioactives de ces fromages;
- Une mesure de la biodisponibilité des molécules responsables de l'activité antioxydante.

*Références*

*bibliographiques*

## *Références bibliographiques*

- Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A.** (2007). Radicaux libres dérives de l'oxygène et superoxyde dismutase : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme* **74** :636-643.
- Amzal H.** (2010). Etude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Thèse de doctorat. Université Mohammed V agdal. Rabat.
- Apostolidis E., Kwon Y-I., Shetty K.** (2007). Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **8**:46–54.
- Berger M-M.** (2006). Nutritional manipulation of oxidative stress. *Nutrition Clinique et Métabolisme* **20** :48-53.
- Bonnefont-Rousselot D.** (2012). Micronutriments et risque cardiovasculaire. *Nutrition Clinique et Métabolisme* **26** :14-21.
- Commission du codex alimentarius.** Examen des matières premières et de la teneur minimale en protéines dans la norme. Quatrième Session Wellington, Nouvelle-Zélande, 28 février - 3 mars 2000.
- Eck A., Gillis J-C.,** (2006). Fromage. Lavoisier, Tec& Doc. Paris. 3<sup>eme</sup> Edition. p 696-767.
- Esterle L.** (2010). Calcium et santé osseuse chez l'enfant et l'adolescent. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture* **23** :65-69.
- Favier A.** (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Le stress oxydant. *Mécanismes biochimiques* : 108-116.
- Filaire E., Toumi H.** (2012). Rôle de dérives réactives de l'oxygène et de l'exercice physique sur le métabolisme osseux :amis ou ennemis. *Revue du Rhumatisme* **79** :341-346.
- Gardès-Albert M.** (2006). Aspects physico-chimiques des espèces réactives de l'oxygène Physico-chemical aspects of reactive oxygen species. *Annales Pharmaceutiques Françaises* **64** :365–372.
- Gill H, Chen X, Sun C, Zhang Y, Gross M-L.** (2000). Imminoregulatory peptides in bovine milk. *British Journal of Nutrition.*; **84** : 111-117.
- Gulçin I., Bursal E., Sehitoglu M-H., Bilsel M., Goren A-C.** (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology* **48** : 2227–2238.

**Journal officiel des Communautés européennes.** Communication de la Commission relative aux caractéristiques des produits à fournir au titre de l'aide alimentaire communautaire. 31.10.2000.

**Kazeem M-I., Akanji M-A., Hafizur- Rahman M., Choudhary M-I.** (2012). Antiglycation, antioxidant and toxicological potential of polyphenol extracts of alligator pepper, ginger and nutmeg from Nigeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 727-732.

**López-Expósito I., Amigo L., Recio I.** (2012). A mini-review on health and nutritional aspects of cheese with a focus on bioactive peptides. *Dairy Science and Technology* 92:419-438.

**Mandell G-L.** (2013). Catalase, Superoxyde dismutase, and Virulence of *Staphylococcus Aureus*. *Journal of Clinical Investigation* 55:561-566.

**Massion P., Jean-Charles Preiser J-C., Balligand J-L.**(2002). Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères ? *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16 :248–252.

**Meira S-M-M., Daroit D-J., Helfer V-E., Corrêa A-P-F., Segalin J., Carro S., Brandelli A.** (2012). Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. *Food Research International* 48: 322–329.

**Meot Duros L., Gaetan G.L. et Magné C. (2008).** Radical scavenging, antioxidant and

**Moreno-Rojas R., Sánchez-Segarra P. J., Cámara-Martos F., Amaro-López M-A.** (2010). Multivariate analysis techniques as tools for categorization of Southern Spanish cheeses: nutritional composition and mineral content. *European Food Research Technology* 231:841–851.

**Nagoaka S-K., Miwa M-E., Kuzuya Y., Hori G., Yamamoto K.**(1999). Soy protein peptic hydrolysate with bound phospholipids decreases micellar solubility and cholesterol absorption in rats and caco 2 cells. *Journal of Nutrition* 129 :1725-1730.

**Pasma M.-N. (2010).** Evaluation des activités antioxydantes des extraits aqueux de quelques épices et légumes de l'ouest-Cameroun. Mémoire du diplôme de professeurs de l'enseignement secondaire deuxième grade. Université de Yaoundé I.

**Pelli K., Lyly M.** (2003). Les antioxydants dans l'alimentation. *Flair & Flow*. Paris.3<sup>ème</sup> Edition. p 6-28.

**Perrin J-F.** Dosage des protéines totales d'un échantillon. *Analys Chimie* 1-3.

**Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J-O.** (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant défences. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16 :233-239.

- Pincemail J., Lecomte J, Collart E, Castiaux J-P , Defraigne J-O.**(2003). Stress oxydant, antioxydants et exercice physique. *Médecine Interne*.**6** :1-3.
- Roussel A-M., Hininger-Favier I.** (2009). Eléments-trace essentiels en nutrition humaine : chrome, sélénium, zinc et fer. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). *Endocrinologie-Nutrition* **10** : 10-359.
- Sarazin M., Alexandre Ch., Thomas T.** (2000). Influence des apports en oligoéléments, protéines, lipides, glucides et vitamines sur le métabolisme osseux. *Revue Rhumatisme* **67** : 486-97.
- Sharma K D., Stähler K., Smith B., Melton L.** (2011). Antioxidant capacity, polyphenolics and pigments of broccoli-cheese powder blends. *Journal Food Science Technology* **48** :510–514.
- Siddhuraju P, Becker K.** (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry* **101**: 10–19.
- St-Gelais D., Collet T.** (2002). Fromages. In «Science et technologie du lait ». Presses Internationales Polytechnique. p 349- 415.
- Wal J-M.** (2011). Allergénicité des protéines laitières. *Innovations Agronomiques* **13** :25-43.
- Walther B., Schmid A., Sieber R., Wehrmüller K.,** (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Science Technology* **88** : 389–405.
- Wilson A., Salamatian L.** (2003). Les Radicaux Libres : Une question d'équilibre. Université de Versailles Saint-Quentin-en Yvelines.

## Résumé

Dans le cadre de la lutte contre les maladies dégénératives, des études sont menées depuis quelques années, sur la recherche de nouvelles sources d'antioxydants naturels. Notre étude a été menée sur trois marques de fromage fondu. L'activité antioxydante des extraits a été déterminée par l'évaluation: de leur activité antiradicalaire : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH); de leur teneur en polyphénols à l'aide du réactif de Folin-ciocalteu, de leur effet piègeur du peroxyde d'hydrogène "H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>"; leur pouvoir réducteur de l'ion ferrique, et de leurs pouvoir réducteur de l'ion molybdène " Mo<sup>6+</sup>". Les résultats des analyses ont révélé que, les teneurs en polyphénols de fromage R a été les plus élevé, de même que leur effet piègeur sur le peroxyde d'hydrogène "H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>" et le radical libre DPPH et leur activité réductrice vis-à-vis de l'ion ferrique et molybdène. Ces observations démontrent que le fromage R est capable de manifester une activité protectrice vis-à-vis des radicaux libres.

## Abstract

In the context of the fight against degenerative diseases, studies are carried out in recent years on finding new sources of natural antioxidants. Our study was conducted on three brands of processed cheese. The antioxidant activity of the extracts was determined by evaluating: their anti-radical activity: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) their polyphenol content using the Folin-Ciocalteu reagent, their scavenging effect of hydrogen "H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>" peroxide, their reducing power of the ferric ion, and their reducing power of the molybdenum ion "Mo<sup>6+</sup>" The analysis results showed that the levels of polyphenols R cheese was the highest, as well as their scavenging effect on hydrogen peroxide "H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>" and the free radical DPPH and reducing activity vis-à-vis ferric ion and molybdenum. These observations demonstrate that the R cheese is able to demonstrate a protective activity vis-à-vis the free radicals.

ر جديدة للمضادات

الأكسدة الطبيعية. وقد أجريت الدراسة على ثلاثة أنواع من الجبن. تم تحديد نشاط مضادات الأكسدة من مقتطفات من خلال تقييم: نشاطهم مكافحة الراديكالية: 1,1-ثنائي الفينيل-2- (DPP-2) picrylhydrazyl (H) محتواها البوليفينول باستخدام كاشف فولين-Ciocalteu، تأثيرها الكسح من الهيدروجين بيروكسيد "H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>"، قوتهم الحد من أيون الحديدك، وقوتهم الحد من أيون الموليبدنيوم "MO<sup>6+</sup>". وأظهرت نتائج التحليل أن مستويات مادة البوليفينول الجبن R كان أعلى، فضلا عن تأثيرها على نظافتها بيروكسيد الهيدروجين "H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>" و DPPH الجذور الحرة والحد من النشاط وجها لوجه أيون الحديدك والموليبدنيوم. وتبين هذه الملاحظات أن الجبن R قادرون على إثبات وجود نشاط وقائي وجها لوجه مع الجذور الحرة.