République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université A. MIRA – Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Sciences Alimentaires Spécialité : production et transformation laitière



Réf :....

Mémoire de Fin de Cycle En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Enrichissement d'un produit laitier par des antioxydants d'origine naturelle

Présenté par :

BELAIFA LYNDA & BELHOCINE MELISSA

Soutenu le : 30 Juin 2019

Devant le jury composé de :

Mme FELLA SAMIRAMAAPrésidentMme BRAHMI NABILAMCBEncadreurMlle TAZRART KARIMAMCBExaminateur

Année universitaire: 2018/2019

Remerciements

Louange à Allah qui nous a inspiré et combler de bienfaits, on lui rend grâce.

ous tenons à exprimer notre gratitude à notre promotrice Mme BRAHMI.N d'avoir accepté de diriger ce travail et pour tous ses conseils avisés.

Il nous est aussi agréable de remercier les membres de jury qui auront à examiner et évaluer notre travail.

Notre vive reconnaissance à Mme KHERFELLAH.S responsable du laboratoire du contrôle qualité PREVOLAB pour nous y avoir accueillies ainsi qu'aux personnels du laboratoire ;

M^{lle} TIRANE, M^{lle} BELKEBLA, M^{lle} MAKOUF, M^{lle} DENDOUNE.

Nos remerciements vont également à Mme SMAIL L., enseignante au département des sciences alimentaires ainsi que Mme BENAMEUR S. ingénieur d'évaluation sensorielle.

On exprime notre reconnaissance à Mme BELHADI de nous avoir fourni les souches bactériennes.

Dédicaces

Je dédie ce travail:

Aux deux piliers de mon existence, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez. Je te remercie infiniment papa pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de faire pour mon éducation et mon bonheur, merci ma source de tendresse maman chérie ;

A mon unique frère et adorable sœur;

À mes oncles et tantes;

À AMINE, DANIA et ma petite MANEL;

À ma tendre binôme Melissa;

À tous mes amis et à tous ceux qui me sont chers.

Lynda

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes très chers parents, qui m'ont apporté leurs appuis durant tout mon parcours d'études, pour leurs sacrifices, leur soutien et encouragements.

A mon frère unique YANIS, que dieu le protège

A ma petite sœur SARA et à FAIZA, son mari et leurs enfants MAROUA et RAOUF

A mon fiancé qui m'a apporté un soutien sans faille, je suis reconnaissante pour ta patience et tes encouragements, Merci BILEL.

A mes oncles et tantes, à ma cousine AMINA pour leurs encouragements

A ma chère amie et binôme DYDOUCH

A toutes mes amies, CELIA, MERIEM, CISSA, AMEL, IMENE, qui m'ont soutenues et encouragé tout au long de la réalisation de ce travail

A toute la promotion PTL 2018/2019, je vous souhaite beaucoup de réussite.

Melissa

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01
Synthèse bibliographique	
I. Généralités sur la menthe	02
I. 1. Description	02
I. 2. Nomenclature	
I. 3. Composition chimique	03
I. 4. Valeur nutritionnelle	
I. 5. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques	
II. Généralités sur l'inule	
II.1. Description	
II.2. Nomenclature	
II.3. Composition chimique	
II.4. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques	
III. Généralités sur composés phénoliques	
III.1. Polyphénols	
III.2. Flavonoïdes	
III.3. Tannins IV. Généralités sur les radicaux libres	
V. Généralités sur le fromage frais V.1. Définition	
V.1. Definition V.2. Valeur nutritive	
V.3. Principe de fabrication du fromage à pâte fraiche	
VI. Généralités sur les bactéries lactiques	
VI.1. Caractéristiques générales	
VI.2. Principaux genres	11
Matériel et méthodes	
I. Matériel végétal	12
I.1.Traitement des échantillons	
I.1.1 Test d'humidité	
I.1.2. Prétraitement des échantillons	
II. Préparation des échantillons de fromage	
•	
III. Analyses physicochimiques	13
III.1. Préparation des extraits aqueux des échantillons de fromage	
III.2. Dosage des polyphénols totaux	
III.3. Dosage des flavonoïdes	
III.4.Evaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH	15

III.5.Détermination de l'acidité titrable	16
III.6.Détermination de la teneur en Matière grasse par la méthode	
GERBER - ISO 1211	
IV. Analyses microbiologiques	19
IV.1.Levures et moisissures	20
IV.2. Coliformes totaux	
IV.3. Flore lactique	
IV.3.1.lactobacilles.	
IV.4. Activité antibactérienne	
V. Analyses sensorielles	
VI. Analyse statistique	
VI. Analyse stausuque	22
Résultats et discussion	
I. Analyses physicochimiques	23
I.1.Teneurs en humidité	
I.2. Teneurs en polyphénols totaux (PPT)	24
I.3. Teneurs en flavonoïdes	26
I.4. Activité antioxydante (test de DPPH)	28
I.5. Acidité titrable	32
I.6. Matières grasses	33
II. Analyses microbiologiques	34
II.1. La flore lactique	35
II.2. Coliformes, levures et moisissures	36
II.3. Activité antibactérienne	36
III. Analyses sensorielles	37
III.1.Caractérisation des produits	37
III.2. Pouvoir discriminant par descripteur	
III.3.Moyennes ajustées par produit	38
III.4. Analyse des composantes principales(ACP)	
III.5.Classificationn hiérarchique	
III.6.Cartographie des préférences	
Conclusion	43
Annexes	

Liste des abréviations

Abs: Absorbance.

AL: acide lactique

BL: Bactéries lactiques

ANOVA: Analysis Of Variance.

DLC: Date Limite de Consommation.

DPPH: 1,1- Diphényl-2-Picrylhydrazyl

E.Coli: Escherichia Coli

EAG: Equivalent Acide Gallique.

EQ: Equivalent quercétrine.

GA: Germes anaérobies

GC: Giolitti cantoni

IC₅₀: Concentration d'Extrait inhibant 50% de radicaux.

J: Jour.

J.O.R.A: Journal Officiel de la République Algérienne.

MG: Matière grasse.

MRS: Man Rogosa et Sharpe

MS: Matière sèche

OGA: gélose glucosée à l'oxytétracycline

PCA: Plate Count Agar

pH Potentiel Hydrogène.

PPT: Polyphénols Totaux.

S.aureus: staphylococcus aureus.

UFC: Unité Formant Colonies.

ug: Microgramme.

VRBL: violet Crystal Neutralred Bile Lactose.

Liste des figures

Numéro de la	Titre de la figure	Numéro de
figure		page
01	Photographie des feuilles et fleurs de <i>M spicata</i>	02
02	Photographies des feuilles et fleurs de l'inule	05
	visqueuse	
03	Schéma de base de fabrication des fromages frais.	10
04	protocole de dosage des polyphénols	14
05	Protocole de mesure de l'activité anti-radicalaire par le	15
	DPPH	
06	Titrage du fromage par la solution NaOH	17
07	Dosage de la Matière grasse	18
08	Résultats du dosage de MG	18
09	Teneur en humidité des feuilles fraiches des plantes et	23
	du fromage témoin.	
10	Teneur en PTT des feuilles de <i>M.spicata et I.viscosa</i> .	24
11	Teneur en PPT des fromages au cours de la	25
	conservation.	
12	Teneur en flavonoïdes des feuilles de M.spicata et	26
	I.viscosa.	
13	Teneur en flavonoïdes des fromages au cours de la	27
	conservation.	
14	Pourcentage d'inhibition du DPPH dans les feuilles	28
	d'I.Viscosa et M.Spicata.	
15	Activité anti radicalaire des fromages au cours de la	29
	conservation.	
16	Courbes de corrélation établies entre l'activité	31
	antioxydante (DPPH) et les PPT des fromages B et F.	
17	Evolution de l'acidité titrable des fromages en fonction	32
	de la durée de conservation.	

18	Activité antibactérienne des de la partie aérienne des	36
	plantes.	
19	Pouvoir discriminant par descripteur	37
20	Corrélations entre les variables et les facteurs	39
21	Classification ascendante hiérarchique des sept	40
	fromages frais	
22	La cartographie des préférences	41

Liste des tableaux

Numéro du	Titre du tableau	
tableau		de page
I	Nomenclature de Mentha spicata.	03
II	Valeur nutritionnelle de <i>Mentha spicata</i>	04
III	Nomenclature d'inula viscosa	06
IV	Valeur nutritionnelle moyenne d'un fromage frais.	09
V	Analyse de conformité du fromage frais.	19
VI	Analyse de conformité des poudres.	19
VII	Teneurs en MG des fromages au cours de la conservation.	33
VIII	Résultats microbiologiques des poudres.	34
IX	Résultats microbiologiques du fromage frais.	34
X	Evolution de la flore lactique des fromages enrichis au cours de la conservation.	35
XI	Moyennes ajustées par produit	38
XII	Pourcentage de juges satisfaits pour chaque objet	41

Introduction

Le corps humain est toujours confronté à plusieurs dangers tels que les radicaux libres qui sont spontanément produits dans nos systèmes biologiques. Ce sont des molécules capables d'engendrer certaines pathologies et susceptibles d'altérer la qualité de l'aliment (Favier,2003).

Les antioxydants sont largement utilisés comme additifs par l'industrie alimentaire pour empêcher ou retarder l'altération des aliments, en inhibant notamment l'oxydation lipidique. Parallèlement, leur rôle préventif vis-à-vis du stress oxydatif a fait l'objet de nombreuses études, dans le but d'éviter l'apparition de maladies graves comme certains cancers, maladies cardiovasculaire ou maladies dégénératives liées au vieillissement (Girardet, 2011).

Les plantes aromatiques et médicinales ont toujours occupé une place très importante en médecine vu leur capacité de prévenir, soulager ou guérir des maladies (Ismaili et al., 2016). Plusieurs recherches ont montré dernièrement que de nombreuses pathologies humaines sont causées ou favorisées par le stress oxydant (Berger, 2006) : qui est un déséquilibre entre les systèmes producteurs d'espèces radicalaires oxydantes et les systèmes de défense antioxydant (Bonnefont-Rousselot et al., 2002).

Par ailleurs, les polyphénols se dégradent au cours du processus de digestion par l'activité des puissants sucs gastriques de l'estomac, ce qui diminue leur effet antioxydant, (Britten,2018). C'est pour cela que nous avons opté pour l'enrichissement d'un produit laitier qui est « le fromage » en se basant sur l'incorporation d'extraits végétaux bruts qui s'avèrent bénéfique pour l'amélioration de la qualité de ce produit vu l'impact positif des interactions entre les composés phénoliques et les protéines laitières.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressées à l'enrichissement d'un fromage frais par des antioxydants de la partie aérienne de deux plantes poussant spontanément dans la région de Bejaia : *Inula viscosa* et *Mentha spicata* .

Notre étude est scindée en deux parties, une synthèse bibliographique portant des généralités sur : les deux plantes étudiées, les fromages, flore lactique, composés phénoliques et radicaux libres, tandis que la deuxième partie est consacrée pour l'étude expérimentale qui regroupe les différentes méthodes appliquées et résultats obtenus avec leurs interprétations et discussions.

Enfin, une conclusion générale résumera l'essentiel des résultats obtenus et des perspectives apportées au travail sont proposées.

Synthèse Bibliographique

I. Généralité sur la menthe

I.1. Description

La menthe verte est une plante vivace sauvage ou cultivée, elle est souvent subspontanée. Ses feuilles sont sessiles, opposées, à limbes gaufrés munis de dents pointues, elles sont lancéolées de couleurs vert vif sur les deux faces (**Abidjan, 2010**)

Les fleurs comportent un calice en forme de clochette, glabre ou cilié, divisé en 5 dents linéaires, une corole violet pâle, rose ou blanche, quatre étamines saillantes de taille identique. La floraison a lieu de juillet à septembre (Figure n°1) (**Teuscher** *et al.*, **2005**)

La menthe verte pousse essentiellement sur les terrains riches, profonds et frais , elle n'aime pas les sols calcaires. On la trouve surtout à basse altitude dans les régions tempérées entre 400 et 1800 mètres, elle préfère les lieux ensoleillés à semi ombragés (Olivereau et Robouam , 2014).



Règne: Plantae

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre: Mentha

Espèce: Mentha spicata

Figure n°1: Photographie des feuilles et fleurs de *M spicata* (Teuscher et al., 2005)

I.2. Nomenclature

Plusieurs noms ont été attribués à la menthe verte :

Tableau I : Nomenclature de *M spicata* (**Teusher et al., 2005**).

Nom kabyle et arabe	Naanaa
Nom français	Menthe verte ou menthe douce
Nom anglais	Spearmint, Green mint
Nom allemand	Krauseminze, GruneMinze

I.3. Composition chimique

Les huiles essentielles

La menthe verte est très riche en huiles essentielles, elle est constituée de 40 à 80 % de L - carvone, 5 à 15% de Limonène, 50 à 60% Linalol , 20 % de 1,8 –cinéole et 8 à 10 % de Menthone.

Les composés phénoliques

Selon Benabdallah (2017), les principaux composés phénoliques identifiés dans la menthe verte sont comme suit :

• Les Acides phénoliques :

Acide rosmarinique, acide caféique (60 à 80%), acide chlorogénique, acide vanilique, acide 4-hydrocinnamique, acide férulique et acide p-coumarique.

Les flavonoïdes

Diosmentine, acacétine, thymonine, sideritoflavone, apigénine, catéchine, lutéoline, rutine.

Les Tanins

Resveratrolstilbenoide, Tyrosolphenylethanoide.

I.4. Valeur nutritionnelle

En plus des huiles essentielles et des composés phénoliques, la menthe verte renferme certains nutriments qui sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau II : Valeur nutritionnelle de *M spicata* (**Chakravarty., 1976**).

Composés	Teneurs
Protéines	4.8%
Lipides	0.6%
Carbohydrates	08%
Fibres	02%
Calcium	200 mg
Sel minéraux	1.6%
Fer	15.6%

I.5. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques

La menthe verte est traditionnellement utilisée contre les affections hépatiques, cardiaques et respiratoires (**Kee et al., 2017**). Ainsi, l'éventail des propriétés attribuées à cette espèce est assez large, d'où découlent quelques activités biologiques, parmi lesquelles, on peut citer :

- Activité antibactérienne (Barchan et al., 2016);
- Activité anti-inflammatoire (Arumugam et al., 2008);
- Activité antioxydante (Javan, 2013).

II. Généralités sur l'inule

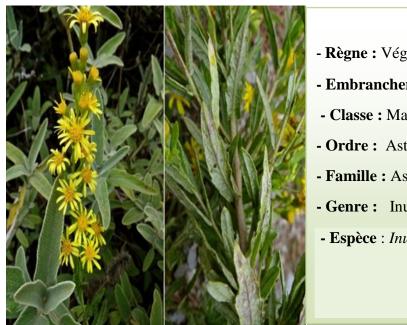
II.1. Description

L'inule visqueuse est une plante vivace méditerranéenne de la famille des Astéracées, très odorante et qui fleurit en octobre. On la trouve très fréquemment dans les oliveraies avant qu'elle ne soit arrachée, considérée comme une mauvaise herbe encombrante.

Les fleurs sont rayonnantes et jaunes, avec des inflorescences en longues grappes pyramidales, on les observe en septembre-octobre (Figure n°2)

Les feuilles sont légèrement collantes d'où l'appellation « visqueuse ». Elle pousse dans les endroits incultes et le pied peut atteindre 120 centimètres de haut (François et Warlop, 2006)

Selon (Fournier, 1947), la classification de la plante est décrite comme suit :



- **Règne**: Végétal.

- Embranchement : Magnoliophyta

- Classe: Magnoliopsida

- Ordre: Astérales.

- Famille : Astéracées.

- Genre: Inula.

- Espèce : Inula viscosa

Figure n°2 : Photographies des feuilles et fleurs de l'inule visqueuse (Anonyme)

II.2. Nomenclature

Plusieurs noms ont été attribués à l'inule visqueuse :

Tableau III: Nomenclature d'*I viscosa*

Nom kabyle	Amagramane
Nom arabe	El tayoune
Nom français	Inule visqueuse
Nom anglais	Stichkyfleabane

II.3. Composition chimique

Les huiles essentielles

La composition chimique de l'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes fleuries d'*I Viscosa*, a été analysée par chromatographie GC/MS.

Les sesquiterpènes alcooliques fokienol (38.8%) et E-nerolidol (7.1%) ont été considérés comme principaux composants parmi les 53 constituants identifiés qui représente (60%) d'huile.

Les composés phénoliques

- Les polyphénols: Ils sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes (les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes et les coumestanes, autres phytoestrogènes, les saponines ou triterpenoïde) en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (Manallah,2012).
- Les terpénoïdes: Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène.
 Ces composés majoritairement d'origine végétale sont classés en: Hémiterpènes monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, tétraterpènes et polyterpènes. (Malecky, 2005).
- Les Alcaloïdes : Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique. Ils sont

produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et lors de ces transferts ils peuvent subir des modifications (**Krief, 2003**).

II.4. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques

En Algérie, l'inule visqueuse jouit d'une grande popularité où elle est utilisée sous forme de suc de feuilles fraîches pour arrêter les hémorragies, prévenir les inflammations et activer les cicatrisations (**Baba Aissa**, 2000). Elle possède une activité biologique et antibactérienne pour prolonger la durée de conservation de nourriture (**Franco** et al., 2008).

L'un de ses composés (terpénoïde) est utilisé dans le secteur de la nutrition humaine (joue un rôle dans la saveur, la conservation, etc.) ainsi que dans l'industrie du parfum (**Upton, 2006**).

Inula Viscosa possède une activité antidiabétique (**Zeggwagh** *et al.*, **2006**), une activité antipyrétique et antiseptique (**Lauro et Rolih,1990**). Elle est aussi prescrite comme un agent dans l'induction de l'avortement et la stérilité des femelles (**Al-Khalil** *et al.*, **1992**).

III. Généralités sur les composés phénoliques

III.1. Polyphénols

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Boizot et Charpentier**, **2006**).

De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires. Leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas (**Manach et al., 2005**).

III.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette de base à 15 atomes de carbone et constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure (C6-C3-C6) (**Ghedira, 2005**). Ce sont des pigments très largement répandus dans le règne végétal (les fruits, les légumes, les graines ou encore les racines des plantes), souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits (**Kim** *et al.*, **2004**). A l'état naturel ils

existent le plus souvent sous forme d'hétérosides. Les principales classes des flavonoïdes sont les favones, les flavonols, les flavan-3-ols et anthocyanidines (**Chira** *et al.*, **2008**).

De nombreux flavonoïdes comme le lycopène dans les tomates et les procyanidines dans les pommes, le raisin et les fraises, sont utilisés en médecine pour la prévention du cancer et des maladies cardiovasculaires aussi comme agents antiviraux, d'autres sont utilisés pour leur saveur ou leur parfum (Nabors, 2009).

III.3. Tannins

Les tannins sont des substances phénoliques naturelles d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible qui est le cuir. Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau qui présentent aussi la propriété de précipiter les alcaloïdes.

Leur poids moléculaire (PM) est compris entre 500 et 3 000 Da, ils se trouvent dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits les racines (**Zimmer et Cordesse**, 1996).

Selon leur structure biochimique, il est usuel de distinguer deux classes de tannins : les tannins hydrolysables (THs) et les tannins condensés (TCs) (**Frutos** *et al.*, **2004**).

IV. Généralités sur les radicaux libres

La matière vivante est composée d'atomes qui comprennent respectivement des éléments appartenant au noyau et d'autres, les électrons qui forment un nuage orbital autour de celui-ci. Ces électrons sont animés d'un mouvement de rotation à la fois autour du noyau et sur eux-mêmes. (Xavier et Leverve, 2009).

Ces mouvements correspondent à une énergie importante qui rend ces composés instables c'est-à-dire très réactifs avec les éléments voisins. Dans la matière, ces électrons sont le plus souvent stabilisés grâce à la formation de couples ou paires d'électrons. On appelle radical libre tout corps qui contient un ou plusieurs électrons libres (célibataires) le rendant très réactif.

À l'état naturel l'oxygène qui comporte naturellement deux électrons célibataires sur la couche périphérique est très instable avec une très forte tendance à « oxyder » les composés qu'il rencontre en leur arrachant un électron pour l'apparier à l'un de ses électrons célibataires. Ces composés deviennent à leur tour instable initiant une véritable chaîne de peroxydation. (Xavier et Leverve, 2009).

V. Généralités sur le fromage frais

V.1. Définition

Selon la norme du Codex Alimentarius (2001), le fromage frais ou non affiné est un fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après sa fabrication. Ce fromage se caractérise par l'absence d'affinage après les étapes d'égouttage et de moulage, fabriqué à partir de lait ou de crème propre à la consommation humaine.

Il résulte de la coagulation à prédominance lactique du lait, combinant souvent l'action des ferments lactiques et celle de la présure (**Luquet et Corrieu, 2005**).

V.2. Valeur nutritive

La valeur nutritionnelle du fromage varie selon la teneur en matière grasse du lait utilisé ainsi que le procédé de fabrication.

Le tableau ci-dessous représente la valeur nutritive d'un fromage frais :

Tableau IV: valeur nutritionnelle moyenne d'un fromage frais (**Richonnet**, 2015)

Elément	Concentration
Eau (g)	79
Energie (Kcal/100g)	118
Protéines (g/100g)	9
Lipides (g/100g)	17
Acides gras saturés (g/100g)	12
Glucides (g/100g)	4
Calcium (mg/100g)	140
Sodium (mg/100g)	520
Phosphore (mg/100g)	95

V.3. Principe de fabrication du fromage à pâte fraiche

Le principe général de la fabrication du fromage frais est résumé dans le diagramme suivant :

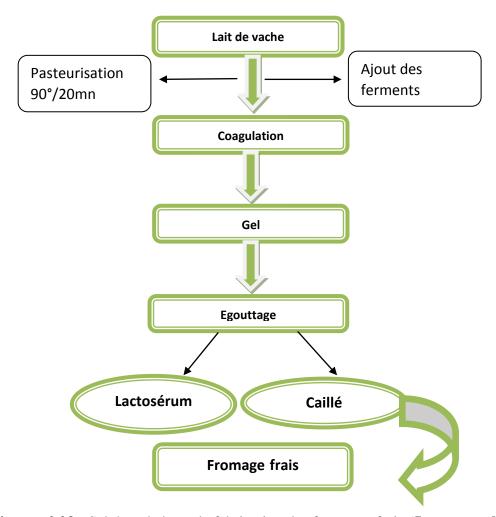


Figure n° 03 : Schéma de base de fabrication des fromages frais (Jeantet et al. 2007)

VI. Généralités sur les bactéries lactiques

VI.1. Caractéristiques générales

Les bactéries lactiques ont toujours occupé une place importante parmi les auxiliaires de fabrication alimentaire, leurs caractères variés et leurs multiples propriétés sont largement exploités dans l'agroalimentaire. Les bactéries sont présentes dans notre alimentation quotidienne que ce soit dans les produits laitiers (fromage, yaourt) certains produits végétaux ou produits carnés (Garrly et al.,1999).

Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryotes, gram-positives, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles sont le plus souvent immobiles, jamais

sporulées, catalase négative, oxydase négative, anaérobies facultatifs, micros aérophiles. Encore appelées bactéries de l'acide lactique, elles sont caractérisées par leur aptitude à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique en utilisant les voies cataboliques d'Embden Meyerhof Parnas (EMP), de Dickens-Horecker et d'Entner Doudoroff. Elles sont dites homofermentaires lorsque l'acide lactique est le seul produit formé, par contre elles sont hétérofermentaires lorsque d'autres composés comme l'éthanol et le CO2 sont produits en même temps (Savadogo et Alfred , 2011).

VI.2. Principaux genres

Les bactéries lactiques utilisées dans l'industrie fromagère regroupent plusieurs genres dont les principaux sont Lactococcus et Lactobacillus.

Lactococcus

Lactococcus est représenté par six espèces (Lc. garviae, Lc. lactis, Lc. piscium, Lc. plantarum, Lc. raffinolactiet Lc. xylosus), trois sous-espéces(Lc. lactisssp. lactis, Lc. lactisssp. cremoriset Lc. lactisssp. hordniae) et un biovar (Lc. lactissp. lactisbiovardiacetylactis) (Raynaud, 2006).

Ces espèces présentent un métabolisme homolactique et sont mésophiles puisque leur température optimale de croissance est aux alentours de 30°C (Casalta et Montel, 2008).

Les souches de Lactococcus lactis sont fréquemment utilisées dans la fabrication de produits laitiers et ont pour intérêt une acidification correcte et une génération de saveurs et d'arômes. En fermentant le lait, elles donnent ainsi au produit fini des caractéristiques organoleptiques particulières et permettent une conservation plus longue (**Drouault et al.**, 1999).

Lactobacilus

Les bactéries appartenant à ce genre sont des bacilles longs et fins souvent groupés en chaines, se développant à un optimum de température situé entre 30 et 40°C.

Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, vitamines, acides gras, nucléotides, en glucides et en minéraux (**Khalid et Marth, 1990**).

Matériel et Méthodes

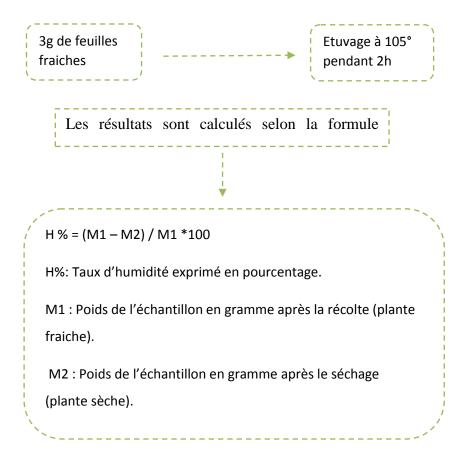
I. Matériel végétal

La récolte des feuilles de l'inule visqueuse et de la menthe verte est réalisée dans deux régions de la wilaya de Bejaia (la région d'Amizour, et la région de Tichy).

I.1. Traitement des échantillons

I.1.1. Test d'humidité

Les feuilles fraichement cueillies ont subi un test d'humidité selon le diagramme suivant :



I.1.2. Pré-traitements des échantillons

Les feuilles des deux plantes ont été soigneusement lavées plusieurs fois avec de l'eau minérale, égouttées puis séchées à 40° dans une étuve pendant environ une semaine.

Après séchage, elles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique puis tamisées afin d'obtenir une poudre fine.

Les poudres ainsi obtenues sont conservées dans des bocaux en verre, préalablement séchés à l'étuve, hermétiquement fermés et emballés dans du papier aluminium afin d'éviter le phénomène d'oxydation de leurs différents composés.

II. Préparation des échantillons de fromage

Le fromage frais utilisé dans notre étude a été fabriqué dans une laiterie au niveau d'EL KSEUR, il a été récupéré directement après égouttage dans des bocaux stériles et acheminé dans une glaciaire au laboratoire de Contrôle de Qualité, PREVOLAB.

Les échantillons de fromage utilisés pour notre étude, ont été aseptiquement préparés ainsi :

- Fromage A : fromage témoin.
- Fromages B, C et D sont les fromages enrichis par 0,25%, 0,5% et 0,75% de poudre des deux plantes préalablement stérilisées à 90°C/5min dans un four pasteur.

Les échantillons de fromage ont été conservés dans des boites stériles, le suivi des paramètres physicochimiques et microbiologiques a été effectué pendant 25 jours de conservation au réfrigérateur (6°C).

III. Analyses physicochimiques

Un suivi des analyses physico-chimiques a été effectué pendant la période de conservation des échantillons de fromage avec un intervalle de 6 jours.

III.1.Préparation des extraits aqueux des échantillons de fromage

Chaque échantillon de fromage frais (2g) a été homogénéisé avec 18ml d'eau distillée ; les échantillons obtenus ont été ensuite centrifugés à 4500tr/mn pendant 10mn ; le surnageant a été récupéré puis analysé.

III.2.Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux ont été évaluées suivant la méthode colorimétrique au Folin-Ciocalteu (**Singleton et al.,1999**).

Principe

Le dosage des polyphénols totaux est basé sur la réduction de l'acide phosphomolybdène en phosphotengstène du réactif de Folin-Ciocalteu lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes de bleu de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23).

La présence de carbonate de sodium rend le milieu légèrement alcalin. L'intensité de la coloration bleue est proportionnelle au taux de composés phénoliques (**Ribérau-Gayon**, 1998;**Bucic-Kojic et al.,2007**).

Mode opératoire

La figure suivante résume le protocole du dosage des PPT;

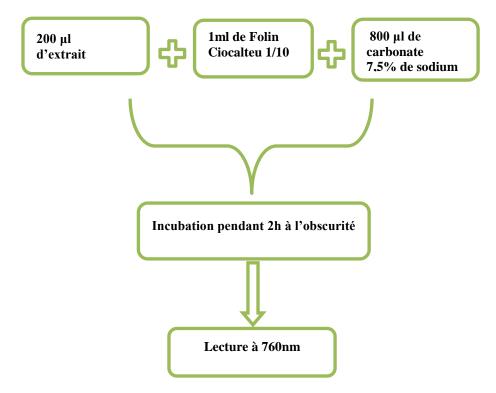


Figure n°04: Protocole de dosage des polyphénols selon Boizot et Charpentier (2006).

Expression des résultats

Les concentrations en polyphénols totaux sont déduites d'après une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (Annexe II) à différentes concentrations.

Les résultats du dosage sont exprimés en milligramme d'équivalent acide gallique par gramme de fromage (mg EAG/g).

III.3. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (Kim et al., 2003).

Mode opératoire

1ml d'une solution de trichlorure d'aluminium AlCl3 à 2% a été ajouté à 1 ml de l'extrait aqueux. Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm.

D'après la courbe d'étalonnage (Annexe III), la teneur en flavonoïde est exprimée en milligramme équivalent de quercétrine par gramme de poids de l'extrait.

III.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH

Principe

Le1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon (Chaabi, 2008).

Mode opératoire

La figure suivante résume le protocole du dosage

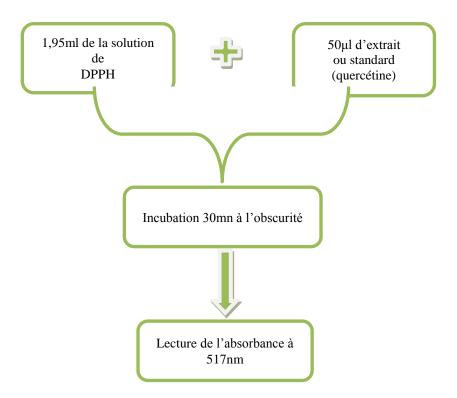


Figure n°05 : Protocole de mesure de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH

Expression des résultats

L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

% d'activité anti-radicalaire = [1- (Abséchantillon / Abscontrol)] x 100

Avec : Abscontrol et Abs échantillon sont les absorbances du contrôle et de l'échantillon respectivement.

III.5. Détermination de l'acidité titrable

Principe

Le principe est basé sur un titrage de l'acidité par l'hydroxyde de sodium (NaOH 0,1 M) en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré.

Mode opératoire

Dans un bécher, 1 ml d'extrait de chaque échantillon est introduit et 9 mL d'eau distillée ont été ajoutés, 3 gouttes de phénolphtaléine (1%) ont été additionnées et la suspension de fromage a été titrée avec une solution de NaOH (0.1 M) jusqu'au virage de la couleur au rose qui persiste durant 30 secondes (**Zainoldin et Baba, 2009**).



Figure n° 06: Titrage du fromage par la solution NaOH

Expression des résultats

L'acidité des échantillons est exprimée en équivalent acide lactique (AL) en utilisant la formule suivante :

$$AL (\%) = 0.9 \times V_{NaOH}$$

Avec VNaOH: chute de la burette

III.6. Détermination de la teneur en matière grasse

III.7. Principe

Cette méthode est basée sur la dissolution des composants du fromage par l'acide sulfurique ou un mélange d'acides, suivie de la séparation de la matière grasse du produit contenu dans un butyromètre par centrifugation. La séparation peut être favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool iso-amylique.

Mode opératoire

Dans des godets, 3 g de fromage ont été pesés. Le godet a été placé dans le butyromètre, l'acide sulfurique (90 %) a été ajouté, le tout est incubé dans un bain marie pendant 60 minutes pour faciliter la dissolution. Après incubation, 1 ml d'alcool iso-amylique a été additionné et le mélange a été centrifugé pendant 10 minutes à 5000 tr/min.



Figure n°07 : Dosage de la matière grasse

Expression des résultats

La lecture se fait directement sur l'échelle du butyromètre en pourcentage.



Figure n° 08 : Résultats du pourcentage de la MG

IV. Analyses microbiologiques

Les analyses de conformité du fromage frais (témoin) et des poudres (*I Viscosa*, *M Spicata*) effectués sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau V : Analyse de conformité du fromage frais.

Germes recherchés	Milieu utilisé	Température et durée d'incubation
E. Coli (JROA ,2017)	VRBL	44C°/48h
Staphylocoques à coagulase +	GC	37C°/48h
Salmonella	SFB	37C°/24h

Tableau VI: analyses de conformité des poudres.

Germes recherchés	Milieu utilisé	Température et durée d'incubation
GA / 30°C	PCA	37°C/48h
Coliformes thermo tolérants	VRBL	44°C/48h
Moisissures	OGA	25°C/5j
GA.sulfitoréducteurs	GC	44°C/48h
Salmonella	GC	37°C/48h

Après addition des poudres *d'I viscosa* et *M spicata* aux fromages frais, les levures et moisissures ainsi que les coliformes totaux ont été dénombrés à J+1.

Afin d'évaluer l'effet des deux plantes sur la flore lactique, deux suivis ont été effectués pour les échantillons de fromage enrichis pendant 25 jours de conservation, l'un s'est effectué au 1^{er} jour de l'enrichissement et l'autre au 25^{éme} jour de conservation ainsi qu'un suivi de l'activité antibactérienne avec un intervalle de 6 jours.

IV.1. Dénombrement des levures et moisissures

Ensemencement en masse de 1 ml de la suspension mère avec la gélose OGA. Après solidification, les boites ont été incubées à 25°C/5jrs, le nombre de micro-organismes caractéristiques aux levures et moisissures par gramme d'échantillon, correspondait au nombre de colonies comptées sur la boite ensemencée multiplié par deux. Une boite témoin contenant environ 15mL de gélose OGA et un autre contenant 1mL d'eau physiologique et environ 15mL du milieu OGA ont été préparées pour contrôler leur stérilité.

IV.2. Dénombrement des Coliformes totaux

Ensemencement en masse de 1 ml de la dilution avec la gélose VRBL. Après solidification, les boites ont été incubées à 30°C/24h. Le nombre de coliformes totaux par gramme d'échantillon, correspondait au nombre de colonies comptées sur la boite ensemencée multiplié par deux. Une boite témoin contenant environ 15mL de gélose VRBL et une autre contenant 1mL d'eau physiologique et environ 15mL de gélose VRBL ont été préparées pour contrôler leur stérilité.

IV.3. Flore lactiques

IV.3.1. Lactobacilles

Ensemencement en masse de 1 ml des dilutions 10⁻⁸ à raison de deux boites de Pétri pour chaque dilution, avec la gélose MRS. Après solidification du mélange, une couche superficielle composée d'environ 10 ml de milieu MRS a été ajoutée. Afin d'obtenir des conditions de semi-anaérobiose on double la couche. Les boites ont été laissées se solidifier et incubées à 37°C /72 h.

Expression des résultats

Les colonies ont été comptées sur les boîtes. Pour chaque micro-organisme caractéristique, le nombre de micro-organismes par gramme d'échantillon a été calculé en tant que moyenne pondérée à partir de deux dilutions successives (AFNOR, 2004).

$$N = \sum C /V (n1 + 0.1 n2) d$$

Où:

C :la sommes des colonies comptées sur toutes les boites retenues de deux dilutions successives ;

V : volume de l'inoculum (ml);

n1 : nombre de boites retenues à la première dilution ;

n2 : nombre de boites retenues à la deuxième dilution ;

d : taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

IV.4. Mesure de l'activité antibactérienne

Un test a été réalisé concernant l'effet antibactérien des feuilles de l'inule visqueuse et de la menthe verte sur la croissance de trois souches bactériennes qui sont *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus* et *Klebciella Pneumaniae*.

Deux méthodes de diffusion de la substance antibactérienne ont été réalisées : la méthode des puits et la méthode des disques (méthode d'antibioaromatogramme).

• Méthode des puits

Cette méthode repose sur la diffusion de la substance inhibitrice dans des puits creusés dans une gélose de Muller –Hinton contenant dans sa masse une souche indicatrice. A partir des cultures jeunes préparées on prélève quelques colonies des bactéries dans 5 ml d'eau physiologique stérile.

On verse la gélose dans des boites de pétrie qui sont partagés au préalable en quatre faces. Après solidification, les puits sont creusés dans la gélose à l'aide d'une cloche de Durham stérile ensuite trois puits sont remplis de l'extrait aqueux d'un échantillon et le puits restant est rempli par un témoin (antibiotique). Les boites sont incubées à 37c° pendant 24 heures.

Méthode d'antibioaromatogramme

Un volume de 0,2ml de la suspension bactérienne est étalé à la surface de la gélose, puis on dépose les disques de papier filtre stérile à la surface. Après incubation à 37c° pendant 24 heures, des zones d'inhibition peuvent être observées autour des disques.

Lecture des résultats

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour des puits contenant la substance inhibitrice testée. Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition.

V. Analyses sensorielles

L'évaluation sensorielle a porté sur sept échantillons de fromage codés comme suit :

- **Fromage A** : c'est un témoin (fromage frais sans addition de poudre).
- Fromage B, C, D, E, F, G: fromage frais incorporé avec 0,25; 0,50 et 0,75 % de poudre de l'inule et de la menthe respectivement. L'analyse sensorielle a été réalisée au niveau du laboratoire d'analyses sensorielles de l'Université de Bejaia, par un jury expert composé de 8 sujets.

Les sujets sont invités à se prononcer sur les caractéristiques : couleur, odeur, goût, arôme et la texture des différents fromages. Ces sujets sont également invités à exprimer leur préférence et donner une appréciation sur une échelle de coloration de 1 à 9 points (Annexe I). Chaque dégustation a été suivie d'un gargarisme à grande eau afin d'éviter toute interférence d'arômes.

VI. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne ± écart type. Les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par le test ANOVA. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

Les comparaisons des analyses sensorielles ont été faites en utilisant le logiciel Excel-STAT 2014.

Résultats et discussion

I. Analyses physicochimiques

I.1. Teneur en humidité

Le test d'humidité est réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau des plantes étudiées

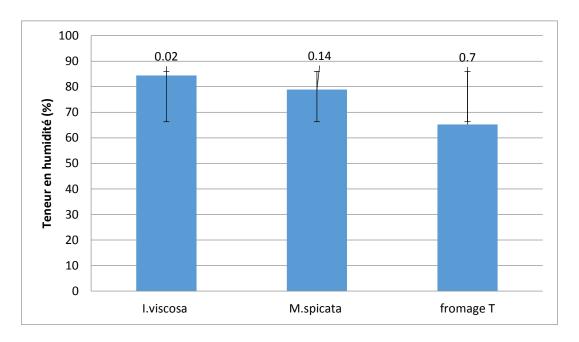


Figure n°09 : Teneur en humidité des feuilles fraiches des plantes et du fromage témoin.

Les résultats de cette analyse illustrée sur la figure n°09 ont révélé que la teneur en l'humidité des feuilles d'*I Viscose* est très importante, avec un taux d'environ $84,42 \pm 0,02$ % en eau comparé à *M Spicata* qui montre une teneur de $78,70 \pm 0,14$ % en eau. Toutefois, le taux d'humidité est très influencé par certains facteurs liés à la plante et/ou aux conditions environnantes (**Hopkins, 2003**).

Cette différence peut être liée aux facteurs climatiques du milieu et au moment de la récolte (**Abdoune** ,2012). Et aussi à la différence de l'espèce étudiée.

Pour le fromage frais témoin, la teneur en eau est de $65,26 \pm 0,7\%$. Afin d'éliminer cette quantité d'eau qui est une source de dégradation de polyphénols par oxydation (**Ribereau-gayon**, 1968), un séchage leur a été effectué pour garantir une meilleure conservation des échantillons, en inhibant les activités enzymatiques (**Ribérau Gayon**, 1968).

I.2. Teneurs en polyphénols totaux

La teneur en PTT obtenue pour les deux plantes utilisées est illustrée dans l'histogramme suivant :

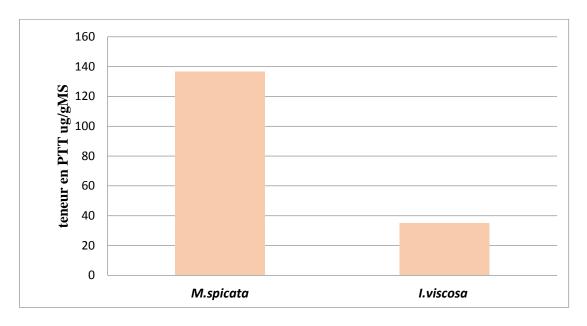


Figure n° 10 : Teneur en PPT des feuilles de M.spicata et I.viscosa.

D'après les résultats illustrés dans la figure n°10, la teneur en composés phénoliques dans l'extrait aqueux des feuilles d'*I.viscosa* est de 35,10 et 136,56 ug EAG / g de MS pour *M.spicata*, ce qui montre la richesse de cette dernière en phénols totaux comparées avec celle trouvée par (Fletcher et al .,2005) qui va de 51 à 73 ug EAG /g d'un extrait des feuilles de *M spicata* (récoltée en 5 périodes différentes).

Nous remarquons que les teneurs en PPT des fromages enrichis avec les feuilles de *M spicata* sont inférieures à celle trouvée dans l'extrait aqueux de cette plante, ce qui pourrait être expliqué entre autres par la différence de la méthode d'extraction et du poids de la poudre utilisée (**Brahmi et al .,2015**).

fromage A fromage B ■ fromage C ■ fromage D ■ fromage E ■ fromage F 160 Teneur en PPT ugEAG/ 100g fromage 140 120 100 80 60 40

Les teneurs en PPT obtenues pour les différents fromages au cours de la conservation sont illustrées dans l'histogramme suivant :

Figure n°11: Teneurs en PPT des fromages au cours de la conservation.

j+12

j+6

durée de conservation

j+18

j+24

20

0

j+1

Les lettres différentes indiquent une différence significative p<0.05. Les résultats sont classés par ordre croissant (a>b>c>d>e).

On note à partir de la figure n°11, que le fromage A (fromage témoin) présente une faible teneur en PPT qui est pratiquement constante tout au long de la durée de conservation. Tandis que la teneur en PPT pour les fromages enrichis augmente au fur et à mesure de l'augmentation de la concentration des poudres (menthe verte, inule visqueuse).

Ces teneurs sont proportionnelles à la durée de conservation jusqu'au j+18où elle commence à diminuer en passant de 141.8 ± 0,26 ug EAG/100g de fromage pour le fromage B et 45.65 ± 0.43 ug EAG/g de fromage pour le fromage D au j+18 pour atteindre 68.82 ± 0.44 ug EAG/g fromage et 10.90 ± 0.64 ug EAG/100g fromage respectivement.

En effet, l'eau est une source de dégradation des polyphénols par le phénomène d'oxydation (Ribéreau-Gayon, 1968) ce qui peut expliquer la diminution du taux de PPT à la fin de la conservation. Par l'influence du moyen de conservation sur la progression de la teneur en eau dans ces fromages frais, les résultats trouvés dans la présente étude nous indiquent que la teneur en PPT du fromage frais enrichi avec les feuilles de l'Inule visqueuse (35,10 ± 0,63 ug/g de MS) est inférieure à celle trouvée dans les fromages enrichis avec cette plante par les trois concentrations au J+6, J+12 et au J+18. En revanche, les teneurs en composés phénoliques dans le fromage enrichi par *M Spicata* diminuent comparées à la teneur en composés phénoliques des feuilles séchées de cette dernière qui est de 136,56 ±0,37 ug EAG/g de MS.

L'analyse de la variance ANOVA au seuil de signification 5%, n'a révélé aucune différence significative entre les sept fromages au 1er jour de conservation à 6°C. Pour les jours qui suivent la différence est significative.

I.3. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des feuilles de *M.spicata* et *I.viscosa* est illustrée dans la figure suivante ;

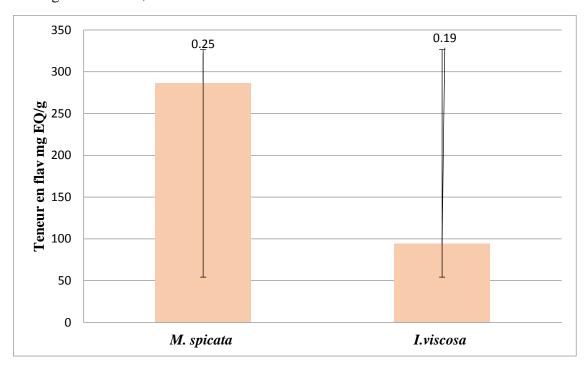


Figure n°12 : Teneurs en flavonoïdes des feuilles de *M. spicata et I. viscosa*.

Les flavonoïdes des extraits des feuilles d'*I.viscosa* après séchage sont de 94,11 \pm 0,19 mg EQ/g de MS et augmentent lors de leur incorporation dans le fromage frais avec un taux de 97,63 au J+1 pour fromage G (enrichis avec 0,25% d'inule) et allant jusqu'à 117,47 mg EQ/g de MS au J+24, alors que la poudre de *M.spicata* présente une teneur de 286,63 \pm 0,25 mg EQ/g de MS en flavonoïdes qui diminue dans les six fromages frais

enrichis, en prenant comme exemple le fromage D qui possède 146,23 mg EQ/g de MS en flavonoïde dans le J+1 et 45,51 au J+24.

La teneur en flavonoïdes obtenue pour les différents fromages durant la conservation est illustrée dans l'histogramme ci-dessous :

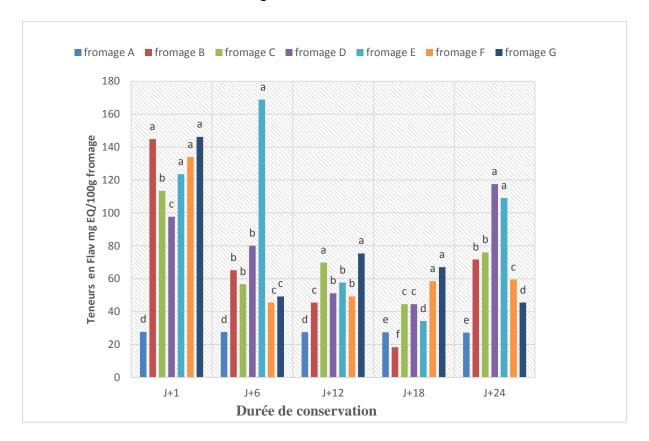


Figure n°13: Teneur en flavonoïdes des fromages au cours de la conservation.

Les lettres différentes indiquent une différence significative p<0.05. Les résultats sont classés par ordre croissant (a>b>c>d>e).

Des teneurs en flavonoïdes extraites dosées pour les fromages enrichis et fromage témoin, varient de 27.6 \pm 0,25 mg EQ/100 g de fromage à 168.8 \pm 0,15 mg EQ/100g de fromage.

La teneur la plus élevée d'après la figure n°13 est obtenue au j+6 pour le fromage E, cette augmentation est due à la profusion considérable de *Inula Viscosa* en flavonoide (**Grande** *et al.*,1985 ; **Wolleneweber** *et al.*,1991 ; **Bruce** *et al.*,2001)

Par ailleurs les taux les plus faibles sont observés pour les fromages B, C, D. En effet, des teneurs pratiquement faibles sont obtenues au j+12 et j+18 pendant que celles-ci portent à nouveau de fortes concentrations au j+24.

Cette variation des teneurs serait dû vraisemblablement au fait que le dosage par le réactif chlorure d'aluminium n'est pas spécifique aux flavonoïdes mais beaucoup de composés peuvent réagir avec ce réactif tels que les protéines et les sucres donnant un taux en flavonoïdes apparent élevé.

En outre, on peut expliquer nos résultats par rapport à l'existence de certains composés biodégradables de structure chimique similaire à celle des flavonoïdes qui peuvent absorber à la même longueur d'onde.

Pour les six fromages formulés au j+1 les teneurs en flavonoïdes varient entre 97mg EQ/100 g de fromage et 146 mg EQ/100 g de fromage. Au seuil de signification $\alpha = 0.05$, aucune différence significative n'a était révélée. Pour les jours qui suivent, la différence est significative.

I.4. Pourcentage d'inhibition du radical (DPPH)

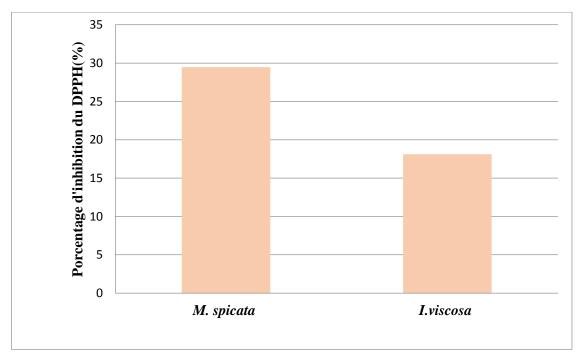


Figure n°14 : Pourcentage d'inhibition du DPPH dans les feuilles d'*I.Viscosa* et *M.Spicata*.

Ce test du pouvoir anti radicalaire est très utilisé pour évaluer l'activité antioxydante dans les systèmes biologiques (**Molyneux**, **2004**).

D'après les résultats obtenus en (figure n°14), l'activité anti-radicalaire est plus élevée dans l'extrait de feuilles de *M.spicata* que dans l'extrait de feuilles d'*I.viscosa*.

Le pourcentage de réduction du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration en antioxydants ,plus il y a apport d'antioxydants plus les radicaux DPPH sont réduits (**Hayder et** *a.*,*l* **2004**).

Les fromages enrichis par les feuilles d'*I.viscosa* possèdent un potentiel antiradicalaire hautement appréciable contre le radical DPPH. En effet, le fromage G enrichis
par 0,25% d'*I.viscosa* présente une meilleure activité avec un taux de73,81 % au J+18
ensuite viennent respectivement le fromage F avec un taux de 25,40% et le fromage E
21,57 au J+12. Cependant, les fromages enrichis par 0,75%, 0,5% et 0,25% de poudre de *M.Spicata* (B,C,D) ont exhibé des activités plus faibles avec des taux de 14%, 16% et
12,4% respectivement au j +6 comparées à la teneur obtenue des feuilles séchées de
M..spicata qui est de 29,48%.

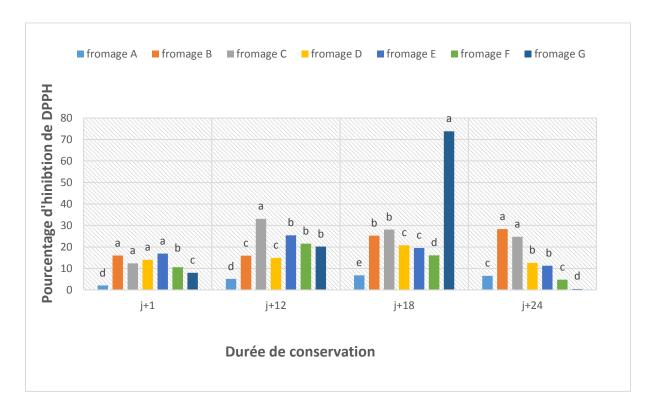


Figure n°15 : Activité anti radicalaire des fromages au cours de la conservation.

Les lettres différentes indiquent une différence significative p<0.05. Les résultats sont classés par ordre croissant (a>b>c>d>e).

D'après les résultats obtenus en figure n°15, les fromages enrichis présentent une activité antioxydante élevée par rapport au fromage témoin A. Le pouvoir antiradicalaire est proportionnel à la concentration de la poudre de feuilles séchées incorporées dans les

fromages. L'augmentation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH est due au clivage et libération des composés phénoliques à des puissances plus élevées, ce qui induit à une forte activité anti radicalaire (**Hayete et al., 2010**).

L'allure du graphe nous indique que l'extrait du fromage G présente une meilleure activité avec un taux de 73.81 \pm 1,21 %, celui-ci étant enrichi par la poudre de l'inule visqueuse.

Il parait également, que **Danino et ses collaborateurs (2009)** ont fait les mêmes constations concernant l'efficacité des feuilles d'*Inula Viscosa* à piéger le radical DPPH.

Le pourcentage d'inhibition du DPPH évolue au fil du temps (du j+1 jusqu'au j+18) ce qui serait dû à l'abondance d'antioxydants dans ces fromages (flavonoïdes, polyphénols) qui le réduisent par transfert d'électrons ou de protons.

Au j+24 on constate des valeurs dépréciées de pourcentage d'inhibition du radical DPPH, d'après **Bondet 1997** quelques composés réagissent très vite avec ce dernier en réduisant un nombre de molécules de ce radical qui est égale à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant.

Les fromages enrichis par *I viscosa* possèdent un pouvoir anti radicalaire plus important que ceux enrichis par *M spicata* Cela peut être expliquée par la différence des teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes qui ont un pouvoir d'agir comme des agents réducteurs en donnant plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (Pietta.,2000).

Il semblerait que les résultats obtenus concernant l'activité anti-radicalaire sur le radical DPPH ont montré l'absence d'une différence significative au seuil de signification $\alpha = 0.05$.

Nous avons essayé de tracer des courbes de corrélation linéaire entre les teneurs en polyphénols totaux et l'activité antioxydante (DPPH) des différents fromages étudiés ; les graphes avec les coefficients de corrélation ainsi obtenus sont représentés dans la figure n°16

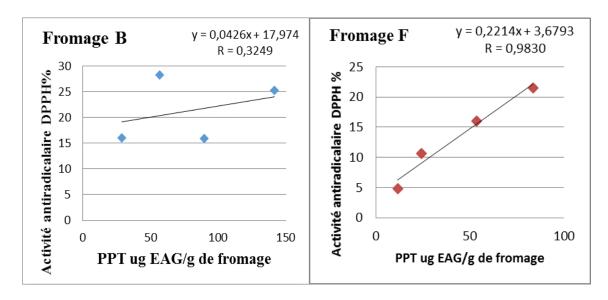


Figure n°16 : Courbes de corrélation établies entre l'activité antioxydante (DPPH) et les PPT des fromages B et F

L'analyse statistique indique l'existence d'une bonne corrélation positive entre les teneurs en polyphénols totaux et le pourcentage d'inhibition du DPPH des extraits des fromages frais enrichis F, E et D avec des coefficients de corrélation R= 0.9830, R=0,873 et R=0,722 respectivement. Donc plus les teneurs en composés phénoliques sont élevées plus le pouvoir réducteur augmente ce qui indique que les PPT sont de bons donneurs d'électrons.

D'autre part, les fromages C et G montrent l'existence d'une corrélation positive d'intensité moyenne entre les teneurs en polyphénols totaux et le pourcentage d'inhibition DPPH (R= 0,5886 et R=0,5639) respectivement et une faible corrélation positive (R= 0,3249) pour le fromage B.

I.5. Acidité titrable

La figure suivante résume l'évolution de l'acidité titrable des fromages en fonction de la durée de conservation ;

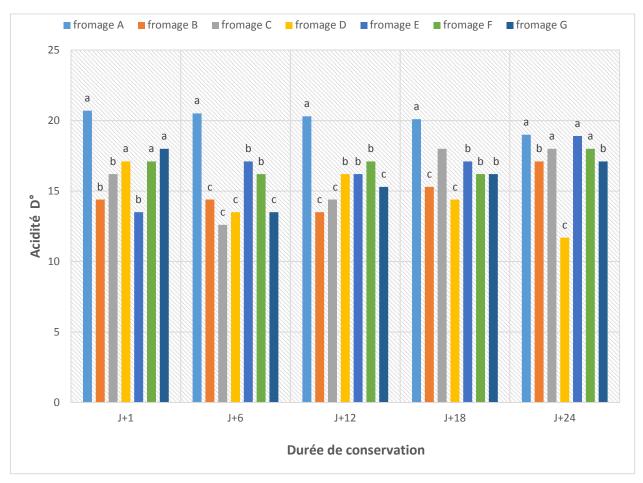


Figure n°17 : Evolution de l'acidité titrable des fromages en fonction de la durée de conservation.

Les lettres différentes indiquent une différence significative p<0.05. Les résultats sont classés par ordre croissant (a>b>c>d>e).

Les résultats du test d'acidité des fromages frais enrichis pendant 24j de conservation à 6°c, nous montrent une variation des valeurs.

Le pH et l'acidité dépendent de la flore microbienne totale et de son activité métabolique (**Labioui**, 2009), lorsque la bactérie lactique transforme le lactose en AL qui abaisse le pH du milieu conduisant à une acidité élevée (**Alais**, 1984)

Au cours de la conservation, le taux d'acidité du fromage A (fromage témoin) est pratiquement stable, l'analyse de la variance ANOVA au seuil de signification 5% n'a révélé aucune différence significative.

Par ailleurs, les fromages enrichis présentent un taux d'acidité plus faible, la diminution de l'acide lactique durant la conservation en étant la cause, ce qui suggère l'influence des deux poudres sur l'activité métabolique de la flore lactique.

I.6. Teneurs en matière grasse

La matière grasse intervient dans la qualité organoleptique des produits alimentaires, contribue au développement d'arômes et la saveur du fait qu'elle est une source de composés aromatiques liposolubles (Gelais et al., 2002).

Les résultats des teneurs en MG sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VII: Teneurs en MG des fromages au cours de la conservation.

PRODUITS	Teneur en MG au J+1	Teneur en MG au J+24
	(%)	(%)
Fromage A	16	16
Fromage B	16	15,1
Fromage C	16	15,1
Fromage D	16	15,2
Fromage E	16	15 ,0
Fromage F	16	15,1
Fromage G	16	15,1

On constate que les pourcentages en MG des fromages restent pratiquement constants au cours du temps.

D'après (Vignola, 2002) cela est probablement dû à une absence d'activité lipolytique.

Selon (Luquet ,1990), la teneur en matière grasse dans un fromage frais doit être inférieure ou égale à 20g pour 100g de fromage frais après égouttage.

L'analyse statistique (p> 0.05) n'a révélé aucune différence significative.

II. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques ont été effectuées dans le but d'assurer la qualité et la conformité du fromage frais et des poudres incorporées (Annexe VIII).

Les résultats obtenus sont illustrés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau VIII : Résultats microbiologiques des poudres

Germes recherchés	Observation	Norme
E.Coli (JROA ,2017)	abs	abs
Staphylocoques à coagulase+	abs	abs
Salmonella	abs	abs

Tableau IX : Résultats microbiologiques du fromage frais

Germes recherchés	Observation	Norme
GA / 30 C°	Abs	10^{5}
Coliformes thermo tolérants	Abs	10^{2}
Moisissures	Abs	10^{4}
Germes A.Sulfito- réducteurs	Abs	abs
Salmonella	Abs	abs

Ces résultats obtenus répondent aux normes, indiquent et confirment la bonne qualité microbiologique des poudres incorporées et du produit fini.

Dans cette partie, on s'est intéressé à l'effet de l'addition des poudres des plantes sur la flore lactique durant la conservation et pour ce, nous avons effectué un suivi de la charge en lactobacilles au j+1 et au j+24.

II.1. Evolution de la flore lactique

Le taux des lactobacilles dénombrés dans les échantillons de fromage enrichi est illustré dans le tableau ci-dessous :

Tableau X: Evolution de la flore lactique des fromages enrichis au cours de la conservation.

Echantillon	Taux de lactobacilles au j+1	Taux de lactobacilles auj+24
Fromage B	16,2.10 ⁸ UFC/g	10,09. 10 ⁸ UFC/g
Fromage C	23 ,9. 10 ⁸ UFC/g	8,45. 10 ⁸ UFC/g
Fromage D	46,4. 10 ⁸ UFC/g	41,4. 10 ⁸ UFC/g
Fromage E	11,36. 10 ⁸ UFC/g	1,72. 10 ⁸ UFC/g
Fromage F	26,51. 10 ⁸ UFC/g	11,63. 10 ⁸ UFC/g
Fromage G	6,63. 10 ⁸ UFC/g	4,45. 10 ⁸ UFC/g

Selon les résultats de dénombrement et de recherche, la charge microbienne de la flore lactique (lactobacilles) diminue au cours de la période de conservation en prenant comme exemple le fromage B (Annexe VI) dont le taux de lactobacilles qui était de 16,2.10⁸ UFC/g au j+1, s'abaisse jusqu'à atteindre 10,09.10⁸ UFC/g au j+24.

Il en est de même que pour le fromage E avec un taux de 11,36 .10⁸ UFC/g au j+1, et 1,72.10⁸ UFC/g au j+24.

Cet abaissement de la teneur de lactobacilles pourrait s'expliquer par les conditions défavorables de la croissance des bactéries lactiques dont :

- La réfrigération à 6°C qui a stoppé la multiplication de la flore lactique.
- L'absence des substrats (transformation de la totalité du lactose en AL).

II.2. Coliformes, levures et moisissures

Une absence de coliformes totaux, levures et moisissures a été enregistrée dans les différents échantillons de fromages analysés.

Cela indique le respect des mesures hygiéniques durant les étapes de leur transport et leur enrichissement en poudres (Inule, menthe).

II.3. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne est influencée par l'origine de l'extrait (feuilles, fleures), la nature du solvant, la souche testée et les conditions climatiques. (**bssaibis et al,2009**)

D'après le test réalisé concernant l'effet antibactérien de la partie aérienne de la menthe et de l'inule visqueuse, aucune activité n'a été constatée vis-à-vis des trois souches S.aureus (figure 18),E Coli et KBC (Annexes VII).

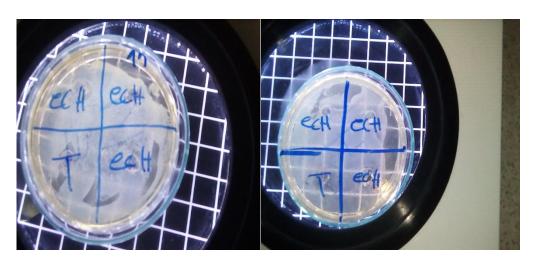


Figure n°18 : Activité antibactérienne de la partie aérienne des plantes (S aureus).

Des études faites par Benseguni-Tounsi, (2001) et Bachir et *al* (2005) ne soulignent aucun effet de l'huile essentielle d'*I Viscosa* sur E.Coli.

Les résultats que nous avons obtenus indique que la détermination de l'activité antimicrobienne peut être influencée par plusieurs paramètres, tels que : le type de microorganismes cibles, la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, la concentration, le type d'extrait et surtout la nature et la structure moléculaire des molécules bioactives des métabolites secondaires. Cushnie et Lamb, (2011).

III. Analyses sensorielles

Pour les jurys experts, une quantité de chaque échantillon de fromage enrichi et de fromage témoin est mise dans des caissettes où le numéro des échantillons est mentionné.

III.1. Caractérisation des produits

Ce test permet de caractériser et d'identifier rapidement les produits perçus par le jury. Il s'agit d'identifier, dans le cadre de l'analyse sensorielle, les descriptions qui discriminent le mieux les produits et de déterminer leurs caractéristiques importantes (Husson et al., 2009).

L'apparition de la couleur bleue, indique que le coefficient du descripteur est positif (apprécié), en rouge, le coefficient est significativement négatif (non apprécié), alors que la couleur blanche, signifie que les caractéristiques n'ont pas été détectées.

III.2. Pouvoir discriminant par descripteur

Ce test affiche les descripteurs qui sont ordonnés de celui qui a le plus fort pouvoir discriminant sur les produits à celui qui en a le plus faible (de gauche à droite).

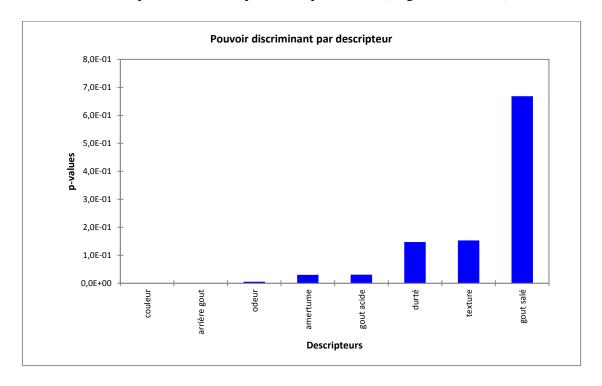


Figure n° 19: Pouvoir discriminant par descripteur

Selon les résultats présentés dans la figure n°19, nous remarquons que la couleur, l'arrière-goût, l'odeur, l'amertume et le gout acide sont les descripteurs qui ont le plus fort pouvoir discriminant sur les sept produits. Cela signifie que les sujets experts ont constaté des différences entre les caractéristiques précédentes.

Le pouvoir discriminant de la dureté et texture est moyen, cependant le descripteur goût salé est celui qui a le pouvoir discriminant le plus faible.

D'une manière générale, nous concluons que les sept échantillons de fromage ont des descripteurs différents qui les distinguent les uns des autres à l'exception du gout salé.

III.3. Moyennes ajustées par produit

Les résultats des moyennes ajustées par produit sont présentés dans le tableau suivant :

produits	arrière gout	couleur	amertume	durté	odeur	texture	gout salé	gout acide
E	3,375	4,125	2,750	3,125	3,500	2,875	2,500	2,250
F	2,875	4,125	2,750	3,125	3,250	2,875	2,625	2,125
С	2,750	4,000	2,500	3,125	3,000	2,750	2,500	3,000
В	2,625	4,250	2,625	3,000	3,375	2,625	2,500	2,500
G	2,875	3,625	2,375	3,000	2,750	3,000	2,625	2,625
D	2,125	3,375	2,125	2,875	2,625	2,750	2,625	3,125
Α	1,375	1,500	1,875	2,750	2,250	2,250	2,375	2,250

Tableau XI: Moyennes ajustées par produit.

Le tableau des moyennes ajustées par produit permet de faire ressortir les moyennes lorsque les différents produits et les caractéristiques sont croisés. Les cellules en bleu ont une intensité très importante et supérieure à la moyenne, et celles en couleur blanche présentent une intensité moyenne, tandis que pour les cellules rouges, elles ont une intensité négative. Les résultats sont affichés comme suit :

Pour le fromage A : on constate que presque toutes les caractéristiques ont une intensité négative. A l'inverse du gout acide et du gout salé qui présentent une intensité moyenne.

Pour le Fromage F et B : toutes les caractéristiques ont une intensité moyenne à l'égard de celle de la couleur qui montre une intensité supérieure à la moyenne globale des caractéristiques données par les juges.

Fromage E : Il fait part des moyennes d'intensité élevée pour l'arrière-gout, couleur et odeur. Or que les autres caractéristiques sont moins intenses.

Fromage D : présente une intensité supérieure pour le gout acide

Fromage G et C: pour les caractéristiques de ces deux produits, présentent toutes des intensités moyennes.

III.4. Analyses des composantes principales (ACP)

L'ACP permet d'explorer les liaisons entre variables et les ressemblances entre individus.

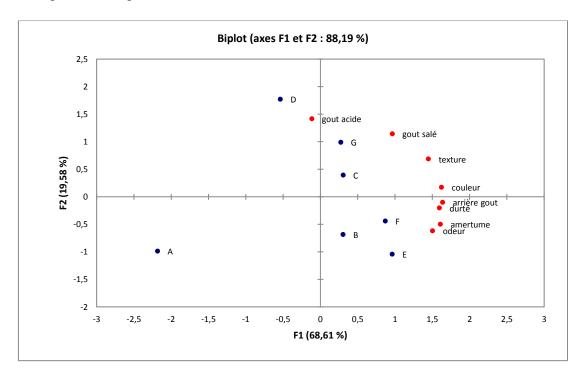


Figure n°20 : Corrélations entre les variables et les facteurs.

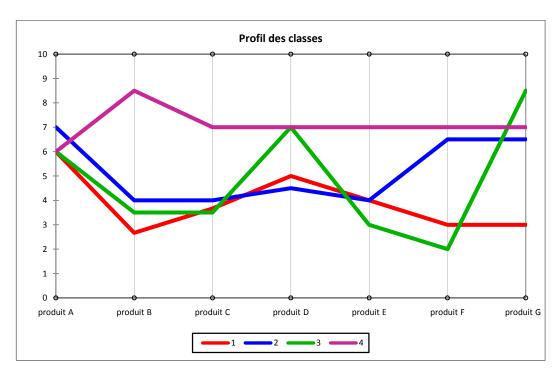
Il a été constaté sur la figure n°20que les fromages B, F et E ont presque les mêmes caractéristiques à propos de la couleur, arrière-gout, dureté, amertume et odeur

Le fromage C'est en voisinage de G et sont caractérisé par une texture en bouche lisse et un gout salé très fort.

Concernant le fromage D il est caractérisé par un gout très acide. Le fromage frais témoin est loin de toutes les caractéristiques recherchées.

III.5. Classification ascendante et hiérarchique

La classification ascendante hiérarchique est une méthode de classification qui permet de visualiser le regroupement progressif des données. On peut alors se faire une idée d'un nombre adéquat de classes dans lesquelles les données peuvent être regroupées (**Everitt** *et al.*, 2001).



Le graphe donné dans la figure n° :21 permet de représenter le profil des classes :

Figure n° 21 : Classification ascendante hiérarchique des 07 fromages frais

D'après cette figure on remarque que les dégustateurs de la première classe aiment le fromage A qui correspond au fromage frais témoin sans enrichissement suivi par le fromage D;

Classe 2 : préfère mieux le fromage A puis vient les fromages F et G

Classe 3 : préfère plus le fromage G, D, et enfin le A

Classe 4 : aime le fromage B puis le C et A.

III.6. Cartographie des préférences

La cartographie externe des préférences (en anglais External Preference Mapping - PREFMAP) permet de visualiser sur une même représentation graphique d'une part des objets (produits), et d'autre part des indications montrant le niveau de préférence du jury expert en certains points de l'espace de représentation.

Tableau XII:	Pourcentage	de	juges	satisfaits	pour chac	ue objet

Objet	%
produit A	50%
produit B	50%
produit C	25%
produit D	50%
produit E	25%
produit F	25%
produit G	50%

Il est constaté sur le tableau XII que les quatres fromages A ,B ,D et G ont un pourcentage de satisfaction de 50% et que les fromages C, E et F sont les moins appréciés avec un faible pourcentage qui est de 25%.

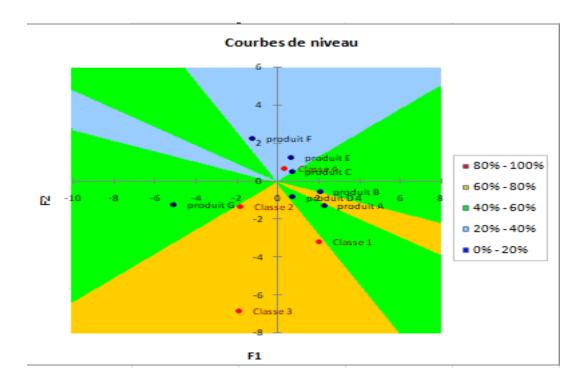


Figure n° 22 : La cartographie des préférences.

D'après la carte des préférences, les classes 2 et 3 aiment le fromage que le fromageA

la classe 1 préfère le fromage G (enrichis en feuilles de *I.viscosa* à 0,25%) D, C, B (enrichis en feuilles de *M.spicata* à 0,25%, à 0,5%, à0,75% respectivement).

La 4^{eme} classe apprécie tous les fromages E et F erichis par *I.viscosa* à 0,75% et à 0,5% respectivement qui sont caractérisés par une couleur intense.

Conclusion

Notre étude s'est portée sur l'enrichissement d'un fromage frais par des poudres de plantes aromatiques appartenant au patrimoine culturel algérien et cela, dans le but de suivre leur effet tout au long de la conservation sur la flore lactique et sur certains paramètres physicochimiques de même que d'améliorer l'appréciation du consommateur et lui offrir un produit de qualité et de conformité.

L'objectif primordial de cette étude était de valoriser et évaluer l'espèce *I Viscosa* qui est peu connue face à la *M spicata* qui est fréquemment utilisée en industrie agroalimentaire. Les résultats des analyses physicochimiques et microbiologiques ont montré que les sept fromages frais sont propres à la consommation et possèdent une qualité conforme aux normes.

Les résultats de dosages phytochimiques montrent que les fromages enrichis par la plus grande concentration des poudres (0,75%), ont révélé une forte teneur en polyphénols totaux de l'ordre de 89.94 mg EAG /100g de fromage et 42.43 mg EAG /100g de fromage au j+12 pour *M spicata* et *I viscosa* respectivement. L'étude statistique révèle la présence de différence significative au seuil 5% des différents résultats obtenus.

Les teneurs en flavonoïdes des fromages enrichis par l'inule visqueuse ont été assez élevé, le fromage E a marqué la teneur la plus importante, par ailleurs les fromages B, C, D ont présentés des teneurs très appréciables en flavonoïdes par apport au fromage témoin.

Il est également noté dans cette étude que les échantillons de fromage enrichis sont de puissants capteurs de radicaux libres (DPPH).

D'après le dénombrement de la flore lactique, nous avons constaté que la charge des Lactobacillus diminue au cours de la conservation, ce qui pourrait être dû à la présence de certains composés antimicrobiens générés par les B.L au cours de la conservation présentes dans le fromage et qui peuvent avoir des effets inhibiteurs.

Concernant l'activité antibactérienne, les trois souches utilisées étaient résistantes aux substances végétales contenues dans ces deux plantes, L'analyse sensorielle a révélé que c'est l'échantillon A (témoin) et les fromages B,D (enrichis par la menthe verte à 0,75 et 0,5% respectivement) et G (enrichis par l'inule visqueuse à 0,25%) qui sont les plus appréciés par les jurés experts.

Il serait intéressant de compléter cette étude par d'autres tests tels que

- Essayer des concentrations en poudre plus faible que celles utilisées.
- Suivre d'autres paramètres physicochimiques tel que le taux des protéines au cours de la conservation.

• Faire une étude comparative de l'impact des composés phénoliques dans un produit laitier et dans une boisson non lactée, sur l'organisme.

- **Abdoune Y. (2012)**. Contribution à l'extraction des huiles essentielles de l'inule visqueuse Algérienne par diverses méthodes, étude de ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene.
- **Abidjan C.L.** (2010).11éme Symposium international d'aromathérapie et plantes médicinales Grasse .*Springer-Verlag France* ,8 :55-62.
- Ahn, M; Kumazawa, S; Usui, Y; Nakamura, J; Atsuka, M; Zhu, F., Nakayama, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. Food Chemistry. 101: 1400-1409.
- Alais C, (1984). Science du lait. Principes des techniques laitières .Ed :sepaic .4èmeEdition.819P.
- Aly Savadogo et Alfred S. TRAORE. (2011).la flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. Editions Int. J. Biol. Chem. Sci. 2057-2075.
- Al-Khalil.S, Al-Eisawi.DetFischer.N, 1992. Phytochimical analysis of Jordanian medicinal plants
- **Anonyme:** http://apcvdeledenon.org/2012/11/12/inule -visqueuse/.Consulté le 20 mars 2019.
- Arumugam P., Priya N. G., Subathra M. et Ramesh A. (2008). Anti- inflammatory activity of four solvent fractions of ethanol extract of Menthaspicata L. investigated on acute and chronic inflammation induced rats. Environ . Toxicol. Phar, 26(1): 92-95.
- **Baba aissa, F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Ed: Librairie moderne Rouïba. 252-253.
- Bachir R.G., Nour H (2015). Antibactérien and AntioxydantActivities of Essential
 Oïl of Inulaviscosa L. from North West of Alger. Département of Biology, University
 of Mascara, Algeria.
- Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A.et Laglaoui, A. (2016). Effet antibactérien et antibiofilm de trois espèces de Mentha : Menthaspicata, Menthapulegium et Menthapiperita. *Phytothérapie*, 14:89-76.

- Bauer W.J, Badoud R, Loliger J, Etaurnaud A. (2010). Science et ère Technologie des Aliments, chap. 3 Lipides, chap. 11 Analyse Sensorielle, 1 éd. Presses polytechniques et universitaires, Italie, ISBN: 978-2-288074-754-1, p. 636-643, p. 167-168.
- Bensegueni-Tounsi, L., (2001). Etude in vitro de l'effet antibactérien et antiphangique de : Inulaviscosa-Lawsoniainernis- Asphodelusmicrocarpus- Aloevera-Juniperusoxydrus, Thèse de Magistère en médecine vétérinaire. Option Biologie Animale, Département de vétérinaire, Faculté des sciences, Université de Constantine.
- **Berger M.** (2006). Manipulation nutritionnelle du stress oxydant : état des connaissances . *Nutrition Clinique et Métabolisme* , 20 : 50-57
- **Boizot N.et Charpentier J.P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *INRA Amélioration*, *Génétique et Physiologie Forestiéres*, 23:79-84.
- Bonnefont-Rousselot D., Peynet J., Beaudeux J.L., Thérond P., Legrand A. et
 Delattre J. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose Oxydative
 stress, vasculaire fonction and athéroscléroses. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16
 :163-177.
- bouhadjrak.(2011).étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thése pour l'obtention du diplôme de magistére, université de Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- Brahmi et al .,(2015) Brahmi F., Hauchard D., Guendouze N., Madani K, Kiendrebeogo M., Kamagaju L., Stévigny C., ChibaneM .et Duez P.(2015). Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian Mentha species: M. spicata (L.), M. pulegium (L.) and M.rotundifolia (L.) Huds (Lamiaceae). Hal archive auvertes, 15-18
- Bruce A, and Tod, F.S. (2001). Flavonoids of the sun flower family (Asteraceae). Springer Wien, New York Edition.

- **Bssaibis,N Gmira et M Meziane**. Rev.MicrobiolInd. San et Environn Vol 3.N°1 44-55.2009.
- Bucic-kojic, A., Planinie M, Tomas S, Billie C et Vellie D, (2007). Study of solid iquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. Journal of Food Engineering, 81, p 236-242.
- Casalta, E et Montel MC. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactococcus*genus. International Journal of Food Microbiology. **126**, 271-273.
- Chaabi Mehdi. (2008). Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines: euphorbiastenocladabail .(euphorbiaceae),anogeissusleiocarpusguill.&perr.(combretac
 - euphorbiastenocladabail .(euphorbiaceae),anogeissusleiocarpusguill.&perr.(combretac eae) limoniastrumfeei (girard) batt. (plumbaginaceae). Thèse de doctorat. Sciences pharmaceutiques. Pharmacognosie: Université Strasbourg 1.France.
- Chakravarty H.L. (1976) .Plant wealth of IRAQ. India: Edition SREE SARASWATY PRRESS.359P.
- Chira K., Such J., Saucie C., Teissèdre L. (2008). Les polyphénols du raisin.Ed :Springer.6:75-82.
- Cotelle, N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. Current topics in medicinal chemistry. 1: 569-590.
- Cushnie and Lamb, Cushnie TPT, Lamb AJ (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoïds. International Journal of Antimicrobial Agents, pp 1-9.
- Danino O., Gottlieb H. E., Grossman S., and Bergman M. (2009). Antioxidant activity of 1, 3-dicaffeoylquinic acid isolated from Inulaviscosa. Food Research International, 42: 1273-1280.
- Drouault S, Corthier G, Ehrlich DS et Renault P. (1999). Survival physiology and lysis of *Lactococcuslactis* in .the digestive tract. Applied and Environnemental Microbiology. 65,4881-4886.
- Everitt B.S., Landau S., Leese M. (2001). Cluster analysis, 4ème éd. Arnold, London, p. 35-42.

- Favier A., (2003).Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.L'actualité chimique, 108-115.
- François Warlop., (2006). Limitation des populations de ravageurs de l'olivier par le recours à la lutte biologique par conservation. Cahiers Agricultures vol. 15, n° 5, septembre-octobre 2006.
- Franco-Mican S.X., Castro J., Campos M. (2008). Observation du complexe parasitaire de l'inule visqueuse en Espagne ,et ses méthodes de propagation. Le Nouvel Olivier, n°66, novdéc. 2008.
- **FOURNIER P.** (1947).Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Ed. LE CHEVALIER. Tome 1 : 176-178.
- Frutos P., Hervas G., Giradez F.J. and Mantecon A.R. (2004). Tannins and ruminant nutrition. Spanish Journal of Agricultural Research 2 (2):191-202.
- **Ghedira K.** (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phythqérapie*.04:162-169.
- **Girardet J M. (2011).** Le lait -une source d'antioxydants d'origine alimentaire, université Henri Poincaré Nancy 1.
- Guiraud J.P. (2003). Microbiologie alimentaire. Tec & Doc, Dunod. Paris. P 90-92.
- **Guiraud JP et Rosec JP. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition :AFNOR. France. 237-251.
- Grande M., Piera F., Cuenca P., and Bellido. I.S. (1985). Planta Med. 51:414.
- Garrly P,L et Le.Guern.(1999) .Bull, Liaison CTSCCV. vol. 9, N°6.
- Hayder N., Abdelwahed A., Kilani S., Benammar R., Mahmoud A., Ghedir K ET ChekirGhedira K, (2004). Antigenotoxic and free radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) Myrtuscommunis. Mutation Research . 564:89-95.
- Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry. 13: 572-584.
- Hopkins W. (2003). Physiologievégétale. 22: 41-45.
- **Husson F., Pasgès J.** (2009). Senso Miner dans Evaluation sensorielle Manuel méthodologique, 3ème éd. Lavoisier, vol. 23, p16.

- **Ipek M., Ipek A., Almquist, S.G., Simon, P.W.** (2005). Demonstration of linkage and development of the first low-density genetic map of garlic based on AFLP markers. Theor. Appl. Genet. 110, 228–236.
- Ismaili R ., Lamiri A et Moustaid K. (2016). Study of anti-eczema activity of essentials oils of thymus vulgaris, Citrus limonumand Menthaspicata from Morocco. International journal of innovation and applied studies, 14 (1):113-120.
- **Javan A.J.** (2013). Evaluation of antioxidant. Capacity of the Ethanol extract of Iranian Menthaspicata. Journal of Open Access Scientific Reports, 2:706-715.
- Jeantet Romain., Thomas Croguennec., PierreSchuck., Gérard Brulé. (2007).
 Science des aliments: Technologie des produits alimentaires. Editions TEC & DOC Volume2. p453.
- Jolliffe I.T. (2002). Principal Component Analysis, 2ème éd. Springer, New York, .13-18.
- J.O.R.A. n°39 daté le 2 juillet. (2017). Journal officiel de la RepubliqueAlgerienne N°39. Laits et produits laitiers. Légumes, fruits, végétaux et produits base de végétaux.
- **Kee L.A., Shori A.B. et Baba A.S.** (2017).Bioactivity and health effects of *Menthaspicata*. Integrative food, Nutrition and Metabolism, 5(1):1-5.
- **Khalid NM et Marth EH. (1990).** Lactobacilli, their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese. Review in Dairy Science. **73**, 158-167.
- Kim D.O., Chun O.K., Kim Y. J., Moon H.Y., et Lee C.Y. (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 51(22), 6509-6515.
- **Kim H.P, Son K.H, Chang H.W and kong S. S.** (2004). Antiinflammatory plant flavonoids and cellular action macanism. Journal of Pharmacological sciences, 96(3),229-254.
- **Krief S.** (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle.
- Labioui H., Laarousi E., Beuzakour A., El Yachiou M., Berny E et Hussine M.
 (2009). étude physico-chimique et microbiologique de laits crus. Bull. Lham bordeaux.2009. 148. pp. 7-16.

- Lauro C et Rolih 1990. BollettinoSocietaItaliana Biological Sperimentable. 66: 829.
- Lin J.K et Weng M.S. (2006) .Flavonoids as Nutraceuticals. In . The science of flavonoids. Grotewold, E. Eds, Springer, Pp. 217.
- Luquet Francoie-Marie et Corrieu Georges.(2005).Bactéries lactiques et probiotiques,Collection Science et thechnique agro-alimentaire, Edition Tec et Doc. PP37.
- Malecky M. (2005). Métabolisme des trapézoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. pp 9-27.
- Manach C., Mazur A., Scalbert A. (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. Current Opinion in Lipidology, 16: 1–8.
- Manallah A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive OleaeuropaeaL. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, p 87.
- Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technos, 26(2):215-225.
- Moreira M.R., Ponce A.G., de Valle C.E., Roura S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. Lebensmittel-Wissenschaft end Technologie-LWT, 38: 565–570.
- Nabors M. (2009).Biologie végétale (structure, fonctionnement, écologie et biotechnologies), pearson Education France, Paris.
- Olivereau F et Robouam N. (2014). Guide des Plantes des milieux humides . *Editions Belin*: (164-165).
- OrtalDanino A., Hugo E., Gottlieb B., Shlomo Grossman A., Margalit Bergman A.(2009)Antioxidant activity of 1,3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa*.
- **PIETTA PG.**(2000). Flavonoids as antioxidants. J Nat Prod 63: 1035-1042.
- Raynaud S. (2006). Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'autoacidification chez *Lactococcuslactis*. Thèse de Doctorat de Microbiologie et Biocatalyse Industrielle. Université de Toulouse. Institut national des sciences appliquées. France. 272p.

- Ribérau-Gayon P. (1998). Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, Paris, 254p.
- Richonnet Céline. (2015). Caractéristiques nutritionnelles des fromages fondus. Edition Elsevier Masson., p 9.
- **Tamime A.Y.** (2002). Microbiology of starter cultures. In: Robinson RK. (Eds.). Dairy microbiology handbook. John Wiley and Sons, New York, pp. 261-366.
- **Teuscher E., Anton R et Lobstein A. (2005)**. *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentiels :* Edition Tec et Doc, Lavoisier. *P310-318*.
- **UPTON A .(2006)** . les produits antimcrobiens à domicile .le problème de l'antibiorésistance Enoncé de la SCP, 11(3):177_181.
- **Vignola C.L.** (2002). Science et technologie. Transformation du lait. Paris. Ecole polytechnique de Montréal. Canada. 600 p.
- Wollenweber E., Mayer K., Roitman J.N. (1991). Exudate flavonoids of Inula viscose. Phytochem, 30: 2445-2446.
- **Xavier Leverve.** (2009). Cahiers de nutrition et de diététique 44, 219-224.
- Zainoldin K.H et Baba A.S. (2009). The Effet of Hylocereuspolyrhizus and Hylocereusundatus on Physicochemical, Proteolysis, and Antioxidant Activity in Yogurt. International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering Vol. 3, N°12, p 585-590.
- Zeggwagh N.A., Ouhidi M.L., Lemhadri A., Eddouks M., (2006). Journal of Ethnopharmacology. p 108-223.
- **Zimmer N. and Cordesse R.** (1996). Infuence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminats. Productions Animales 3(9),167-17.

Annexes

Annexe I

Questionnaire de l'analyse sensorielle

Sex: Féminin Masculine Age date ://2019							
Sept échantillons de fromage préparé à base de lait de vache codé A,B,C,D,E,F,G vous sont							
présentés, il vous e	est donmendé de	cocher les cases	correspondantes à l'i	mpression ressentie,			
selon l'intensité des	descripteurs suiv	vants:					
NB : veuillez rincer	votre bouche à c	haque dégustation	d'un échantillon				
I. Couleur:							
Blanche	Beige	Vert clair	Vert foncé	Mélange			
Α							
В							
C							
D							
E							
F							
G							

II. Odeur:

	Absent	Faible	Moyenne	Forte	Très forte
A					
В					
C					
D					
Е					
F					
G					

III. Gout

1. Gout acide

	Absent	Faible	Moyenne	Forte	Très forte
A					
В					
C					
D					
E					
F					
G					

2. Gout salé

	Absent	Faible	Moyenne	Forte	Très forte
A					
В					
C					
D					
E					
F					
G					

3. Amertume

	Absent	Faible	Moyenne	Forte	Très forte
A					
В					
C					
D					
Е					
F					
G					

4. Arrière-gout

	Absent	Faible	Moyenne	Forte	Très forte
A					
В					
C					
D					
E					
F					
G					

IV. Texture

1. Dureté (Aspect)

	Trop mou	Mou	Moyen	Dur	Extra dur
A					
В					
C					
D					
E					
F					
G					

2. Texture en bouche

	Fondante	Ferme	Faible	Collante	Lisse
A					
В					
C					
D					
E					
F					
G					

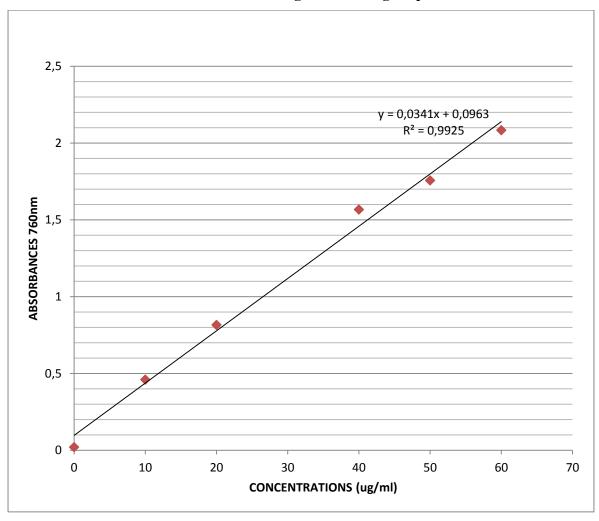
V. Préférence

Classez les 07 échantillons en attribuant entre 1 et 9, sachant que 1 correspond à l'échantillon le moins préféré et la note 9 à l'échantillon le plus préféré.

Echantillon A	
Echantillon B	
Echantillon C	
Echantillon D	
Echantillon E	
Echantillon F	
Echantillon G	

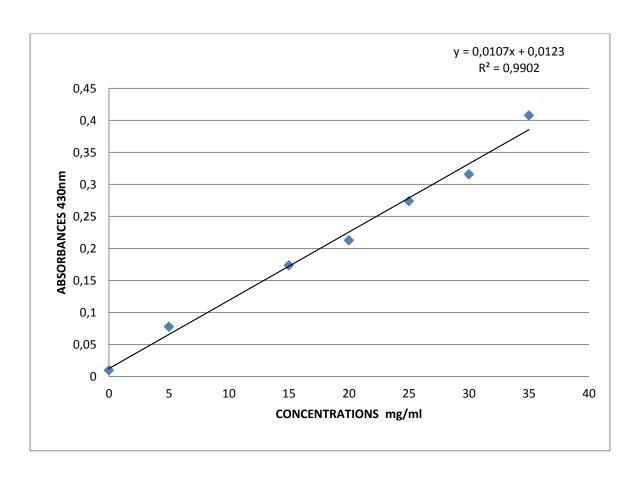
MERCI POUR VOTRE COOPERATION.

Annexe IICourbe d'étalonnage de l'acide gallique



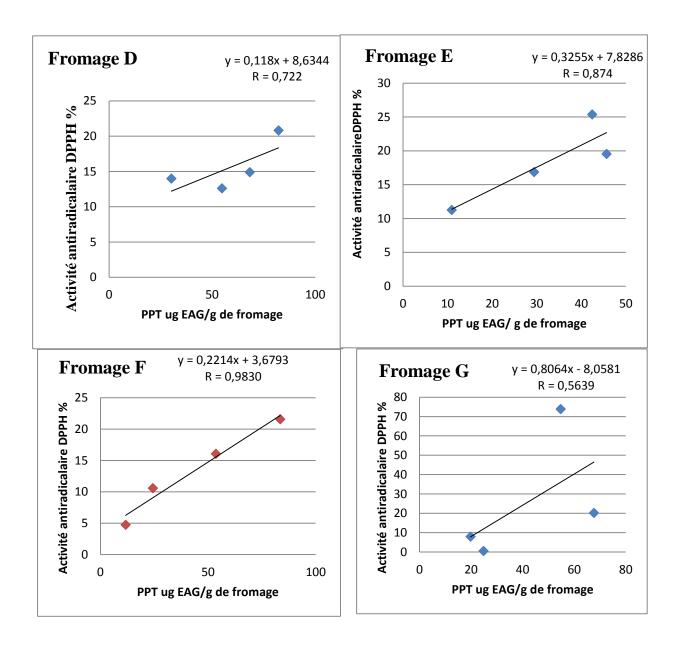
Annexe III

Courbe d'étalonnage de la Quercétine



Annexe IV

Courbes de corrélation (fromage D, E, F, G)



Annexe V

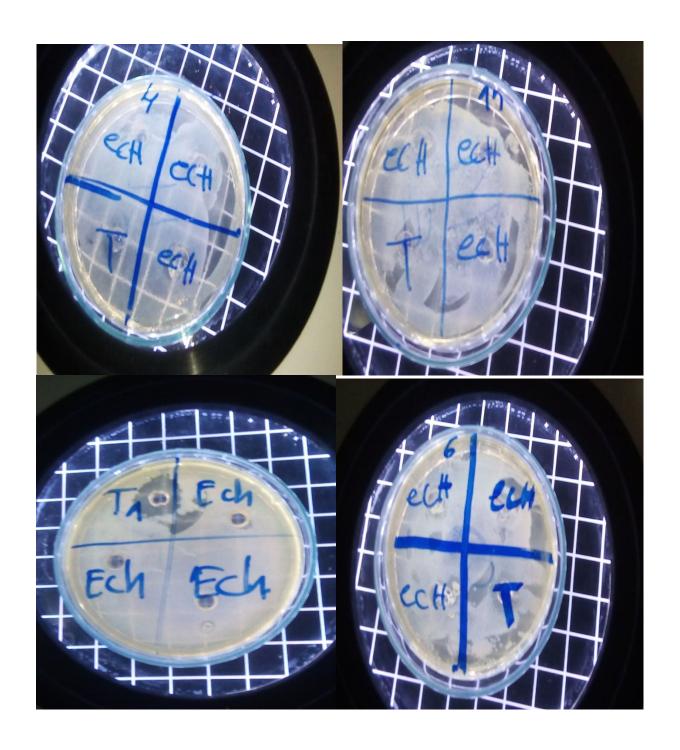
Appareillage et équipements utilisés

Appareillages et équipements	Verrières et accessoires	Réactifs	Milieux de culture
-Broyeur électrique -Agitateur -Etuve -Plaque chauffante - Spectrophotomètre	-Bécher -fiole georgée -Eprouvettes -Tubes à essai -Papier aluminium -Entonnoirs -Micropipette -Gant -Boites de Pétri -Picette -Portoirs -Spatule -Papiers filtres -Flacons -Pipette graduée	-Eau distillée -Acétone -Méthanol -Acide gallique -Acide quercitrine -Folin -Carbonate de sodium -Alcl3 -Phenolphthalein -NaOH -Eau physiologique	-VRBL -OGA -GC -MRS -M17 -Chapman -PCA

Annexe VI
Dénombrement des bactéries lactiques du fromage B



Annexe VII
Activité antibactérienne des plantes (KBC et E coli)



Résumé français

Cette étude a été entreprise dans le but d'enrichir à différentes concentration (0.75, 0.50 et 0.25%) un fromage frais par les feuilles séchées de la menthe verte et de l'inule visqueuse ; tout en évaluant les caractéristiques de la matrice végétal et du produit finis vis-à-vis la teneur en composés phénoliques et l'activité antiauxydante, ainsi que d'autres analyses microbiologiques, physicochimiques et sensorielles du fromage enrichis.

Les résultats des analyses photochimiques ont montrés que les fromages enrichis par la menthe verte sont plus riche en polyphénols ; tandis que les plus grandes concentrations en flavonoïdes ont était marqués par les fromages enrichis par l'inule visqueuse, Le test antioxydant a montré que les fromages enrichis sont de puissants capteurs de radicaux libres

D'après les analyses physicochimiques l'acidité des fromages varient de 20 à 11.7°D, la MG est pratiquement constante tout au long de la durée de conservation, les observations enregistrées concernant le suivi de la flore lactique démontrent que les échantillons de fromage enrichis en renferme un taux élevé en lactobacilles au j+1 qui diminue progressivement au cours de la conservation à 6°C, L'analyse sensorielle a révélé que c'est l'échantillon A (témoin) et le fromage G enrichis en feuille d'inule qui sont les plus appréciés par les jurés experts.

Mots clés : fromage frais, menthe verte, inule visqueuse, composés phénoliques, activité antiauxydante, flore lactique.

Abstract

This study was undertaken with the aim of enriching fresh cheese at different concentrations (0.75, 0.50 and 0.25%) with dried leaves of mint and viscous inule; while assessing the characteristics of the plant matrix and the finished product with regard to phenolic content and antioxidant activity, as well as other microbiological analyses, physicochemical and sensory enriched cheese.

The results of the photochemical analyses showed that cheeses enriched with green mint are richer in polyphenols; while the highest concentrations of flavonoids were marked by cheeses enriched with viscous inule, the antioxidant test showed that fortified cheeses are powerful sensors of free radicals

According to the physicochemical analyses the acidity of cheeses varies from 20 to 11.7°D, the BF is practically constant throughout the shelf-life, the observations recorded regarding the monitoring of the lactic flora show that.

Sensory analysis revealed that sample A (control) and F cheese enriched with inule leaf are the most appreciated by expert jurors.

Keywords: fresh cheese, green mint, viscous inule, phenolic compounds, antiauxydante activity, lactic flora.