

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département des Sciences alimentaires
Filière : Science des aliments
Option : Industrie laitière



Réf :

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

MASTER

Thème

Formulation du fromage frais aromatisé à
base d'Artemisia herba-alba

Présenté par :

DJALI Fairouz & HAMADI Hayet

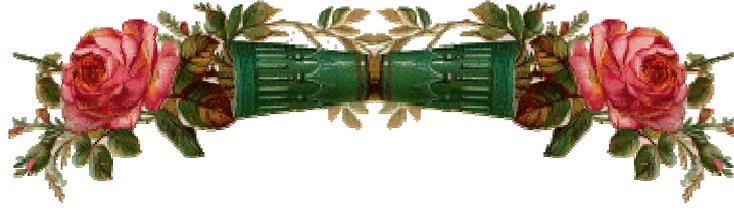
Soutenu le : **21 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M^{me} GEUMGHAR H.
Mr. MADANI K.
M^{me} BOUCHARA N.
Mr. NABET.N
Mr. RAHMOUNE. Y

| | |
|------------|---------------|
| MAA | Presidente |
| Professeur | Promoteur |
| Doctorante | Co-promotrice |
| MAA | Examineur |
| Doctorant | Invitée |

Année universitaire : 2016 / 2017



Remerciements

Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à Mr MADANI K, notre promoteur et notre Co-promotrice M^{me}

BOUCHARA N et Mr RAHMOUNE Y pour leurs précieuses aides, leurs orientations et le temps qu'ils nous ont accordé pour notre encadrement;

Nos remerciements les plus sincères s'adressent également à M^{me}. GHEMGHAR d'avoir accepté de présider le jury, Ainsi que Mr. NABET N de nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail ;

*Nous remercions aussi Tout le personnel du laboratoire
B.B.B.S*

*Nous remercions aussi Tout le personnel du laboratoire
de l'université*

Toutes les personnes qui nous ont participé de près ou de Loin à la réalisation de ce Travail.

Un grand merci à tous

Fairouz & Hayet



Dédicaces

Je dédie ce travail, avant tout, à « vous » mes très chères parents pour leur amour et leur support continu, merci d'être là pour moi.

A mes très chères frères et sœurs.

A toute ma grande famille sans exception.

A tous mes amis sans exception et toutes personnes qui m'a aidé pour faire ce modeste travail.

A ma Binôme qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et sa famille.

HAYAT

Dédicaces

À ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

**À ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes
moments les plus**

Difficiles.

À mes très chers parents

***Pour leur amour et leur support continu, merci d'être
là pour moi***

À Mes frères Amine et Yanis

A mon chère bien aimé Nabil

**À toute la famille, oncles et tantes, cousines et
cousins**

À ma chère Binôme Hayat ainsi que toute sa famille

À tous mes amis qui me connaissent sans exception

À toute la promotion Science Alimentaire : 2016/2017

À tous ceux qui me sont chers

Fairouz

Liste des Figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. L'Armoise ; <i>Artemisia herba-alba</i> (A) à la fin de la saison de fleuraison; (B) après séchage (Messai, 2011). | 3 |
| Figure 2. Classification des composés phénoliques (Péroumal, 2014) | 6 |
| Figure 3. Structure générale des flavonoïdes (Bessaoud, 2015) | 7 |
| Figure 4. Schéma de la fabrication de produit laitiers traditionnels (Benkerroum et Tamime, 2004)..... | 10 |
| Figure 5. La plante « <i>Artemisia herba-alba</i> » (séchée)..... | 14 |
| Figure 6. Photographie du broyeur électrique (A), tamiseur automatique (B)..... | 15 |
| Figure 7. Prototype utilisé pour l'extraction par solvant assisté par agitateur magnétique. | 16 |
| Figure 8. Prototype utilisé pour l'extraction par solvant assisté par micro-onde..... | 16 |
| Figure 9. Schéma du procès de fabrication de fromage frais aromatisé à base d'extrait d'armoïse blanche | 19 |
| Figure 10. Effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> par micro-onde..... | 23 |
| Figure 11. Effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> par macération. | 24 |
| Figure 12. Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> par micro-onde..... | 27 |
| Figure 13. Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> par macération..... | 28 |
| Figure 14. Effet du solvant d'extraction sur l'activité antiradicalaire (DPPH) des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> obtenus par micro-onde..... | 29 |
| Figure 15. Effet du solvant d'extraction sur l'activité antiradicalaire (DPPH) des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> par macération..... | 30 |
| Figure 16. Effet du solvant d'extraction sur l'activité antiradicalaire (ABTS) des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> par micro-onde..... | 31 |

| | |
|---|----|
| Figure 17. Effet du solvant d'extraction sur l'activité antiradicalaire (ABTS) des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> par macération | 32 |
| Figure 18. Effet d'extrait aqueux d' <i>Artemisia herba alba</i> sur la teneur en composés phénoliques des différents fromages frais | 34 |
| Figure 19. Effet d'extrait aqueux d' <i>Artemisia herba alba</i> sur la teneur en flavonoïdes des différents fromages frais..... | 35 |
| Figure 20. Effet d'extrait aqueux d' <i>Artemisia herba alba</i> sur l'activité antiradicalaire (DPPH) des différents fromages frais. | 36 |
| Figure 21. Effet d'extrait aqueux d' <i>Artemisia herba alba</i> sur l'activité antiradicalaire (ABTS) des différents fromages frais | 37 |
| Figure 22. Variation de pH des fromages frais aromatisés et de fromage frais non aromatisé. | 38 |
| Figure 23. Variation de l'acidité de fromage frais non aromatisé et des fromages frais aromatisés..... | 39 |
| Figure 24. Taux d'extrait sec de fromage frais non aromatisé et des fromages frais aromatisés..... | 40 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau I. Composition et valeur calorique moyenne des fromages frais (pour 100 g de produit) (Apfelbaum et Romain, 2004)..... | 9 |
| Tableau II. Origine de la contamination du fromage frais et les espèces correspondantes (Guiraud, 2003). | 13 |
| Tableau III. Recette d'un fromage non aromatisé et d'un fromage à base d'extrait d'armoise blanche. | 20 |
| Tableau IV. Indice des PPT obtenu par analyse spectrale..... | 26 |

Liste des Abréviations

Abs: absorbance

ABTS: Acide 2, 2'azinobis-3-éthylbenthiazoline-6-sulfonique

D° : Degré Dornic

DPPH: 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazole

Mg EqAG : Equivalent milligramme d'acide gallique

Mg EqR : milligramme Equivalent rutine

MS : Matière Sèche

IPP : Indice de Polyphénols totaux

MO : Micro-onde

MS : Matière Sèche

PPT : Polyphénols Totaux

pH : Potentiel d'Hydrogène

EST : Extrait sec

MET : Méthanol

Et : Ethanol

Ac : Acétone

Eau : Eau distillée

(Met/Et/Ac/Eau) : mélange à différents volumes (30/30/30/10)

BHA: butylhydroxyanisole

BHT: butylhydroxytoluène

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *l'Artemisia herba alba*

| | |
|--|---|
| 1. Généralité | 3 |
| 2. Nomenclature et taxonomie: | 4 |
| 3. Habitat | 4 |
| 4. Ecologie de la plante | 4 |
| 5. Composition chimique | 5 |
| 6. Usages traditionnels et médicinaux :..... | 5 |
| 7. Toxicités | 5 |
| 8. Agents antioxydants | 5 |
| 8.1. Définition..... | 5 |
| 8.2. Composés phénoliques | 6 |
| 9. Le stress oxydant | 7 |
| 9.1. Définition..... | 7 |
| 9.2. Les radicaux libres | 7 |

Chapitre II : Généralités sur le fromage

| | |
|------------------------------------|---|
| 1. Définition | 8 |
| 2. Différent types de fromage..... | 8 |
| 2.1. Fromage frais..... | 9 |
| 2.1.1. Composition | 9 |

| | |
|---|----|
| 2.2. Procédés de fabrication | 9 |
| 2.2.1. Coagulation | 10 |
| 2.2.2. Egouttage..... | 11 |
| 3. Microflore du fromage frais | 11 |
| 3.1. Flore lactique | 11 |
| 3.2. Flore d'altération | 12 |
| 3.3. Flore pathogène | 12 |
| 4. Origine de la contamination du fromage frais | 12 |

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

| | |
|---|----|
| 1. Matériel végétal..... | 14 |
| 1.1. Récolte de la plante..... | 14 |
| 1.2. Broyage et tamisage..... | 14 |
| 2. Extraction des polyphénols | 15 |
| 2.1. Préparation des extraits..... | 15 |
| 2.2. Extraction des composés phénoliques par macération | 15 |
| 2.3. Extraction des composés phénoliques par micro-onde..... | 16 |
| 2.4. Dosage des polyphénols | 16 |
| 2.5. Dosage des Flavonoïdes | 17 |
| 2.6. Détermination de l'activité antioxydant | 18 |
| 2.6.1. Piégeage du radical ABTS | 18 |
| 2.6.2. Piégeage du radical DPPH..... | 18 |
| 3. Formulation et analyse des fromages | 19 |
| 3.1. Fabrication des fromages..... | 19 |
| 3.2. Ingrédients | 20 |
| 3.2.1. Lait | 20 |

| | |
|--|----|
| 3.2.2. Coagulant | 20 |
| 3.2.3. Extrait d'armoise blanche | 20 |
| 3.3. Analyses des fromages | 20 |
| 3.3.1. Dosages des antioxydants | 20 |
| 3.3.2. Mesure de pH..... | 21 |
| 3.3.3. Mesure de l'acidité..... | 21 |
| 3.3.4. Extrait sec total (EST)..... | 21 |

Chapitre VI : Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| 1. Les antioxydants des extraits d'armoise blanche | 23 |
| 1.1. Teneurs en composés phénolique totaux des extraits de l'armoise blanche..... | 23 |
| 1.2. Teneur en flavonoïdes des extraits d'armoise blanche | 27 |
| 2. Activité antioxydante des extraits d'armoise blanche..... | 29 |
| 2.1. Piégeage du radical DPPH..... | 29 |
| 2.2. Piégeage du radical ABTS..... | 31 |
| 3. Analyses des fromages frais | 33 |
| 3.1. Les antioxydants des extraits des fromages frais aromatisés à base d'armoise blanche | 33 |
| 3.1.1. Teneurs en composés phénoliques totaux des extraits des fromages frais aromatisés à base d'armoise blanche | 33 |
| 3.1.2. Teneur en flavonoïdes des extraits des fromages aromatisés à base d'armoise blanche | 34 |
| 3.2. Activité antioxydante des extraits des fromages aromatisés à base d'extrait d'armoise blanche..... | 35 |
| 3.2.1. Piégeage du radical DPPH..... | 35 |
| 3.2.2. Piégeage du radical ABTS | 36 |
| 4. Résultats d'analyses physico-chimiques des fromages frais..... | 38 |
| 4.1. pH | 38 |

Sommaire

| | |
|-------------------------------------|----|
| 4.2. Acidité Titrable..... | 38 |
| 4.3. Taux d'extrait sec total | 39 |
| Conclusion..... | 41 |
| Références bibliographiques | |
| Annexes | |

Introduction

Introduction

De tout temps l'homme a cherché à lutter contre l'altération des denrées alimentaires de base, pour des raisons vitales d'abord, mais aussi psychologiques. Ces altérations surviennent depuis la production des denrées jusqu'à leur consommation et elles résultent des actions physiques, chimiques ou biologiques.

Les antioxydants sont également un ingrédient en plus important dans la transformation des aliments. Leur rôle essentiel est d'inhiber le développement de rancissement oxydatif dans les produits alimentaires à base de graisse, en particulier la viande et les aliments frits. Les antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire en raison de leurs capacités à prévenir les détériorations des aliments et de prolonger leur durée de conservation, mais bon nombre d'entre eux étant considérés comme néfastes pour la santé et présentent des risques de cancérogénicité (**Chang et al., 2007; Akrouf et al., 2010**).

Artemisia herba alba est une plante médicinale de la famille des astéracées très utilisée en médecine traditionnelle en Algérie et notamment par les populations du Sahara central et septentrional (**Ayad et al., 2007**), (**Maiza et al., 2011**). C'est une plante fourragère et aromatique, elle est utilisée comme remède de beaucoup de maladies tel que le traitement de diabète, diarrhée. En alimentation, elle entre dans l'aromatization de certaines boissons et son huile essentielle est destinée à l'industrie de la cosmétologie et de la parfumerie.

Pour ces raisons on peut utiliser cette plante bénéfique pour une bonne alimentation et pour notre santé dans d'autres produits alimentaires ; tel que le fromage frais dans le but d'aromatization et l'enrichissement de ce dernier.

Le fromage frais résulte de la coagulation lente du lait par action de l'acidification combinées ou non à celle d'une faible quantité de présure. Le fromage frais présente une grande diversité selon le degré d'égouttage et la teneur en matière grasse du lait mis en œuvre. (**Michael et al, 2000**).

La présente étude a été consacrée à l'évaluation de l'effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydant d'armoise blanche, après leur extraction par deux méthodes différentes en utilisant plusieurs solvants, ainsi qu'à la détermination de l'activité antioxydant des extraits obtenus. Et l'utilisation du l'extrait aqueux d'armoise blanche obtenu à partir d'une micro-onde comme solvant d'incorporation dans le

fromage frais après sa fabrication, ainsi qu'à la détermination de l'activité antioxydant du fromage frais, analyse physico-chimique du ce dernier.

Pour cela nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Extraction des composés phénoliques à partir d'*Artemisia herba alba* par deux méthodes différentes : micro-onde et macération (agitateur magnétique), en utilisant plusieurs solvants de différentes polarités : l'eau distillée, l'acétone 80%, le méthanol 80%, l'éthanol 80% et le mélange (Met/Et/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10) ;
- Le dosage de quelques substances antioxydantes dont les polyphénols et les flavonoïdes et la détermination de l'activité antioxydant des extraits de l'armoise blanche en utilisant plusieurs méthodes (piégeage du radical libre DPPH, piégeage du radical libre ABTS) ;
- La fabrication des fromages frais aromatisés à base d'extrait aqueux de l'armoise blanche, le dosage de quelques substances antioxydantes dont les polyphénols et les flavonoïdes dans ces extraits et la détermination de leurs activités antioxydantes ;
- Analyse physico-chimique du fromage frais aromatisé à base d'extrait aqueux de l'armoise blanche.

Synthés
Bibliographiques

Chapitre I
Généralités sur l'Artemisia
herba-alba

1. Généralité

L'*Artemisia Herba Alba* ; en français l'Armoise herbe blanche est une plante mensuelle très répandue dans les zones arides à semi-aride. C'est une espèce du genre *Artemisia* (Armoise) qui appartient à la famille des *Astéracées*. Herbacée et peut mesurer de 30cm à 50cm de haut. Ses tiges sont florifères et élancées, un peu velues et ses feuilles sont oblongues, découpées en segments de couleur vert foncé sur la face et blanc cotonneux sur leur partie inférieure (figure1), elle possède aussi des petites fleurs tubuleuses jaunes ; elle dégage une odeur très forte, parfois désagréable (Ozenda, 1983; Baba Aissa, 2000).

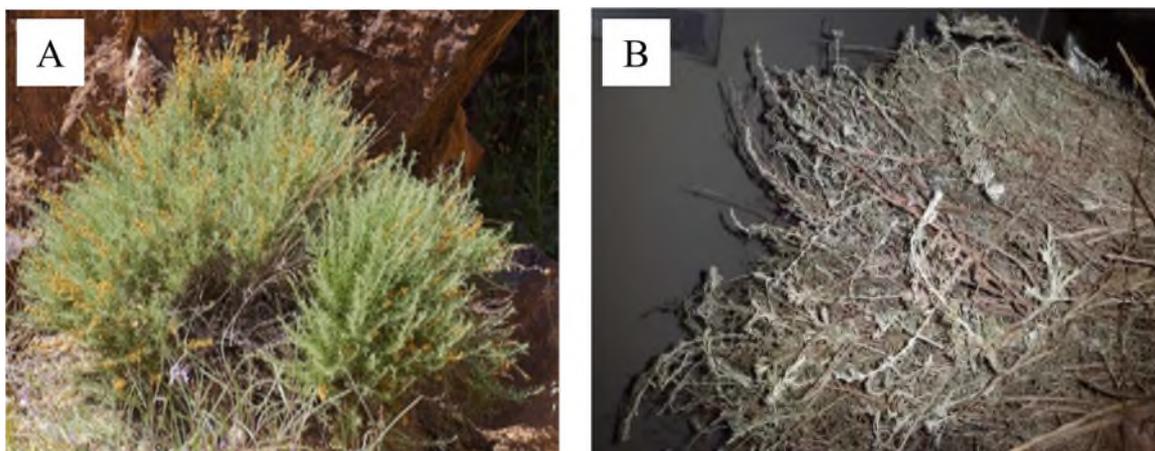


Figure 1. L'Armoise ; *Artemisia herba-alba* (A) à la fin de la saison de floraison; (B) après séchage (Messai, 2011).

La période de floraison est de juillet à octobre, ses fruits sont des akènes ovoïdes (Pottier, 1981). Les parties de la plante utilisées en phytothérapie sont notamment les feuilles et les sommités fleuries. (Mucciarelli et Maffei., 2002).

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquiniques, les coumarines, les huiles essentielles (Kundan et Anupam., 2010). Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, et non seulement elles utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (Mirjalili et al ., 2007).

2. Nomenclature et taxonomie:

Artemisia est le nom de genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis; herba-alba signifie herbe blanche (Nabli, 1989). Son nom scientifique est *Artemisia herba-alba* asso ou *Artemisia incultadel*.

Phylum: *Angiospermeae*.

Sous Phylum: *Dicotylédones*

Ordre: *Gampanulatae*

Famille: *Asteraceae*.

Sous-famille: *Asterioideae*.

Tribu: *Anthemideae*.

Sous-tribu: *Artemisiinae*.

Genre: *Artemisia*.

Espèce: *Artemisia Herba-alba*..

3. Habitat

L'Armoise est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne Jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, *Artemisia herba-alba* est absente des zones littorales nord et se raréfie dans l'extrême sud (Nabli, 1989).

4. Ecologie de la plante

L'armoise blanche existe dans les bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien. Elle est indifférente aux altitudes et peut vivre dans les régions d'hiver chaud à frais. Dans le sud, cette plante pousse sur les sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur les sols sableux. Elle résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés (Nabli, 1989).

5. Composition chimique

La partie aérienne d'*Artemisia herba alba* possède des activités antioxydantes significatives. En effet cette partie de la plante est riche en composés doués d'activité antioxydantes tels que: les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion su

peroxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (Bruneton, 1999).

6. Usages traditionnels et médicinaux :

L'*Artemisia herba alba* est très utilisé en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (Gharabi, 2008). De loin le remède le plus fréquemment cité dans la bibliographie est l'utilisation de l'*Artemisia herba alba* dans le traitement du diabète Sucré (Twaijha et Al-badrel, 1988). Plusieurs études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti malarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (Boudjeladi, 2013).

L'armoise est plus connue en Algérie, le Chih est un remède très populaire auquel on a souvent recours pour faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales et certains malaises du foie et antidiabétique. Ses racines sont indiquées contre certains troubles nerveux (Baba aissa, 2000).

7. Toxicités

A forte dose, l'armoise est abortive, neurotoxique et hémorragique. La thuyone constitue la substance toxique et bioactive dans l'armoise et la forme la plus toxique est l'alpha-thuyone. Elle a des effets convulsivantes (Aouadhi, 2010).

8. Agents antioxydants

8.1. Définition

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, bloqué de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants (Tang et Halliwell., 2010) et selon (Valko et al., 2006), un antioxydant devrait à la fois :

- Agir spécifiquement sur les radicaux libres ;
- Chélates les métaux de transition ;

- Agir en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer ;
- Agir à des concentrations physiologiques relativement faibles.

8.2. Composés phénoliques

Les polyphénols regroupent plusieurs catégories de composés chimiques faiblement acides rattachés à un anneau phénolique ou constitués d'un anneau phénolique. Les polyphénols contiennent au moins un groupe hydroxy phénolique relié directement au composé aromatique à anneau phénolique à base de carbone. Ces derniers sont facilement oxydés en quinones par les espèces oxydées radicalaires, propriété qui leur confère leur capacité à piéger les radicaux libres. Les polyphénols ont différentes fonctions chez les plantes. Le plus important polyphénol des plantes, sur le plan du volume, est la lignine (Charles M, 2005). Lorsque la plante meurt, les composés phénoliques peuvent perdurer pendant des semaines et avoir une incidence sur la décomposition, ils ont également une incidence sur la durée de conservation des fruits et légumes après la récolte.

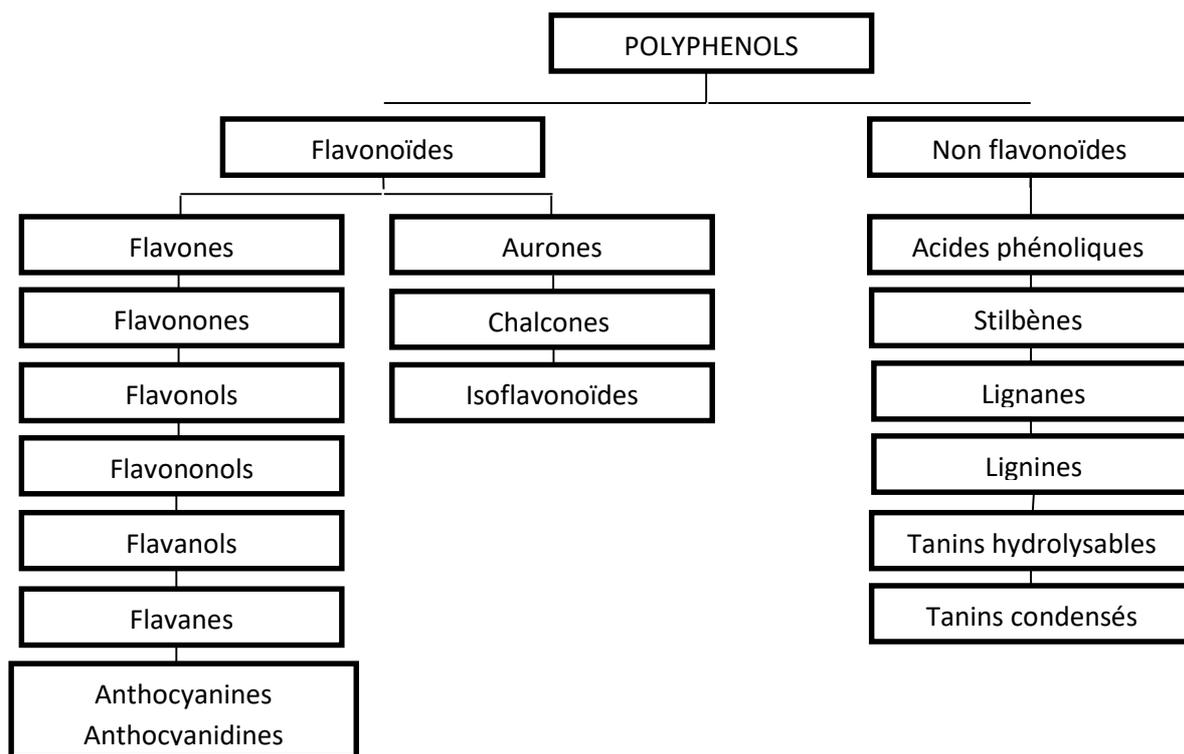


Figure 2. Classification des composés phénoliques (Péroumal, 2014)

➤ Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum et al., 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Ghestem et al., 2001; Bruneton, 1999) et de point de vue structural, se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (Harborne et Williams., 2000).

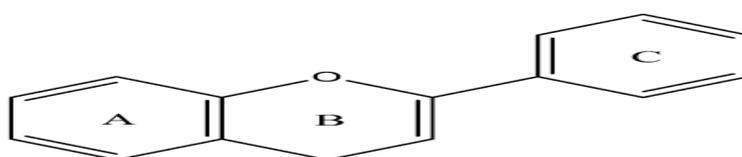


Figure 3. Structure générale des flavonoïdes (Bessaoud, 2015)

9. Le stress oxydant

9.1. Définition

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd et al., 2003).

9.2. Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non apparié(s) (Jacques et André., 2004), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Martinez-Cayuela, 1995).

Chapitre II

Généralités sur le fromage

II. Fromage

Les fromages sont des formes de conservation du lait et ses constituants (protéines, matière grasse ainsi qu'une partie de calcium et le phosphore). Ils sont produits à partir de diverses matières premières : lait de vache, lait de chèvre et lait de brebis ... Dans ces dernières décennies ils ont passé de la forme ancestrale de conservation à des produits ayant des qualités nutritionnelles et organoleptiques appréciées par l'Homme dans tout le globe (Jeantet et al.2007).

1. Définition

➤ Sur le plan technologique

La dénomination fromage est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitière suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse (MG), utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse (Gem Rcn, 2009). La teneur minimale en matière sèche (MS) du produit ainsi défini doit être 23 g pour 100g du fromage.

➤ Sur le plan alimentaire

Le fromage est une forme de conservation des deux principaux constituants insolubles du lait (caséine et matière grasse) et d'une partie plus ou moins importante des sels minéraux et des éléments solubles. Seules les proportions entre divers constituants varient ainsi que leur état de dégradation enzymatique (Pointurier, 1985).

➤ Sur le plan biologique

L'aspect biologique du fromage est retrouvée à trois niveaux : le domaine végétal (alimentation des animaux), le domaine animal (espèce et race des animaux producteurs du lait) et enfin le domaine microbiologique (flore : fermentation et affinage) (Berard et Marchenay, 2004).

2. Différent types de fromage

Les fromages sont classés en différentes catégories, selon certains critères tels que l'espèce animale, la teneur en eau et la technologie de fabrication. Selon ce dernier, les fromages sont classés en sept grandes catégories (Mahaut et al. 2000) :

- Fromage frais ou pâte fraîche ;
- Les pâtes molles à croute lavée ;
- Les pâtes persillées ;
- Les pâtes pressées cuites ou non cuites ;
- Les pâtes dures ;
- Les pâtes filées ;
- Les fromages fondus.

2.1. Fromage frais

Les fromages frais ne sont pas affinés, sont traditionnellement à égouttage lent, fabriqués à partir de lait ou de la crème propre à la consommation humaine. ils résultent de la coagulation à prédominance lactique du lait, combinant souvent l'action des ferments lactiques à celle de la présure (Mahaut et al., 2000)

2.1.1. Composition

La composition du fromage frais et sa valeur calorique sont présentées dans le Tableau

Tableau I. Composition et valeur calorique moyenne des fromages frais (pour 100 g de produit) (Apfelbaum et Romain, 2004)

| Types de fromages frais | Energie (Kcal) | Protéines (g) | Glucides (g) | Lipides (g) | Calcium (mg) | Eau (g) |
|-------------------------|----------------|---------------|--------------|-------------|--------------|---------|
| 0% MG | 86 | 7,5 | 3,7 | 0,2 | 126 | 86,3 |
| 20% MG | 80 | 8,3 | 3,8 | 3,4 | 117 | 83,7 |
| 30% MG | 100 | 8,1 | 3,6 | 5,9 | 115 | 80,9 |
| 40% MG | 115 | 7,0 | 3,4 | 8,0 | 109 | 80,5 |
| 40%MGaux fruits | 163 | 6,6 | 17,4 | 7,5 | 75 | 66,0 |
| Salé | 184 | 9,8 | 2,5 | 35,3 | 94 | 8,5 |

MG : Matière grasse

2.2. Procédés de fabrication

La fabrication du fromage frais à partir de lait cru ou pasteurisé suivant des procédures de préparation plus ou moins améliorées. De ce fait, il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation (Benkerroum et Tamime, 2004) (Figure 6).

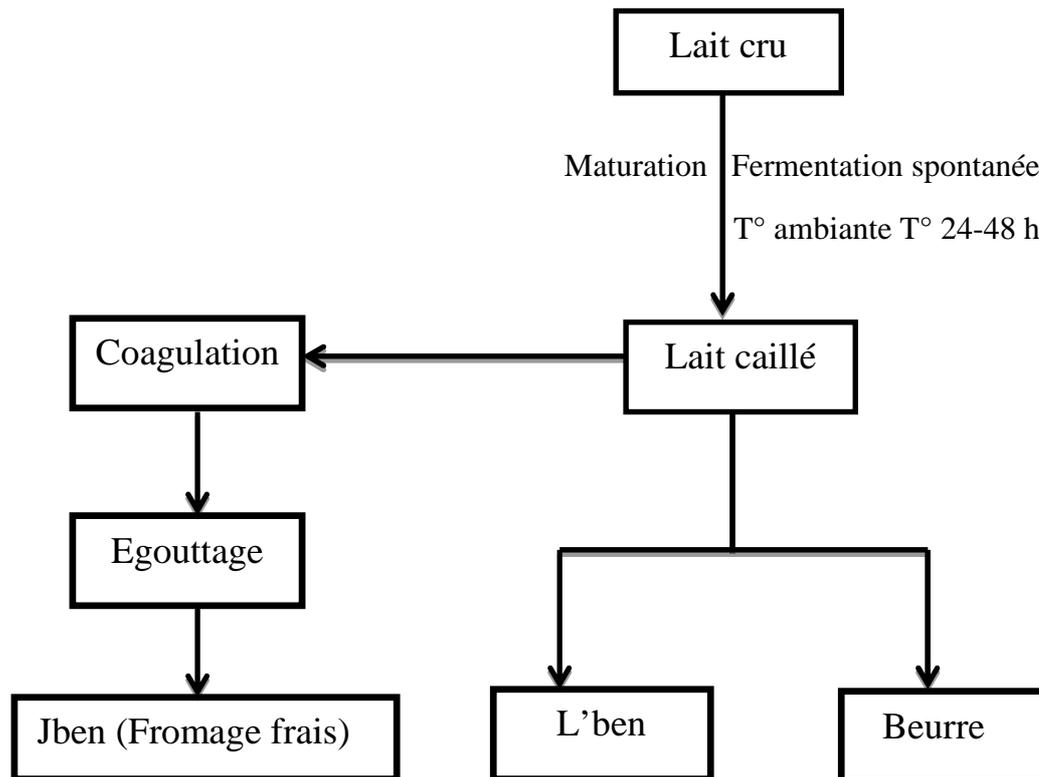


Figure4.Schéma de la fabrication de produit laitiers traditionnels (**Benkerroum et Tamime, 2004**)

La fabrication d'un fromage à pâte fraîche comprend principalement deux étapes successives : la coagulation et l'égouttage (**Ramet et Scher, 1997**).

2.2.1. Coagulation

La coagulation du lait, qui se traduit par la formation d'un gel, résulte des modifications physico-chimiques au niveau des micelles de caséine. Les mécanismes proposés dans la formation du coagulum diffèrent totalement entre celui induites par acidification et l'action d'enzymes coagulantes (**Ramet, 2006**). Cette étape est caractérisée par le temps de prise et le temps de durcissement. Les caractéristiques physico-chimiques du gel conditionnent l'aptitude à l'égouttage et les caractéristiques finales du fromage (**Matoub, 2000 ; Ramet, 2006**).

➤ La coagulation acide

Elle consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique (**pHi=4,6**) par acidification biologique à l'aide de ferments lactiques qui transforment le lactose en acide

lactique ou par ajout d'acides organique comme l'acide lactique, acide citrique... Dans ce cas l'acidification entraîne une diminution des charges négatives des micelles et donc de la couche d'hydratation et des répulsion électrostatiques ainsi qu'une solubilisation du calcium et du phosphore minéral, entraînent une destruction des micelles de caséines avec réorganisation protéique, pour former un réseau puis un gel qui présente une perméabilité satisfaisante, mais une friabilité élevée avec une élasticité et plasticité pratiquement nulles dues au manque de structuration du réseau (**Brule et Lenoir, 1987 ; Gillis, 2006 ; Ramet, 2006**)

➤ La coagulation enzymatique

Elle consiste à transformer le lait de l'état liquide à l'état de gel par l'action d'enzyme protéolytique. On distingue trois phases : phase primaire ou enzymatique, phase secondaire ou d'agrégation des micelles déstabilisées et phase tertiaire ou phase de réticulation (**Brule et Lenoire, 1987 ; 2006 ; Ramet, 2006**).

2.2.2. Egouttage

L'égouttage se traduit par une élimination importante du lactosérum et s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement du gel. Il est généralement admis que le phénomène dans sa globalité résulte à la fois d'un processus actif appelé synérèse. L'égouttage spontané d'un gel lactique est lent et limité, il conduit à une pâte hétérogène. Cependant, celui d'un gel présure forme une pâte compacte et solide (**St Gelait et al., 2002**).

3. Microflore du fromage frais

Il est très difficile de citer toutes les espèces microbiennes intervenant dans la fabrication des fromages car elles sont très nombreuses, en particulier dans le cas des produits au lait cru et dans les productions fermières, de plus il y'a des variations régionales et saisonnières entre les différentes productions fromagères (**Guiraud, 2003**).

Les microflores des fromages frais sont composées d'un grand nombre de micro-organisme (10^6 /g), et appartiennent à des groupes et des espèces très diverses qui ont des origines différentes tel que le lait, l'atmosphère des locaux, le matériel de fromagerie, les levains, les animaux et le manipulateur (**Mahaut et al., 2000**).

3.1. Flore lactique

Appelée aussi flore bénéfique. Ces sont des bactéries lactiques responsables de l'acidification du lait, maturation de la crème et la coagulation de la caséine du lait (**De Roissard et luquet, 1994**). Cette flore intervient au côté des levains éventuellement rajoutés dans la fermentation des fromages fabriqués à partir de lait cru (**Guiraud, 2003**).

Les bactéries lactiques forment un groupe hétérogène composé de cocci et de bacilles caractérisés par la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres (**Badis et al. 2005**). Ainsi selon le profil fermentaire ces bactéries lactiques peuvent être:

- **Homofermentaires** : car l'acide lactique est le seul produit de fermentation du glucose.
- **Hétérofermentaires** : la fermentation du glucose aboutit à la formation en plus d'acide lactique d'autres composés : éthanol, CO₂ ...etc. (**Priyanka et pakash, 2009**).

3.2. Flore d'altération

Du fait même de leur composition et des conditions de production, le lait et les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes qui, en se multipliant dans le produit, provoquant des transformations nuisibles à la qualité marchande des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, lactose) et /ou libération en leur sein de composés indésirables traduisent par des défauts de goût, odeur, aspect et de texture. Ces dégradations peuvent être dues à des bactéries, levures et moisissures (**Hermier et al., 1992**).

3.3. Flore pathogène

Les fromages frais peuvent contenir des entérobactéries pathogènes (E. coli, Salmonelles, Staphylococcus aureus...) (**Guiraud, 2003**).

4. Origine de la contamination du fromage frais

Les fromages frais peuvent se contaminer par des apports microbiens d'origines diverses, ces dernières sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau II. Origine de la contamination du fromage frais et les espèces correspondantes (Guiraud, 2003).

| Origine de contamination | Exemple d'espèces |
|---|---|
| Tégument de l'animal | Lait contaminé par : coliformes, entérocoques, clostridium, entérobactéries pathogènes (Salmonella, Shigella ...) |
| Sol | Strepyomyces, bactéries sporulées. |
| Litières et aliments | Flore banale : lactobacilles, clostridium butyriques |
| Eau et air | Pseudomonas, bactéries sporulées |
| Equipement de traite et de stockage du lait | Levures, flore lactique, lactobacilles. |

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériels et méthodes

III. Matériel et méthodes

L'intégralité de ce travail a été effectuée au niveau du laboratoire de Technologie Alimentaire (Bloc 12), de la faculté de Science de la Nature et de la vie (université de Béjaïa) du 18/03 au 20/05/2017.

1. Matériel végétal

1.1. Récolte de la plante

La récolte de la plante « *Artemisia herba alba* » a été effectuée dans la région de **Beni Maouche** (Wilaya de Bejaïa) durant le mois de février 2017, l'échantillon a été trié, bien lavé avec de l'eau du robinet suivi d'eau distillée puis séchée dans une étuve (Memmert UN/UF) à 40°C.



Figure 5. La plante « *Artemisia herba-alba* » (séchée).

1.2. Broyage et tamisage

La plante *Artemisia herba alba* a été découpée puis broyée avec un broyeur électrique (ENIEM Tip GBA, Alger, Algérie), puis tamisée à l'aide de deux tamiseurs (RETSCH AS 200 central) de granulométries différentes (500µm et 250µm); les fractions dont le diamètre est inférieur à 250µm ont été conservées dans des bocaux en verre embriqués à l'abri de l'humidité pour d'éventuelles utilisations.



Figure 6. Photographie du broyeur électrique (A), tamiseur automatique (B)

2. Extraction des polyphénols

2.1. Préparation des extraits

L'extraction des composés actifs de la plante à été effectuée par deux méthodes la première est une méthode classique conventionnelle : la macération à 10°C et la seconde est non coventionnelle : extraction par solvant assistée par microondes, en utilisant cinq solvants de différentes polarités : Eau, Méthanol 80%, Ethanol 80%, Acétone 80% et le mélange (Met/Et/Ac/Eau) à differents volumes (30/30/30/10), suivant la méthode de **Senapati *et al.*, (2013)**.

2.2. Extraction des composés phénoliques par macération

une prise d'essai de 2 g de poudre est mise en contacte avec 40 ml de solvant d'extraction à 80%, le mélange est soumis à une agitation à laide d'un agitateur magnétique(VELP SCIENTIFICA) à 10°C et à l'obscurité, après 24h de macération, les extraits ont été filtrés puis conservés dans des flacons en verre embrés à T°= 4°C (**Senapati *et al.*, 2013**).



Figure 7. Prototype utilisé pour l'extraction par solvant assisté par agitateur magnétique.

2.3. Extraction des composés phénoliques par micro-onde

L'extraction a été réalisée à l'aide d'un micro-onde domestique (SAMSUNG model ME 8123ST), ayant une cavité de dimensions de $22,5 \times 37,5 \times 38,6$ cm et une fréquence de 2,45 GHz. Une prise d'essai de 2 g de poudre a été placée dans un ballon de 250 ml qui renferme un volume de 20 ml de solvant d'extraction à 80%. Le mélange a été chauffé à 80°C pendant 25 min puis filtré et conservé dans des flacons en verre embrosés à 4°C . (Senapati *et al.*, 2013)

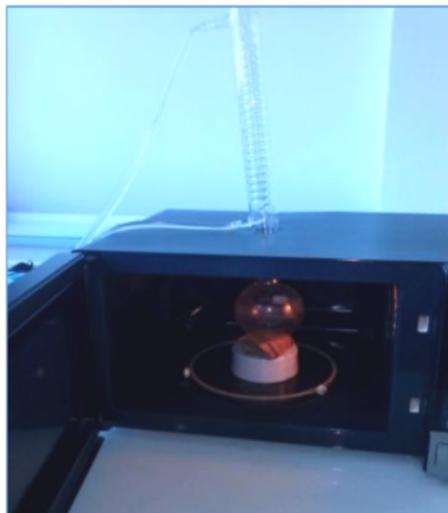


Figure 8. Prototype utilisé pour l'extraction par solvant assisté par micro-onde

2.4. Dosage des polyphénols

A. Dosage des polyphénols totaux (*Méthode du Follin-Ciocalteu*)

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec la Dans milieu basique et en présence des composés phénoliques, le mélange phosphotungstique ($\text{H}_3 \text{PW}_{12} \text{O}_{40}$) et

phosphomolybdique ($H_3 PMO_{12} O_{40}$) est réduit en bleu de tungstène ($W_8 O_{23}$) et de molybdène ($MO_8 O_{23}$) lors de l'oxydation des polyphénols. La couleur bleue est proportionnelle à la teneur en polyphénols méthode du Folin-Ciocalteu, dont le principe est ci-après. (George *et al*, 2005).

La teneur en composés phénoliques est estimée selon la méthode de George *et al*, (2005) dont 2,5 ml du réactif de folin-ciocalteu (dilué à 1/10) est ajouté à 0,5 ml de l'extrait dilué. Après 2 minutes, 2 ml de la solution de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés. Après 15 minutes d'incubation à 50°C et à l'obscurité, les absorbances sont mesurées par Uv-mètre (Spectrophotomètre UV-Vis SRECTROSCAN50) à 760 nm.

La concentration en composés phénoliques des extraits, exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (Eq AG/g MS), est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec de l'acide gallique (**annexe I**).

B. Indice des polyphénols

L'indice des polyphénols est une méthode basée sur la mesure directe de l'absorbance à 280 nm des différents extraits dilués. Les résultats sont exprimés en unité d'absorbance (AU) (Dahmoune *et al*, 2013).

2.5. Dosage des Flavonoïdes

Les flavonoïdes forment un complexe jaunâtre par chélation des métaux (le fer et l'aluminium), en perdant des électrons il s'unit à deux atomes d'oxygène du composé phénolique (Ribéreau *et Gayon.*, 1968).

Le dosage des flavonoïdes a été effectué selon la méthode basée sur le chlorure d'aluminium rapportée par (Khennouf *et al*, 2010). 1ml d'extrait dilué est ajouté à 2 ml de chlorure d'aluminium $AlCl_3$ à (2%), suivi d'une agitation. L'absorbance a été lue à 430 nm après 10 minutes d'incubation à l'obscurité. Les résultats sont exprimés en mg équivalent rutine par g de matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage (**annexe I**) réalisée avec la rutine.

2.6. Détermination de l'activité antioxydant

2.6.1. Piégeage du radical ABTS

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS⁺ de coloration bleu-vert en le transformant en ABTS⁺ incolore par piégeage d'un proton par l'antioxydant. La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre (**Re et al., 1999**).

La détermination de l'activité antioxydant des extraits a été réalisée par le radical ABTS• selon la méthode de **Roberta et al., (1998)**. Un volume de 100 µl de la dilution 1/50 (100 µl d'extrait brute +4900µl de solvant d'extraction) est additionné à 2 ml de la solution d'ABTS (**Annexe II**) et l'absorbance a été lue à 734 nm après 6 mn d'incubation à l'obscurité.

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS• est exprimé par la formule suivante :

$$ABTS (\% d'inhibition) = \frac{(A_a - A_b)}{A_a} \times 100$$

A_a: absorbance du control à 734 nm.

A_b: absorbance de l'échantillon à 734 nm.

2.6.2. Piégeage du radical DPPH

Le DPPH est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène, de couleur violet intense (**Caver et al., 2009**). Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances antioxydants, qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune (**Gadow et al., 1997**). Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoration découle de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents (**Kroyer, 2003 ; Es Safi et al. 2007**).

La détermination de l'activité antioxydant par le radical DPPH• a été effectué selon la méthode de **Dahmoune et al., (2013)**. 100 µl d'extrait est ajouté à 3 ml de la solution de DPPH (**annexe III**). L'absorbance a été lue à 515 nm après incubation à l'obscurité à 37°C pendant 20 min.

- Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH^{*} est exprimé par la formule.

$$DPPH (\% \text{ d'inhibition}) = \frac{(A_a - A_b)}{A_b} \times 100$$

A_a : absorbance du control à 515 nm.

A_b : absorbance de l'échantillon à 515 nm

3. Formulation et analyse des fromages

3.1. Fabrication des fromages

La préparation des fromages a été réalisée à l'échelle du Laboratoire d'Analyse Sensorielle (LAS) de l'université de Bejaia, en respectant le diagramme de fabrication d'un fromage standard (**figure 7**) avec l'ajout d'extrait aqueux d'armoise blanche.

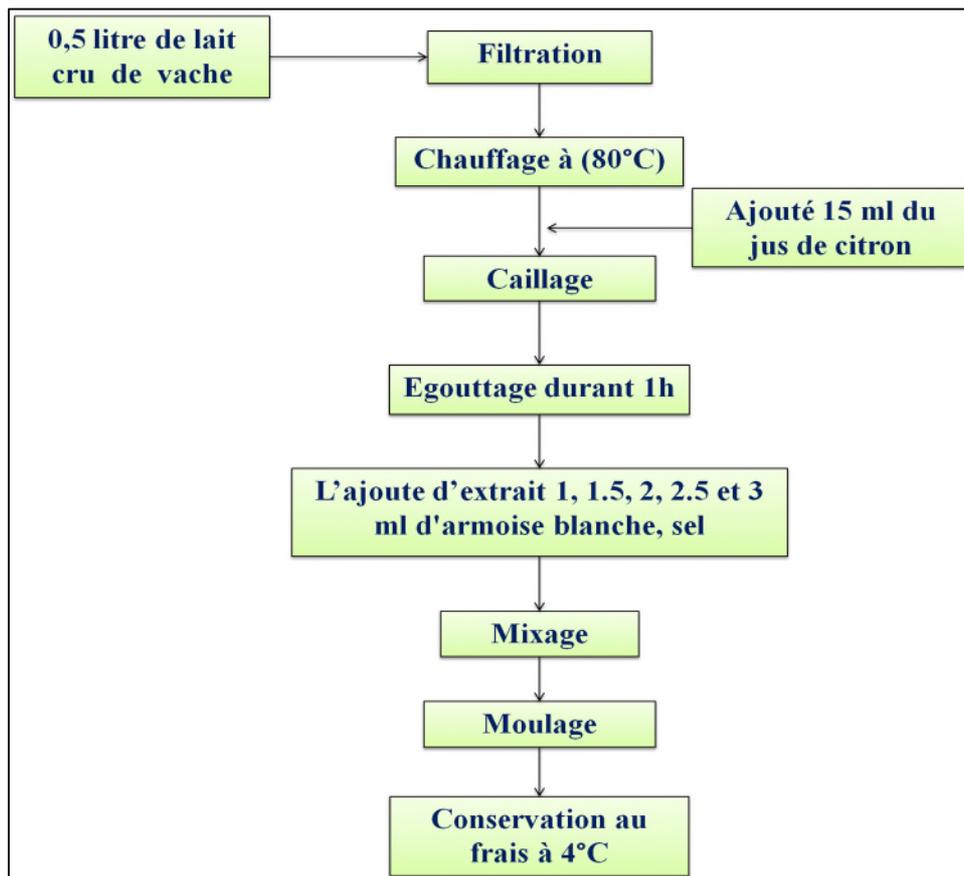


Figure 9. Schéma du procès de fabrication de fromage frais aromatisé à base d'extrait d'armoise blanche

3.2. Ingrédients**3.2.1. Lait**

La matière première utilisée pour la fabrication du fromage frais est le lait frais de vache (lait cru), est acheté au niveau des points de vente, non loin de l'université.

3.2.2. Coagulant

Un Citron Pressé, et filtrée est ajouté comme coagulant. 15 ml du jus de citron ont été ajoutés après chauffage du lait à 80°C durant 10 minutes.

3.2.3. Extrait d'armoise blanche

Une prise d'essai de 2 g de poudre d'armoise est mise en contacte avec 20 ml d'eau distillée, L'extraction a été réalisée à l'aide d'un micro-onde domestique, puis filtré et conservé dans un flacon en verre embéré à 4 °C, ensuite différent volume de l'extrait de la plante ont été ajoutés dans la masse des fromages égouttés (tableau III)

Tableau III: Recette d'un fromage non aromatisé et d'un fromage à base d'extrait d'armoise blanche.

| | Témoin | Fromage A | Fromage B | Fromage C | Fromage D | Fromage E |
|----------------------------------|---------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Lait de vache (L) | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Citron (ml) | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| Sel (g) | 2g | 2g | 2g | 2g | 2g | 2g |
| Extrait de l'armoise (ml) | 0 | 1 | 1,5 | 2 | 2,5 | 3 |

3.3. Analyses des fromages

Le dosage des antioxydants ainsi quels analyses physico-chimiques (pH, acidité, le taux de cendre et humidité) ont été effectués.

3.3.1. Dosages des antioxydants

➤ Préparation d'extrait de fromage

Une prise d'essai de 10 g de fromage est mélangé avec 2,5 ml d'eau distillée ensuite le pH du mélange est ajusté jusqu'à 4,0 en utilisant du HCl (1 M), puis incubé à 45°C pendant 10 minutes suivi de Centrifugation (10000 tr / min, 20 minutes, 4°C). Le surnageant est récupéré, le pH est réajusté jusqu'à 7,0 en utilisant du NaOH, puis ré-centrifugé et le deuxième surnageant de l'extrait est ensuite récupéré est utilisé dans le dosage des antioxydants, des Flavonoïdes et les activités antioxydantes comme précédemment cités dans les extraits de l'armoise. (Zainoldin *et al.*, 2009).

3.3.2. Mesure de pH

2g de l'échantillon sont homogénéisés avec 20ml d'eau distillée, puis le pH est mesuré directement à l'aide d'un pHmètre (EXTECH instruments, EC 500) en plongeant l'électrode dans l'échantillon à une température de 20°C (Guiraud, 2003).

3.3.3. Mesure de l'acidité

2g de l'échantillon sont ajoutés à 20 ml d'eau distillée, 5 à 6 gouttes de phénolphthaléine (Sigma, Allemagne), préparée à 1% dans de l'éthanol absolu, sont ajoutées puis titrées par une solution d'hydroxyde de sodium, NaOH à 0,1 N jusqu'au virage de la couleur vers le rose clair (NF V 04-206, 1969).

Expression des résultats :



$$D^{\circ} = (N.V .100/20) .10.0.9$$

Avec :

N : normalité de NaOH (mol/l) ;

V : volume de NaOH titré (ml) ;

100 : masse molaire de l'acide lactique (g/mol) ;

20 : la quantité d'eau distille ajoutée à 2g de fromage frais (ml).

3.3.4. Extrait sec total (EST)

3 g du fromage sont répartis uniformément à la surface d'un creusé et sont séchés dans une étuve à 103°C ± 2°C jusqu'à stabilisation du poids (P3). Auparavant le creusé et avec

l'échantillon de fromage est pesée dans les mêmes conditions (P1), ainsi la matière sèche et est déterminés en appliquant les formules ci-dessous

$$\text{EST \%} = \frac{P1 - P3}{P2} * 100$$

EST : Extrait sec total

P1 : poids du creusé et avec l'échantillon (3g) du fromage ;

P2 : poids de la prise d'essai (3g) ;

P3 : poids du creusé et avec l'échantillon après séchage.

Chapitre IV

Résultats et discussions

IV. Résultats et discussion

1. Les antioxydants des extraits d'armoise blanche

1.1. Teneurs en composés phénolique totaux des extraits de l'armoise blanche

L'eau distillée, l'acétone 80%, le méthanol 80%, l'éthanol 80% et le mélange (Met/Eth/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10) ont été utilisés comme solvants d'extraction, par deux méthodes différentes: micro-onde et macération.

➤ Extraits obtenus par micro-onde

L'étude statistique montre que la quantité des composés phénoliques extraite à partir d'*Artemisia herba alba* présente des différences significatives selon le solvant utilisé ($P < 0,0001$) (Figure 10 et 11).

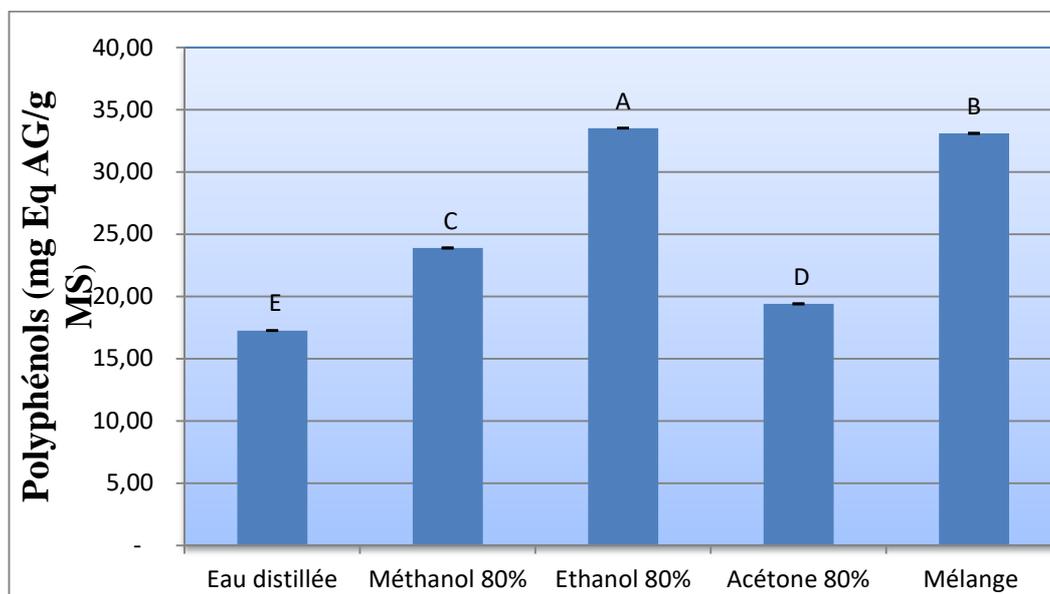


Figure 10. Effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits d'*Artemisia herba alba* par micro-onde.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A > B > C > D > E$).

Selon La figure 10 les teneurs en polyphénols totaux des extraits issus d'extraction par micro-onde varient entre $17,26 \pm 0,04$ et $33,52 \pm 0,05$ mg Eq AG/g MS. On constate que la concentration la plus importante a été obtenue avec l'éthanol 80% ($33,52 \pm 0,05$ mg Eq AG/g MS) suivi par le mélange (Met/Eth/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10) ($33,10 \pm 0,05$ mg Eq AG/g MS), le méthanol 80% ($23,89 \pm 0,05$ mg Eq AG/g MS) et l'acétone ($19,40 \pm$

0,05mgEq AG/g MS). Tandis que l'eau distillée présente la plus faible teneur ($17,26 \pm 0,04$ mgEq AG/g MS).

➤ **Extraits obtenus par macération**

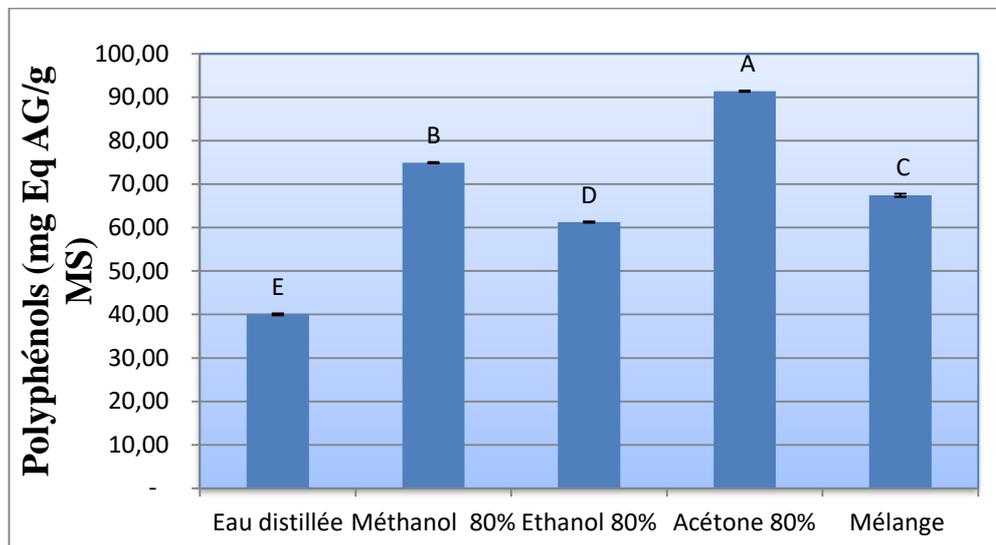


Figure 11. Effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits d'*Artemisia herba alba* par macération.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A > B > C > D > E$).

Selon la figure 11, La plus forte teneur en composés phénoliques ($91,42 \pm 0,14$ mgEq AG/g MS) des extraits d'*Artemisia herba alba* a été obtenue avec l'acétone 80% suivi par le méthanol 80% ($74,94 \pm 0,14$ mgEq AG/g MS), le mélange (Met/Eth/Ac/Eau) à différentes volumes (30/30/30/10) ($67,47 \pm 0,37$ mgEq AG/g MS) et l'éthanol ($61,27 \pm 0,14$ mgEq AG/g MS). Alors que la teneur la plus faible ($40,03 \pm 0,14$ mgEq AG/g MS) est celle de l'eau distillée.

Pour tous les solvants utilisés, l'étude statistique montre que la teneur en composés phénoliques la plus importante a été trouvée avec l'acétone 80% dont la teneur est égale à ($91,42$ mg Eq AG/g MS). Alors que la faible teneur ($40,03$ mg Eq AG/g MS) est obtenue avec l'eau distillée.

L'étude statistique révèle que l'extraction par macération présente une teneur en composés phénoliques ($91,42 \pm 0,14$ mgEq AG/g MS) plus importante que celle trouvée par micro-onde dont la valeur est égale à ($33,52 \pm 0,05$ mg Eq AG/g MS).

La présente étude montre que le meilleur solvant d'extraction des composés phénoliques est l'éthanol 80% pour la méthode d'extraction par micro-onde et l'acétone 80% pour la méthode d'extraction par macération, tandis que l'eau distillée s'avère être le plus faible pour les deux méthodes.

L'extraction quantitatives des composés phénoliques d'une poudre végétale pose plusieurs problèmes, notamment la présence dans les cellules végétales de différents types d'enzymes, susceptibles de modifier les composés phénoliques, en particulier des polyphénols oxydases et les glycosidases. Le séchage du végétal est une bonne méthode pour éliminer les activités enzymatiques mais, la température de séchage peut être un facteur destructeur des polyphénols (**Ribéreau-Gayon, 1968**). D'autres paramètres peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés phénoliques à savoir le type de solvant d'extraction, la taille des particules et le temps d'extraction (**Goli et al., 2005 ; Naczk et Shahidi, 2006**). Les substances moins polaires (dérivés d'acides phénoliques) ne sont pas isolées quantitativement en utilisant l'eau pure comme solvant d'extraction (**Cazes, 2005**). Selon **Chirinos et al. (2007)**, l'extraction par l'eau pure mène à un extrait ayant une teneur élevée en impuretés (acides organiques, glucides, protéines solubles) qui peuvent interférer dans le dosage des composés phénoliques.

Les acides phénoliques très polaires (acides benzoïques et cinnamiques) ne peuvent pas être extraits complètement avec des solvants organiques purs ; les mélanges alcool-eau sont recommandés. L'utilisation de l'eau en combinaison avec des solvants organiques contribue à la création d'un milieu modérément polaire qui assure l'extraction des composés phénoliques (**Lapornic et al., 2005**).

La solubilité des composés phénoliques est influencée par le type du solvant utilisé et le degré de leurs polymérisation (**Tazao, 2004 ; Naczk et Shahidi, 2004**). Cependant, ces derniers sont le plus souvent combinés à d'autres substances (protéines, polysaccharides, chlorophylle, lipides, composés inorganiques...) (**Monpon et al., 1996**).

Yizhong et al., 2003 ont trouvés que l'éthanol est le meilleur solvant d'extraction de certaines plantes de la famille des astéracées (*Arctium loppa*, *Artemisia annua*, *Artemisia argri* et *Artemisia capillaris*), ce résultat est le même avec celle obtenue dans la présente étude en utilisant le même solvant pour l'extraction par micro-onde.

Les teneurs en polyphénols diffèrent d'un auteur à un autre. Cela est probablement dû à différents facteurs comme la complexité de ces composés, la variété des plantes (différentes familles), le type et la concentration du solvant, la différence de la période et la région de récolte. De plus la méthode d'extraction et du dosage influence les teneurs en composés phénoliques.

Le tableau IV résume les résultats obtenus de l'indice de polyphénols des extraits de poudre de l'armoise par micro-onde et macération (exprimer en AU à 280 nm).

Tableau IV : Indice des PPT obtenu par analyse spectrale.

| Méthodes | Indice de PPT |
|------------------------|---------------|
| <i>Micro -onde(MO)</i> | |
| Eau distillée | 1,005 |
| Méthanol | 1,277 |
| Ethanol | 1, 526 |
| Acétone | 1,308 |
| Mélange | 1,314 |
| <i>Macération</i> | |
| Eau distillée | 0,909 |
| Méthanol | 1,452 |
| Ethanol | 1,209 |
| Acétone | 1,668 |
| Mélange | 1,240 |

Selon le tableau IV on constate que les concentrations les plus élevées en PPT après l'extraction par micro-onde sont observées avec l'extrait de l'éthanol et le mélange donnant des teneurs de 1.526 et 1.314 UA respectivement.

Concernant l'extraction par la méthode de macération les teneurs les plus élevées en PPT sont obtenues avec l'acétone et le méthanol avec des teneurs de 1.668 et 1.452 UA suivi par le mélange avec 1.252 UA respectivement.

Ces résultats s'accordent parfaitement avec les teneurs en polyphénols totaux en utilisant la méthode du Folin-Ciocalteu notamment pour micro-onde.

La comparaison entre les deux types d'extractions en termes de teneurs en PPT, montre que l'extraction par macération préserve mieux les polyphénols que la méthode de micro-onde. Par contre, les teneurs en polyphénols de micro-onde sont obtenues en un temps beaucoup plus court par rapport à celle obtenue par macération.

1.2. Teneur en flavonoïdes des extraits d'armoise blanche

Les teneurs en flavonoïdes contenues dans la poudre issue des différentes méthodes d'extractions sont exprimées en mg équivalent rutine/g de matière sèche.

Les teneurs en flavonoïdes des extraits d'*Artemisia herba alba* varient selon le solvant d'extraction d'une manière significative ($p < 0,0001$) (Figure 12 et 13).

➤ Extraits obtenus par micro-onde

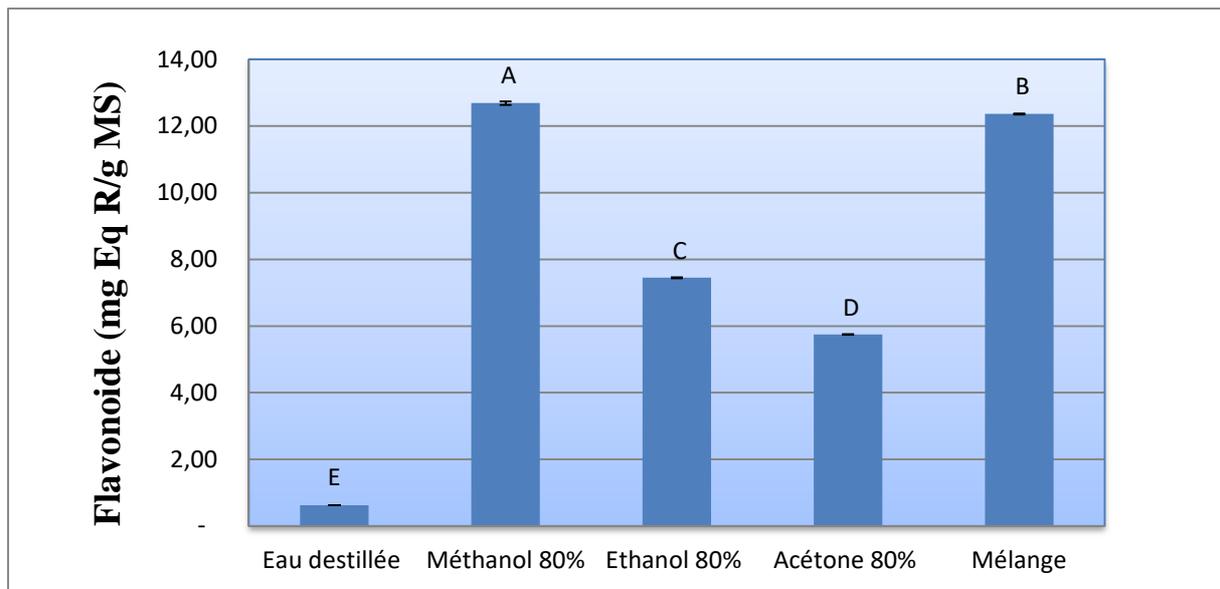


Figure 12. Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes des extraits d'*Artemisia herba alba* par micro-onde.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A > B > C > D > E$).

Selon la figure (12), Le méthanol 80% a permis d'obtenir la teneur la plus élevée en flavonoïdes ($12,69 \pm 0,05$ mg Eq R/g MS), suivi par le mélange (Met/Eth/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10) ($12,36 \pm 0,014$ mg Eq R/g MS), l'éthanol 80% ($7,45 \pm 0,014$

mg Eq R/g MS) et l'acétone ($5,75 \pm 0,008$ mg Eq R/g MS). Tandis que la plus faible teneur est celle de l'eau distillée ($0,62 \pm 0,001$ mg Eq R/g MS).

➤ **Extraits obtenus par macération**

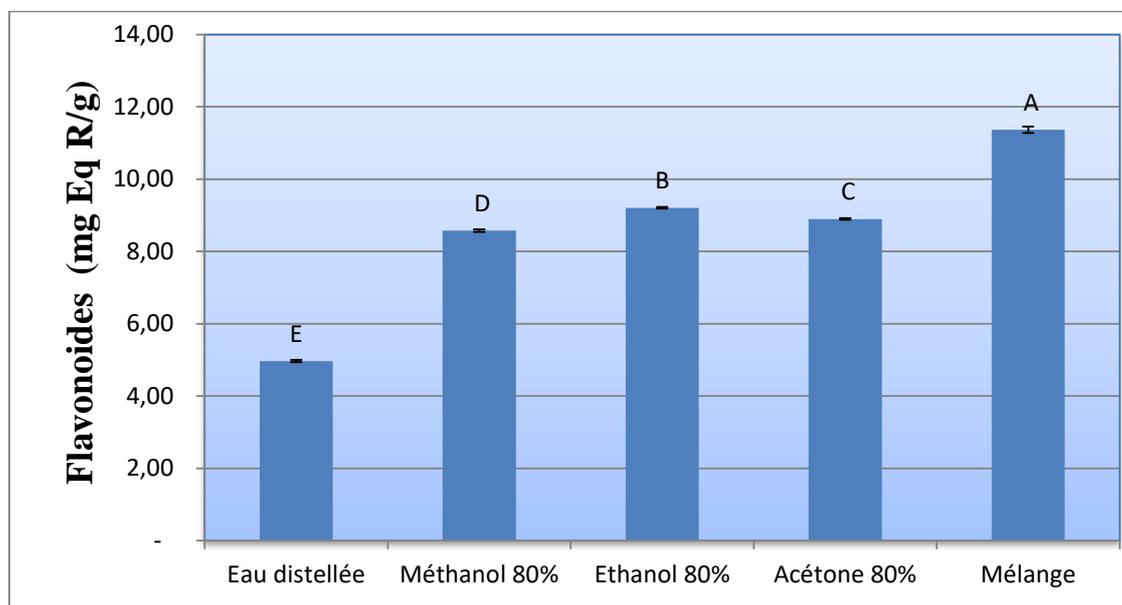


Figure 13. Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes des extraits d'*Artemisia herba alba* par macération.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A > B > C > D > E$).

Selon la figure (13), on remarque que la teneur optimale en flavonoïdes est ($11,36 \pm 0,09$ mg Eq R/g MS) dans le mélange (30/30/30/10), suivi par l'éthanol 80% ($9,21 \pm 0,021$ mg Eq R/g MS), l'acétone 80% ($8,90 \pm 0,021$ mg Eq R/g MS) et le méthanol ($8,58 \pm 0,031$ mg Eq R/g MS). Alors que la plus faible teneur ($4,97 \pm 0,031$ mg Eq R/g MS) est trouvée dans l'extrait de l'eau distillée.

La présente étude montre que le meilleur solvant d'extraction des flavonoïdes est le méthanol 80% pour la méthode d'extraction par micro-onde et le mélange (Met/Eth/Ac/Eau) à différentes volumes (30/30/30/10), pour la méthode d'extraction par macération (agitateur magnétique), tandis que l'eau distillée s'avère être le plus faible pour les deux méthodes.

L'étude statistique révèle que l'extraction par micro-onde présente une teneur en flavonoïdes ($12,69 \pm 0,014$ mg Eq AG/g MS) plus importante que celle trouvée par macération dont la valeur est égale à ($11,36 \pm 0,09$ mg Eq AG/g MS).

La solubilité des flavonoïdes dépend du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes (Lapronic et al., 2005).

2. Activité antioxydante des extraits d'armoise blanche

2.1. Piégeage du radical DPPH

L'efficacité d'un antioxydant peut être définie comme sa capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne. Afin d'évaluer cette efficacité, la méthode au diphényl-picrylhydrazyl est utilisée. Le degré de décoloration indique le potentiel piègeur des antioxydants présents dans les extraits (Molyneux, 2004).

L'étude statistique montre que l'activité anti radicalaire DPPH des extraits d'*Artemisia herba alba* présente des différences non significatives selon le solvant utilisé (Figure 14 et 15).

➤ Activité anti radicalaire DPPH des extraits obtenus par micro-onde

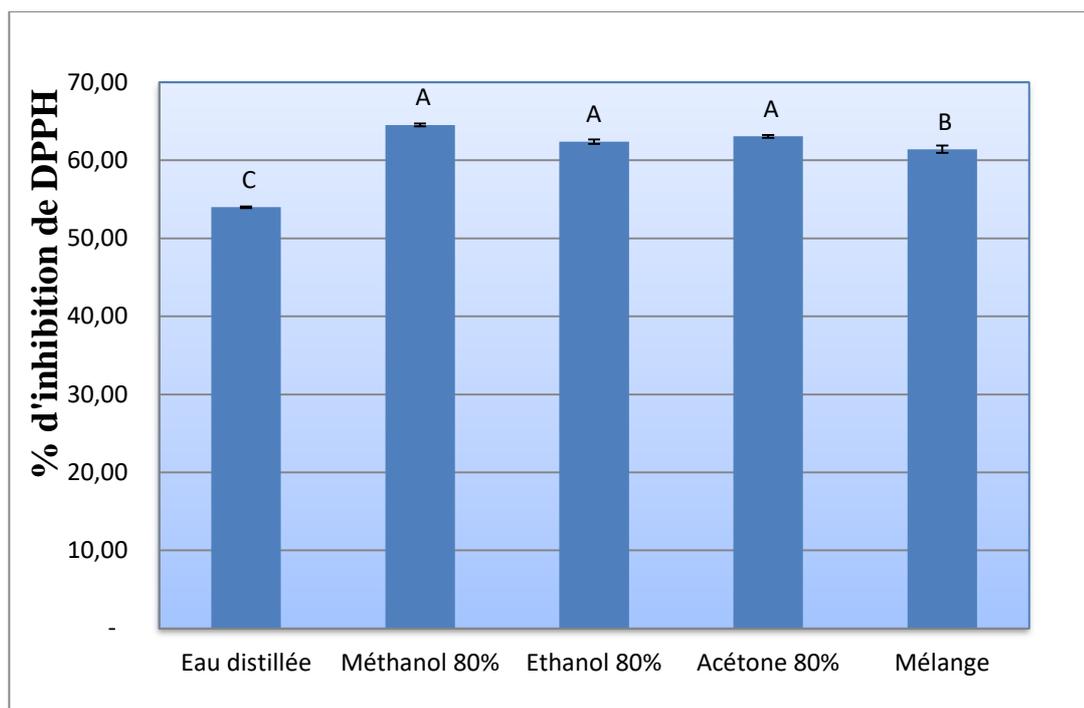


Figure 14. Effet du solvant d'extraction sur l'activité antiradicalaire (DPPH) des extraits d'*Artemisia herba alba* obtenus par micro-onde.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A > B > C$).

Les pourcentages d'inhibition du DPPH* les plus élevés ($64,53 \pm 0,18 \%$) ont été obtenus par l'extrait méthanolique 80%, l'extrait acétonique 80% ($63,07 \pm 0,28 \%$) et éthanolique 80% ($62,40 \pm 0,28 \%$), suivi par le mélange (Met/Eth/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10) ($61,42 \pm 0,48 \%$). La plus faible activité anti radicalaire DPPH a été trouvée avec l'extrait aqueux, dont le pourcentage d'inhibition est égal à ($53,93 \pm 0,11 \%$).

➤ **Activité anti radicalaire DPPH des extraits obtenus par macération**

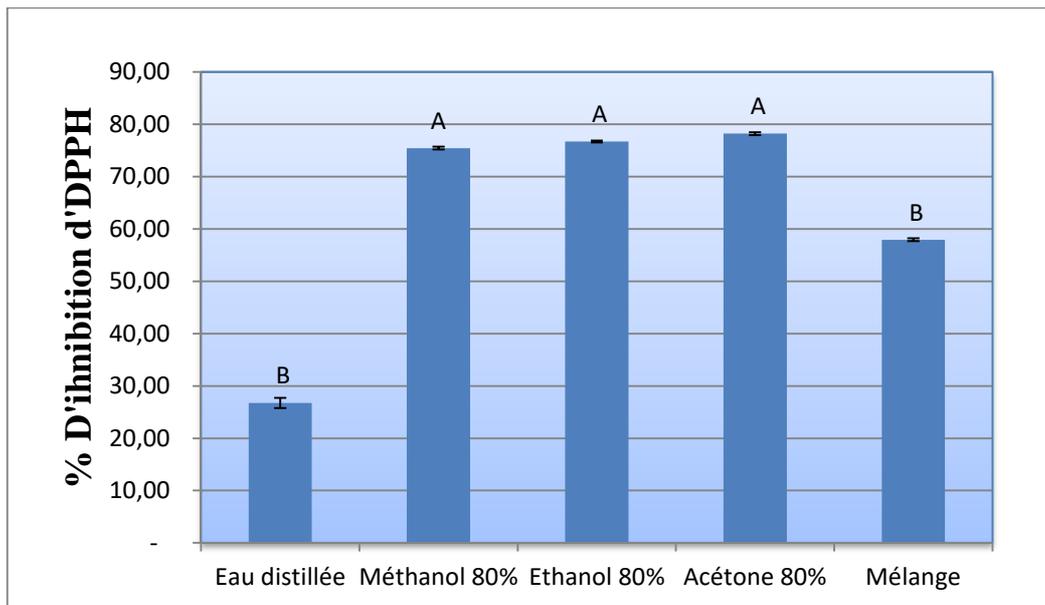


Figure 15. Effet du solvant d'extraction sur l'activité antiradicalaire (DPPH) des extraits d'*Artemisia herba alba* par macération.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A > B$)

Les pourcentage d'inhibition du DPPH le plus élevées ($78,22 \pm 0,27 \%$) trouvées dans l'*Artemisia herba alba* ont été obtenue avec l'acétone 80%, l'éthanol 80% ($76,72 \pm 0,21\%$), et le méthanol 80% ($75,46 \pm 0,27 \%$), suivis par le mélange (Met/Eth/Ac/Eau) à différentes volumes (30/30/30/10) ($57,93 \pm 0,27\%$). Alors que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH le plus faible ($26,75 \pm 0,95 \%$) est représenté par l'extrait d'eau distillée.

Artemisia herba alba a une meilleure activité contre le DPPH, pour tous les solvants d'extraction utilisés, avec un pourcentage de ($78,22 \pm 0,27 \%$) obtenue avec l'acétone 80%, l'éthanol 80% ($76,72 \pm 0,21\%$), le méthanol 80% ($75,46 \pm 0,27 \%$) par méthode de macération. Et un pourcentage de ($64,53 \pm 0,28 \%$) a été présenté par l'extrait méthanolique 80%, l'extrait acétonique 80% ($63,07 \pm 0,28 \%$) et éthanolique 80% ($62,40 \pm 0,28 \%$) avec le

micro-onde. La plus faible activité antiradicalaire est obtenue avec l'extrait d'eau distillée pour les deux méthodes.

L'étude statistique révèle que l'extraction par macération présente une activité contre le DPPH ($75,46 \pm 0,27 \%$ - $78,22 \pm 0,27 \%$) plus importante que celle trouvée par micro-onde, dont les valeurs sont entre ($62,40 \pm 0,28 \%$ et $64,53 \pm 0,28 \%$).

2.2. Piégeage du radical ABTS

L'ABTS est l'une des molécules les plus exploitées dans les études de l'activité antioxydante. L'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical cationique ABTS de coloration bleue en le transformant en ABTS incolore, en présence de proton issu d'un antioxydant (Millers et al., 1993 ; Re et al., 1999).

➤ Activité anti radicalaire ABTS des extraits obtenus par micro-onde

Les résultats de piégeage du radical libre ABTS par les extraits d'*Artemisia herba alba* obtenus par micro-onde présentent des différences non significatives selon le type du solvant utilisé (Figure 16 et 17).

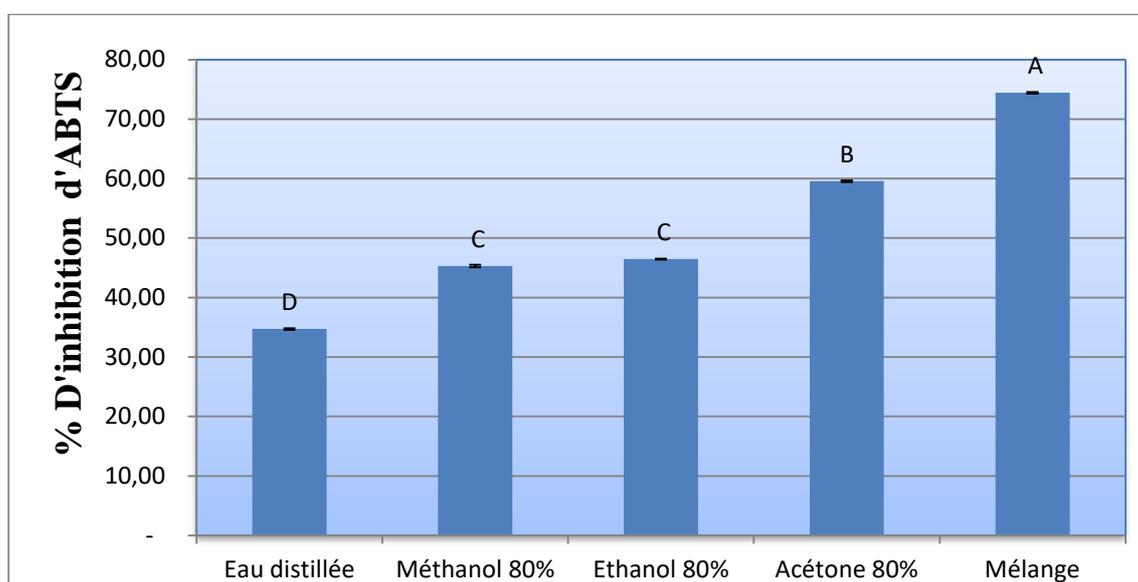


Figure 16. Effet du solvant d'extraction sur l'activité antiradicalaire (ABTS) des extraits d'*Artemisia herba alba* par micro-onde.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A > B > C > D$)

L'activité anti ABTS la plus forte ($74,43 \pm 0,14\%$) d'*Artemisia herbe alba* a été trouvée en utilisant le mélange (Met/Eth/Ac/Eau) à différentes volumes (Met/Eth/Ac/Eau) à différentes volumes (30/30/30/10) comme solvant d'extraction comparant avec les autres solvants utilisés. Suivi par l'extrait acétonique 80% ($59,57 \pm 0,08\%$), puis l'extrait éthanolique 80% et méthanolique 80%, dont les pourcentages d'inhibitions sont de ($46,48 \pm 0,14\%$) et ($45,29 \pm 0,14\%$) respectivement. Alors que le pourcentage d'inhibition du radical ABTS le plus faible ($34,71 \pm 0,14\%$) est représenté par l'extrait aqueux (eau distillée) de l'armoise blanche.

➤ Activité anti radicalaire ABTS des extraits obtenus par micro-onde

Le pourcentage d'inhibition du l'ABTS le plus élevé ($56,15 \pm 0,45\%$) trouvé dans l'*Artemisia herba alba* a été obtenu avec l'acétone 80%, suivi par le méthanol 80% ($48,28 \pm 0,95\%$), l'éthanol 80% ($30,68 \pm 0,59\%$) Et le mélange (30/30/30/10) ($29,11 \pm 0,45\%$). Alors que l'extrait aqueux à une faible teneur antiradicalaire (ABTS) avec un pourcentage d'inhibition de ($11,11 \pm 0,45\%$).

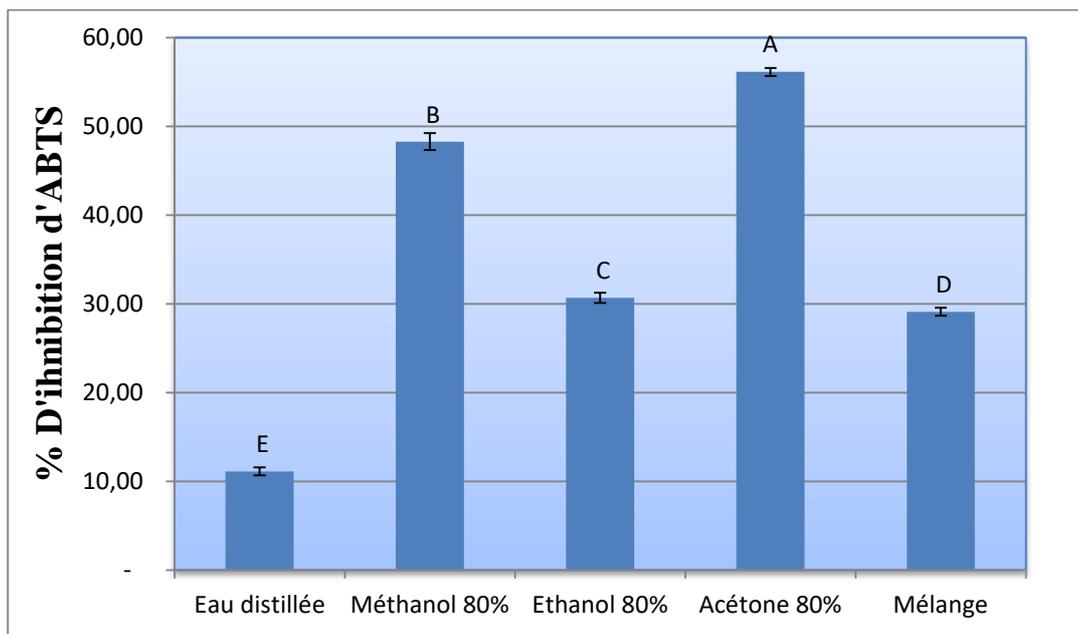


Figure 17. Effet du solvant d'extraction sur l'activité antiradicalaire (ABTS) des extraits d'*Artemisia herba alba* par macération.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents

(A>B> C>D>E).

Artemisia herba- alba une meilleure activité antiradicalaire (ABTS), pour tous les solvants d'extraction utilisés. L'activité antiradicalaire la plus élevée est celle obtenue dans le mélange (Met/Eth/Ac/Eau) à différentes volumes (30/30/30/10) par micro-onde avec un pourcentage d'inhibition égal à $74,43 \pm 0,45$ %. L'acétone présente une activité moyenne de $56,15 \pm 0,45\%$ par méthode de macération. Alors que la plus faible activité antiradicalaire est celle de l'extrait d'eau distillée pour les deux méthodes.

L'étude statistique révèle que l'extraction par micro-onde présente une activité antiradicalaire (ABTS) ($74,43 \pm 0,45$ %) plus importante que celle trouvée par macération dont la valeur est égale à ($56,15 \pm 0,45\%$).

3. Analyses des fromages frais

3.1. Les antioxydants des extraits des fromages frais aromatisés à base d'armoise blanche

3.1.1. Teneurs en composés phénoliques totaux des extraits des fromages frais aromatisés à base d'armoise blanche

L'étude statistique montre que la quantité des composés phénoliques extraite à partir d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* présente des différences significatives ($P < 0,0001$) (Figure 18).

La teneur la plus élevée en composés phénoliques ($9,34 \text{mg} \pm 0,038 \text{Eq AG/g de MS}$) trouvée dans le fromage aromatisé avec 3 ml d'extrait aqueux de l'armoise blanche, suivi par le fromage aromatisé avec 2,5 ml d'extrait ($1,158 \pm 0,015 \text{mgEq AG/g de MS}$), le fromage aromatisé avec 2 ml d'extrait ($1,047 \pm 0,052 \text{mgEq AG/g de MS}$), le fromage aromatisé avec 1.5 ml d'extrait ($0,898 \pm 0,043 \text{mgEq AG/g de MS}$) et le fromage aromatisé avec 1 ml d'extrait ($0,697 \pm 0,070 \text{mgEq AG/g de MS}$). Alors que la teneur la plus faible ($0,244 \pm 0,026 \text{mgEq AG/g de MS}$) est celle du fromage non aromatisé (Témoin).

L'étude statistique montre que la teneur en composés phénoliques la plus importante a été trouvée dans le fromage aromatisé avec 3ml d'extrait aqueux de l'armoise blanche dont la teneur est égale à ($9,34 \pm 0,038 \text{mgEq AG/g de MS}$). Alors que la faible teneur ($0,244 \pm 0,026 \text{mgEq AG/g de MS}$) est obtenue dans du fromage non aromatisé (Témoin).

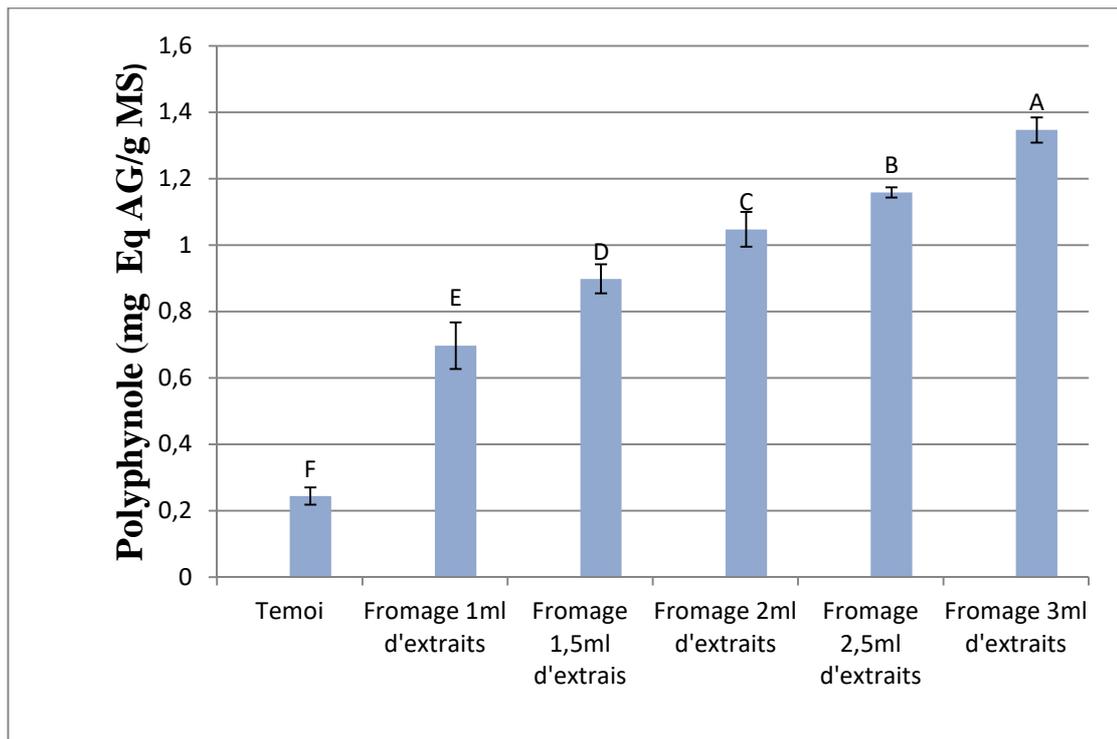


Figure 18. Effet d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* sur la teneur en composés phénoliques des différents fromages frais

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A < B < C < D < E < F$)

3.1.2. Teneur en flavonoïdes des extraits des fromages aromatisés à base d'armoise blanche

L'étude statistique montre que Les teneurs en flavonoïdes des fromages à base d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* présente des différences non significatives par micro-onde est présentée dans la figure 19.

Les fromages aromatisés avec 3 et 2,5 ml d'extrait aqueux de l'armoise blanche ont permis d'obtenir les teneurs les plus élevées en flavonoides ($0,65 \pm 0,040 \text{ mgEq R/g de MS}$) ($0,59 \pm 0,028 \text{ mgEq R/g de MS}$) respectivement, suivi par le fromage aromatisé avec 2 ml ($0,48 \pm 0,008 \text{ mgEq R/g de MS}$), 1,5 ml ($0,45 \pm 0,012 \text{ mgEq R/g de MS}$) d'extrait et le fromage aromatisé avec 1 ml d'extrait ($0,33 \pm 0,036 \text{ mgEq R/g de MS}$). Tandis que la teneur la plus faible ($0,29 \pm 0,071 \text{ mgEq R/g de MS}$) est celle du fromage non aromatisé (Témoin).

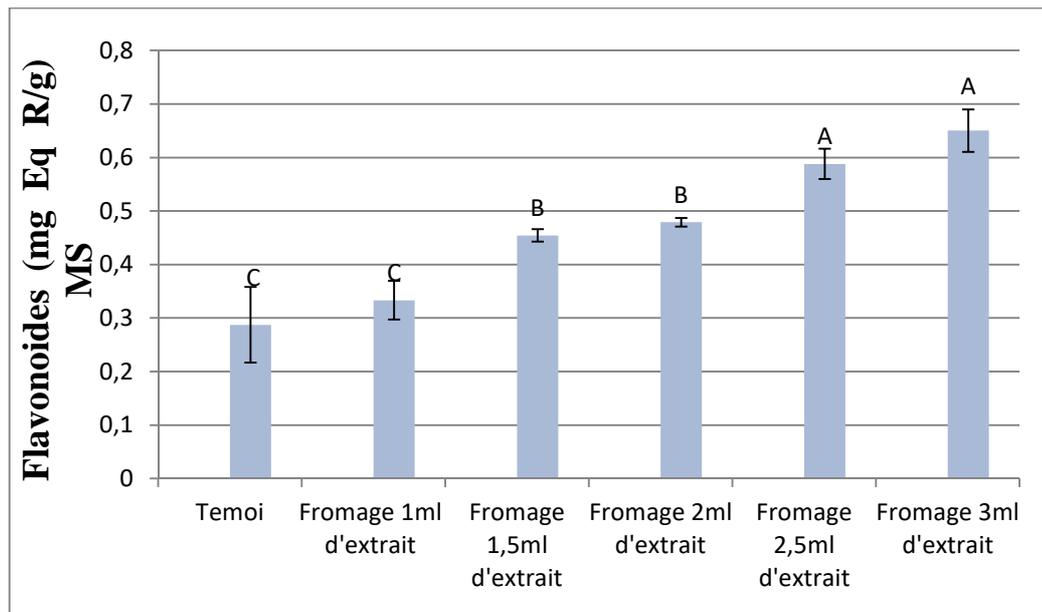


Figure 19. Effet d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* sur la teneur en flavonoïdes des différents fromages frais.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A < B < C$)

L'étude statistique montre que les teneurs en flavonoïdes les plus importantes ont été trouvées dans les fromages aromatisés avec 3 et 2,5 ml d'extrait aqueux de l'armoise blanche ($0,65 \text{ mg} \pm 0,040 \text{ Eq R/g de MS}$) ($0,59 \pm 0,028 \text{ mg Eq R/g de MS}$) respectivement. Alors que la faible teneur ($0,29 \pm 0,071 \text{ mg Eq R/g de MS}$) est obtenue dans du fromage non aromatisé (Témoin).

3.2. Activité antioxydante des extraits des fromages aromatisés à base d'extrait d'armoise blanche

3.2.1. Piégeage du radical DPPH

L'étude statistique montre que l'activité contre le radical DPPH des extraits aqueux de l'armoise blanche présente des différences non significatives selon le solvant utilisé (figure 20).

Le pourcentage d'inhibition du DPPH le plus élevé ($40,341 \pm 0,279\%$) trouvé dans le fromage aromatisé avec 3 ml d'extrait aqueux de l'armoise blanche, suivi par le fromage aromatisé avec 2,5 ml, 2 ml d'extrait dont les pourcentages d'inhibitions sont de ($29,007 \pm 1,728\%$) et ($27,239 \pm 1,935\%$) respectivement, puis le fromage aromatisé avec 1,5 ml d'extrait ($18,464 \pm 0,731\%$) et le fromage aromatisé avec 1 ml d'extrait ($15,417 \pm 0,761\%$). Alors que la teneur la plus faible ($6,399 \pm 1,112\%$) est celle du fromage non aromatisé (Témoin).

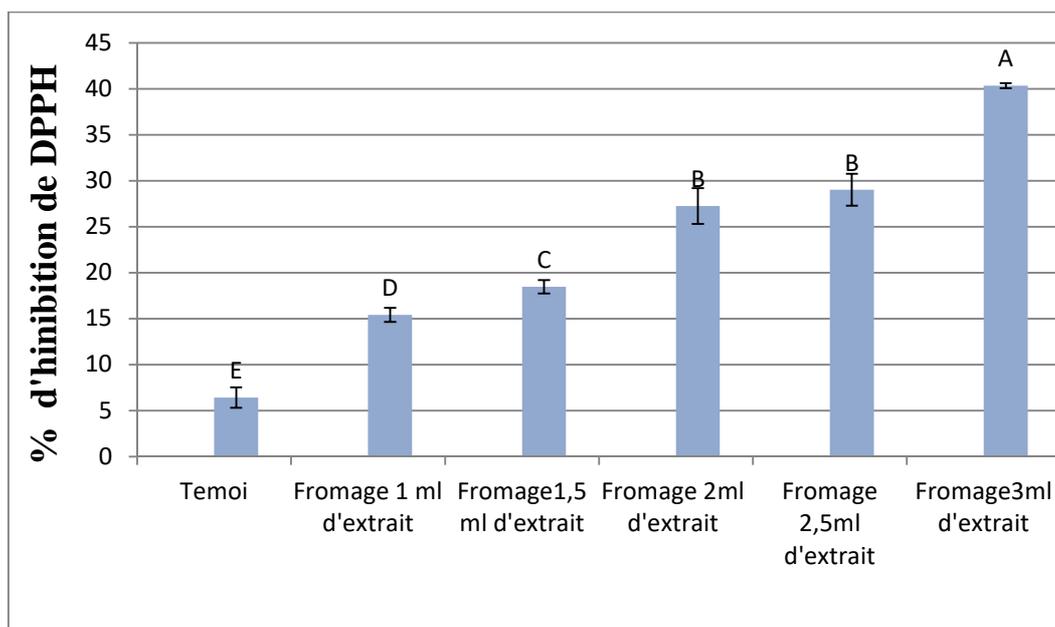


Figure 20. Effet d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* sur l'activité antiradicalaire (DPPH) des différents fromages frais.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A < B < C < D < E$)

3.2.2. Piégeage du radical ABTS

L'étude statistique montre que l'activité antiradicalaire ABTS des extraits aqueux de l'armoise blanche présente des différences non significatives selon le solvant utilisé (figure 21)

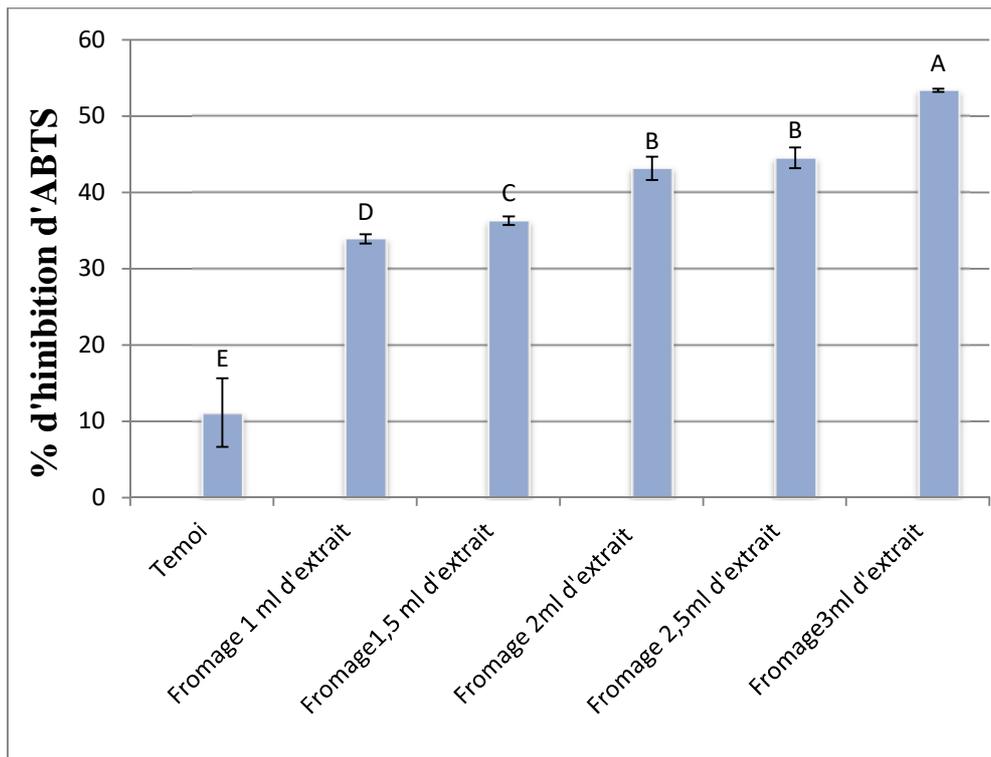


Figure 21. Effet d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* sur l'activité antiradicalaire (ABTS) des différents fromages frais.

-Les résultats qui portent des lettres différents sont significativement différents ($A < B < C < D < E$)

L'activité antiradicalaire ABTS la plus forte ($53,381 \pm 0,218\%$) du fromage aromatisé a été trouvée en utilisant 3ml d'extrait aqueux de l'armoise blanche. Suivi par le fromage aromatisé avec 2,5ml, 2ml d'extrait dont les pourcentages d'inhibitions sont de ($44,524 \pm 1,350\%$) et ($43,143 \pm 1,512\%$) respectivement, puis le fromage aromatisé avec 1.5ml d'extrait ($36,286 \pm 0,571\%$) et le fromage aromatisé avec 1ml d'extrait ($33,905 \pm 0,595\%$). Alors que le pourcentage d'inhibition du radical ABTS le plus faible ($11,143 \pm 4,511\%$) est obtenu avec l'extrait aqueux du fromage non aromatisé (Témoin).

D'après ces résultats on constate que le fromage aromatisé avec 3 ml d'extrait aqueux de l'armoise blanche contient des antioxydants tels que les composés phénoliques, flavonoïdes. Il possède aussi une meilleure activité antioxydante (DPPH, ABTS). Cette teneur augmente d'une manière proportionnelle avec l'ajout d'extrait aqueux de l'armoise blanche. Alors que le fromage non aromatisé (Témoin) ne contient pas des antioxydants car pas d'extrait d'armoise blanche.

4. Résultats d'analyses physico-chimiques des fromages frais

4.1. pH

Selon les valeurs de pH mesuré dans les fromages il ressort que le pH de fromage frais non aromatisé (témoin) à une valeur de 5,10 et les fromages frais aromatisés à base d'extrait aqueux de l'armoise blanche (1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ml) variés entre 5,36 et 5,76 (Figure 21). D'après ces résultats on constate que le pH est augmenté avec l'ajout des différents volumes d'extrait d'une manière proportionnelle.

D'après **David et Forte(1998)**, les fromages frais à caillé essentiellement lactique qui ne sont généralement pas ou très peu affinés, avec pas ou peu de présure ont un pH inférieur ou égale à 4,60. Cette teneur est inférieure à celle qu'on a obtenue.

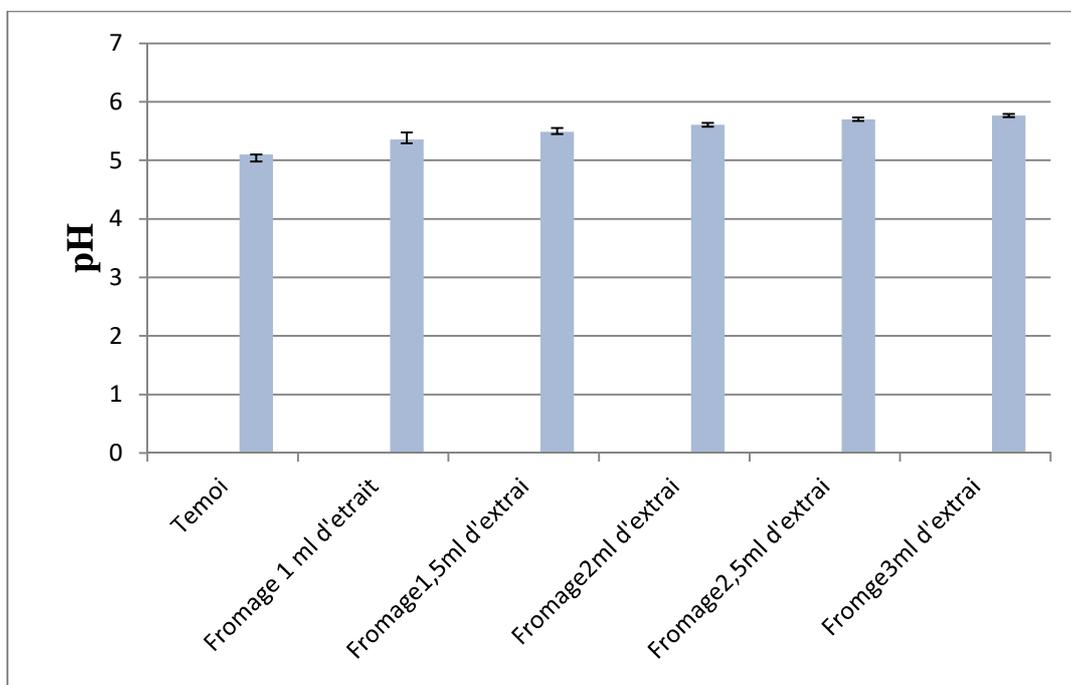


Figure 22. Variation de pH des fromages frais aromatisés et de fromage frais non aromatisé

4.2. Acidité Titrable

Le fromage frais non aromatisé à base d'extraits aqueux de l'armoise blanche (Témoin) et caractérisé par une acidité Dornic de 38,25°D, qui procède la valeur la plus importante. Tandis que les fromages frais aromatisés à base de l'extrait d'armoise blanche présentent une acidité Dornic qui varie entre (31,5-34,87) (**Figure 22**). D'après ces résultats on constate que l'acidité des fromages aromatisés est diminuée avec l'ajout des différents volumes d'extrait d'armoise blanche.

Ces valeurs inférieures avec celles obtenues par **El Marrakchi et Hammama(1996)**, mais sont inférieures également à celle obtenue par **Rhait et al. (2011)** qui a été de l'ordre de 83°D.

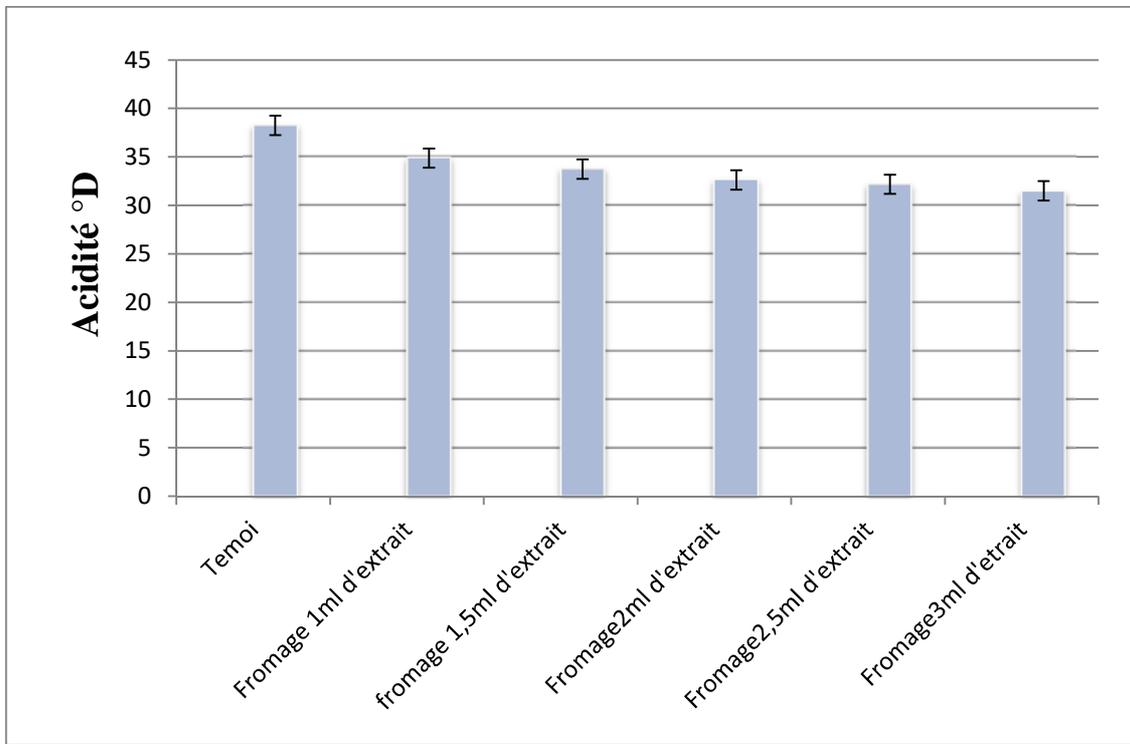


Figure 23. Variation de l'acidité de fromage frais non aromatisé et des fromages frais aromatisés

4.3. Taux d'extrait sec total

Les résultats des deux types de fromage frais (Aromatisé et non aromatisés) sont illustrés sur la (figure 23), les teneurs en extrait sec total (EST) des échantillons aromatisés et non aromatisés varient entre 58,67 et 61,33 %.

L'extrait sec total est le complément de la teneur en eau à 100%, il est en fonction de la teneur en matière grasse de lait et de l'importance de l'égouttage, car les éliminations de l'eau entraînent une forte augmentation de la teneur en matière sèche, ce taux varie généralement entre 20% et 67% (**Fredot, 2009**). Cette teneur est accordée avec les résultats qu'en a obtenus.

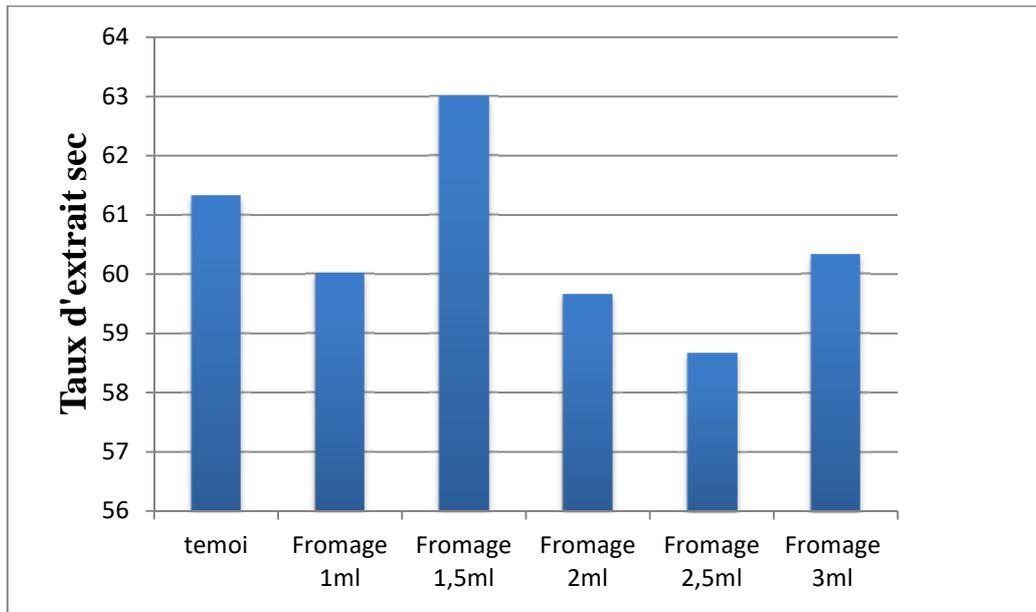


Figure 24. Teaux d'extrait sec de fromage frais non aromatisé et des fromages frais aromatisés

Conclusion

Conclusion

Notre étude a été consacrée aux dosages de quelques antioxydants (polyphénols totaux et flavonoïdes) de la plante médicinale Algérienne « *Artemisia herba alba* », après leur extraction par deux méthodes différentes en utilisant plusieurs solvants, ainsi qu'à la détermination de l'activité antioxydante des extraits obtenus. Et l'utilisation du l'extrait aqueux d'armoise blanche obtenu à partir d'un micro-onde comme solvant d'incorporation dans le fromage frais après sa fabrication, ainsi qu'à la détermination de l'activité antioxydante des extraits du fromage frais aromatisé et l'analyse physico-chimique de ce dernier.

Les résultats de la présente étude ont indiqué que l'éthanol 80% est le solvant le plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques à partir d'*Artemisia herba alba* par micro-onde, et l'acétone 80% présente la teneur la plus importante par macération.

L'étude statistique révèle que l'extraction par macération présente une teneur en composés phénoliques ($91,42 \pm 0,14$ mgEq AG/g de MS) plus importante avec l'acétone 80% que celle trouvée par micro-onde dont la valeur est égale à ($33,52 \pm 0,05$ mg Eq AG/g MS) avec l'éthanol 80% comme solvant d'extraction .

L'étude statistique a montré que le méthanol 80% a présenté la plus grande teneur en flavonoïdes pour la méthode d'extraction par micro-onde. Concernant la méthode de macération le mélange (Met/Et/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10) a permis d'obtenir la teneur la plus élevée.

L'étude statistique révèle que l'extraction par micro-onde présente une teneur en flavonoïdes ($12,69 \pm 0,014$ mg Eq R/g de MS) avec le méthanol 80% plus importante que celle trouvée par macération dont la valeur est égale à ($11,36 \pm 0,09$ mg Eq R/g de MS) avec le mélange (Met/Et/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10) .

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH a révélée que tous les extraits ont présentés un important potentiel antioxydant. L'extrait méthanolique 80%, l'extrait acétonique 80% et éthanolique 80% ont donnés la meilleure activité antioxydante DPPH pour la méthode d'extraction par micro-onde, et l'extrait acétonique 80%, l'extrait éthanololique 80% et méthanolique 80% pour la méthode d'extraction par macération. L'armoise blanche possédant une activité antioxydante DPPH puissante.

L'étude statistique révèle que les extraits obtenus par macération de l'armoise présente une activité contre le DPPH ($78,22 \pm 0,27$ %) plus importante que celle obtenus par micro-onde dont la valeur est égale à ($64,53 \pm 0,28$ %).

Le mélange (Met/Et/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10) d'armoise blanche a permis d'inhiber le radical ABTS avec un pourcentage plus important comparant avec les autres solvants utilisés pour la méthode d'extraction par micro-onde. Cependant l'activité anti radicalaire ABTS la plus forte a été trouvée en utilisant l'acétone 80% comme solvant d'extraction par macération.

L'étude statistique révèle que l'extraction par micro-onde présente une activité antiradicalaire (ABTS) ($74,43 \pm 0,45$ %) plus importante que celle trouvée par macération dont la valeur est égale à ($56,15 \pm 0,45$ %).

Concernant les fromages frais, l'étude statistique montre que les teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et le pourcentage d'inhibition du radical DPPH et ABTS les plus importante ont été trouvées dans le fromage aromatisé avec 3 ml d'extrait aqueux de l'armoise blanche. Alors que les faibles teneurs sont obtenues dans le fromage non aromatisé (Témoin).

Le pH des fromages aromatisés à base d'extrait aqueux de l'armoise blanche est augmenté avec l'ajout des différents volumes d'extrait (5,36-5,76) d'une manière proportionnelle. Contrairement à l'acidité ($31,5-34,87^{\circ}\text{D}$) des fromages frais aromatisés est diminuée avec l'ajout des différents volumes d'extrait d'armoise blanche.

Les teneurs en extrait sec total (EST) des échantillons aromatisés et non aromatisés varient entre 58,67 et 61,33 %, qui sont accordant avec la norme.

Dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant d' :

- Etudier les possibles activités biologiques de ces extraits afin de mettre en évidence d'éventuelles activités : anti-inflammatoire, antimicrobienne et cytotoxique ;
- Analyse microbiologique et l'analyse sensorielle du fromage frais aromatisé à base d'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba*.

Références

Bibliographique

Références bibliographiques

-A-

- Apfeldaum M et Roman M. (2004). Diététique et Nutrition : Bctériological quality of milk in : Revu Elsevier, Masson .63 ,148-170pp.
- Aouadhi S., 2010-Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. thèse magistère : toxicologie. TUNIS : Faculté de médecine.196p
- Akrouit A., El-Janil H., Amouri S. ET Neffati M., 2010: Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba Alba* Asso, & *thymus capitatus* Hoff. And Link growing wild in the southern of Tunisia. *Rec Res Sci Tech* 2: 29-39.

-B-

- Baba Aissa F., 2000- Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition librairie moderne. Rouiba
- Benkerroum N et Tamime AY.(2004).Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen)to small industrial scale .*Food Microbiol.*21:314-399pp
- Boudjelal A., 2013- Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajugaiiva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubiumvulgare*) de la région de M'Sila, Algérie.thèse doctorat : Biochimie Appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar, 61p.
- Bruneton J., 1999-Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales –3ème Ed Tec & Doc, Paris.494p.
- Bruneton J. 2008. Pharmacognosie : composés phénoliques, shikimates, acétates. 3ème édition. *Editions TEC et DOC* : 233-447.
- Bessaoud S (2015). Evaluation de quelques paramètres de la balance oxydants/antioxydants chez des rats diabétiques recevant de la quercétine.
- Berad M. et Marchenay N. (2004) : produits frais. In : Luquet FM. (Eds), *Laits et produits laitiers vache .Brebis. Chèvre* : Edition : Lavoisier.Paris.65p.
- Brule G et Lenoir J, (1987). La coagulation du lait in Eck A : le fromage (2eme édition).Ed TEC & DOC Lavoisier. Paris. pp.1-20.

Références bibliographiques

- Badis A Guetarni D, Kihal M et OuzroutR. (2005).Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux population locales « Arabia et kabyle ». Science & Techniques, 23 :40-37pp.
- Boyd B., Ford C., Koepke M.C., GaryK., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes bonnes santé. *Glycoscience & Nutrition*. 4 (6):7.

-C-

- Cazes D-J. 2005. Encyclopedia of Chromatography In Phenolic Acids in Naturel Plants: Analysis by HPLC .P1806.
- Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R., et Larondelle Y. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tubersum* Ruiz & Pavon) tubers. *Separation and purification technology*.55:217-225.
- Cowan M. M. 1999.Plant products as antimicrobial agents. *ClinicalMicrobiologyReviews*: 564-582.
- Chang H.Y., Ho Y.L., Sheu M.J., Lin Y.H., Tseng M.C., Wu S.H., Huang G.J, et Chang Y.S., 2007: Antioxidant and free radical scavenging activities of *Phellinus*.
- Charles M. Benbrook. (2005). « Accroître la teneur des antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire et biologiques », The Organique Center.

-D-

- Dahmoune F., Boulekbache L., Moussi K., Aoun O., Signo G et Madani K. (2013). Valorization of Citrus Limon residues for the recovery of antioxidants: Evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction. *Industrial Crops and Products* 50, 77– 87.
- De Roissard H et Luquet FM. (1994). Les bactéries lactique Uriage, Lorica, France, 1 :1-286pp.
- David V et Forte R. (1998). Guide national des bonnes pratiques en production fromagère fermière. 2éme ed, institut de l'élevage, paris, tome2, 21-26pp.

-E-

- El marrakchi et Hammama. (1996). Aspects hygiéniques du fromage frais de chèvre : Perspectives.

Références bibliographiques

-F-

- Fredot E. (2009). Base alimentaires et nutritionnelle de la diététique 2^{ème} Edition, Economica. 292.

-G-

- George S, Brat P, Alte P ET Amiot M. J. (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *J Agric Food Chem.*, 53, 1370, 1373.
- Goli A H., Berzege M and Sahari M A. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*. 92:521-525.
- GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., ORECCHIONI A M., (2001)-Le préparateur en Pharmacie dossier 2^{ème} Ed TEC&DOC. Paris. pp275
- Gem RCN. (2009). Spécification technique de l'achat public laits et produits laitiers: Groupe d'étude des Marchés de Restauration Collective et de nutrition (GEM RCN) 8p.
- Guiraud JP. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition. Dunod. Paris.
- Gharabi Z. Sand RL., 2008-Artemisia herba Alba asso. A guide to Medicinal Plants in North Africa: 49-49.

-H-

- Hermier L et Jet Weber F. (1992). Quelque base sur la microbiologie de lait et du fromage. Edition : CEPIL. Paris. 85-91pp
- Harborne J B., Williams C A., 2000- Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. vol(55): 481-504.

-J-

- Jeantet R, Crgeunec PS et Brulé G.(2007) .Science des aliment biochimie ,microbiologie-procédés – produits , Technologie des Produit alimentaire. Edition Tec et Doc Lavoisier .2.456p.
- Jacques B, et André R. (2004). Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. pp: 217-219-220-223-225.

Références bibliographiques

-K-

- Kundan S., et Anupam S. (2010). The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. *J. Pharm. Biol.* pp:1-9.
- Khennouf S, Iratni N, Baghiani A et and Arrar L. (2010). Antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso. Leaves and some phenolic compounds. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(13), pp. 1273-280.

-L-

- Lapornik B., Prosek M. et Wondra A.G. 2005. Comparaison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*. 71:214-222.

-M-

- Mahaut M, Jeantet R, et Brule G. (2000). Initiation à la recherche fromagère. Edition : Tee et Doc. Lavoisier. Paris.
- Maiza K., Brac de la perriere R.A., Hammiche V. 2011. pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. Médicaments et aliments : l'approche ethnopharmacologie. P : 169-171.
- Martinez-Cayuela M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.* 77: 147-161.
- Matoub L. (2000). Essai de purification e caractérisation d'une coagulas produite par la souche locale de *Bacillus subtilis* Lc33 sélectionnée in thèse magister science alimentaire .Institut national agronomique El-Harrach .Alger.91p
- Miller N. J., Rince-Evans C., Davies M. J., Gopinathan V., Milner A . 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*. 84: 407-412.
- Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E., and Sonboli. A. (2007). Phenological variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *Essent. oil Res.* 19 : 326–329
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *The Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2):211-219.
- Messai L., 2011- Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'Est algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse de Doctorat. Université de Constantine

Références bibliographiques

- Mompon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbled M. 1996. Extraction des polyphénols du laboratoire à la production industrielle. *Ed . INRA (Bordeaux, France)*. 267 p.
- Mucciarelli M et MaffeiM. (2002). *Artemisia: Introduction to the Genus* Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.

-N-

- Naczk M. et Shahidi F. 2006. Phenolic incereals, fruits and vegetables : Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 41:1523-1542.
- Nabli M. A., 1989. Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis) ; 186-188 p.
- NF V04-206 Janvier 1969 Lait - Détermination de l'acidité Titrable.

-O-

- Ozenda P. (1983). Flore du Sahara Ed : éditions du centre nationale de la recherche Scientifique -Paris- 441p.

-P-

- Priyanka Set Pakash A. (2009).Screening of Lactic Acid Bacteria for Antimicrobial properties against *Listeria monocytogenes* Isolated from Milk products at Agra Region. *Internet journal of Food Safety*, 11:81-87pp.
- Pointurier H. (1985).Les fromages in : Les fromages à partir de laitde vache in lait et produits laitiers, vache. berbis. chevres 2 volume. Luquet F.M. TEC et DOC .lavoisierapria- paris.pp 103-104.
- Péroumal A. (2014). Caractérisation des fruits et de la pulpe de six accessions de *Mammeaamericana*: Aptitude à la transformation des fruits et caractérisation des composés phénoliques de la pulpe, Université des Antilles-et de la Guyane, 83 p.
- Pottier G *Artemisia herba-alba*. (1981) Flore de la Tunisie: angiospermes–dicotylédones–gamopétales, p 1012.

-R-

- Re R., pellegrini N., Proteggebnte A., Pannala A., Yang M. & Rince-Evans C. 1999. Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Science Inc*. 26:1231-1237.

Références bibliographiques

- Ribéreau-Gayon P. 1968. Notions générales sur les composés phénoliques. In : les composés phénoliques des végétaux. *Edition dunod*. PP : 1-27.
- Roberta R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Catherine R E. (1998). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26, PII S0891-5849, 00315-3.
- Ramet JP (2006). L'égouttage du coagulum in fromage (3^e édition). Eck et Gilis. Lavoisier TEC et DOC. Paris. pp, 42-61.
- Ramet JP et Scher J. (1997). Propriétés physiques du coagulum .In : Eck A et Gilis JC. 3^e édition .Tec et doc, Lavoisier .Paris 334-364pp
- Rhiat M, Labioui H, Driouich A, Aouane M, Chabab Y, Mennane Z, Ouhsine M .(2011). Etude Bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire. *Afrique Science* 07(3)(2011) 108-112. 109-112pp.

-S-

- Seyoum A., Asres K., El-fiky F K., 2006- Structure-radical scavenging activity Relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. 67: 2058-2070.
- Saint-Gelais D et Tirard-Collet P. (2002). Fromage. In : Lapoint-Vignola C. 2^e édition, Science et technologies du lait : Transformation du lait Presses Internationales, polytechniques, Québec. 349-412pp.
- Senapati et al., 2013 *Am. J. Pharm Tech Res*; 3(4) ISSN: 2249-3387.

-T-

- Tasao R. and Deng Z. 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B*. 812:85-9
- Twaij HA, Al-badr A., 1988- Hypoglycaemic activity of Artemisia herba-alba. *J Ethnopharmacol*. Vol. 24 (2-3):123-126.
- Tang S. Y. et Halliwell B. 2010. Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394:1-5.

Références bibliographiques

-V-

- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M. et Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1-40.

-Y-

- Yizhong Caia., Qiong Luob., Mei Sunc. Et Harold Corkea. 2003. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*. 74:2160-2161.

-Z-

- Zainoldin, K.H., Baba, A.S., 2009- World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering Vol:3, No:12.

Annexe I : Courbes d'étalonnage

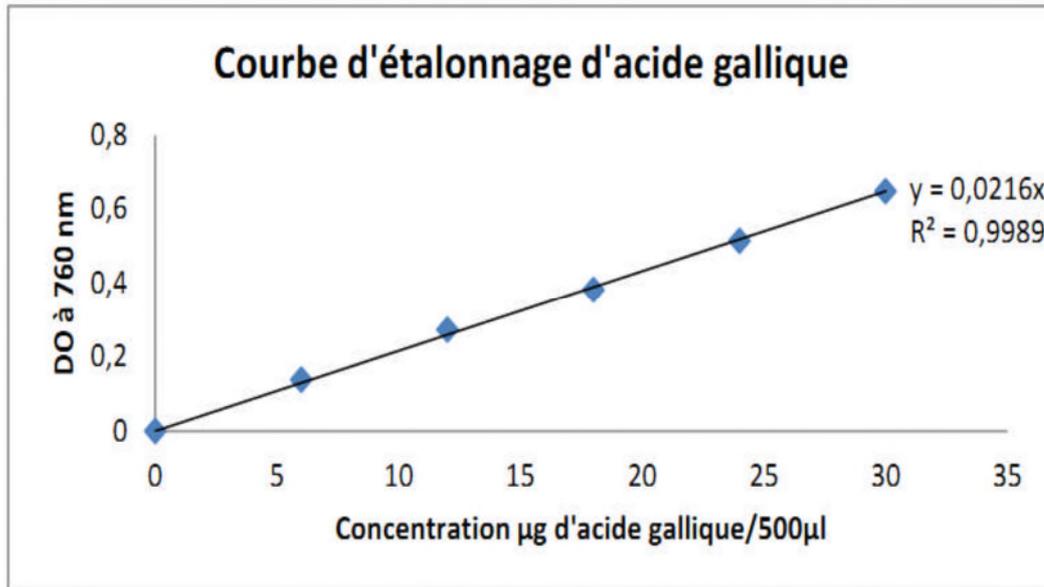


Figure 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

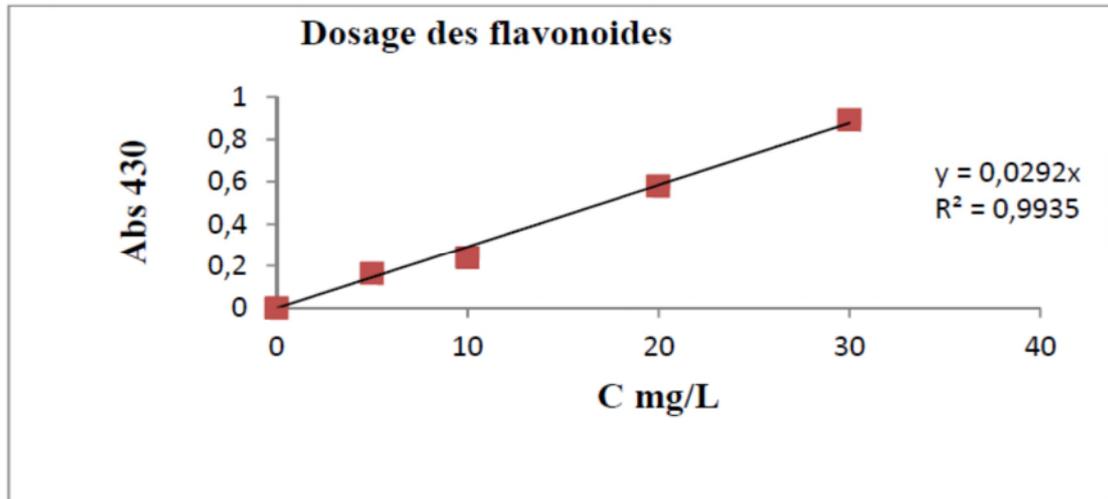


Figure 2. Courbe d'étalonnage de la rutine

Annexe II: Préparation de l'ABTS

Une solution d'ATBS à 7 mM et 2,45 mM persulfate du potassium est préparée dans 25 ml d'eau distillée, cette solution est incubée à l'obscurité pendant 12-16 heures à température de 4°C avant d'être utilisée. Cet intervalle de temps permet la formation du radical ABTS⁺.

La solution ainsi obtenue est bleu verte et stable. La solution concentrée d'ABTS a été diluée avec de l'éthanol à 95% pour avoir une solution d'absorbance finale de $0,70 \pm 0,002$ à 734 nm.

Annexe III: Préparation de DPPH

Une solution de DPPH est préparée par dissolution 19,71 mg DPPH ($M = 394,32$ g / mol) dans 100 cm³ d'éthanol.

La solution concentrée été diluée avec de l'éthanol pour avoir une solution d'absorbance finale de 0,90 à 517 nm stockés dans l'obscurité (**Williams et al., 1995**).

Annexe VI : Matériels utilisées

- **Appareillage**

- Balance de précision RADWAG WAS 600/C/2
- Broyeur électrique (ENIEM Tip GBA, Alger, Algérie)
- Etuve ventilée
- Micro-onde SAMSUNG model ME 8123ST
- Tamiseur automatique RETSH AS 200 central
- Spectrophotomètre UV-Vis SRECTROSCAN50
- Vortex classicadvenced
- pH mètre EXTECH instruments (EC 500)
- La plaque magnétique model (VELP SCIENTIFICA)

➤ Thermomètre

➤ centrifugeuse

• **Produits chimiques**

➤ Acétone

➤ Carbonate de sodium (Na_2CO_3) (SIGMA-ALDRICH)

➤ Folin-ciocalteu (PROLABO)

➤ Chlorure d'aluminium (AlCl_3)

➤ Méthanol

➤ Ethanol

➤ ABTS (SIGMA-ALDRICH)

➤ DPPH (SIGMA-ALDRICH)

➤ Phénolphtaléine

➤ HCL

➤ Soude Dornic

Résumé

Le but de ce travail est l'optimisation de l'extraction des polyphénols d'*Artemisia herba alba* en utilisant cinq solvants de différentes polarités (Eau distillée, Méthanol 80%, Ethanol 80%, Acétone 80% et le mélange (Met/Et/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10)), et l'évaluation de leurs activités antioxydantes Et l'utilisation du l'extrait aqueux d'armoise blanche obtenu à partir d'un micro-onde comme solvant d'incorporation dans le fromage frais après sa fabrication, ainsi qu'à la détermination de l'activité antioxydant des extraits du fromage frais aromatisé et l'analyse physico-chimique du ce dernier. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait acétonique présente la plus grande teneur en composés phénoliques pour l'extraction par macération ($91.42 \pm 0,14$ mgEq AG/g de MS) et ($33.52 \pm 0,05$ mg Eq AG/g MS) pour l'extraction par micro-onde. Le méthanol 80% est le solvant le plus efficace pour l'extraction des flavonoïdes ($12.69 \pm 0,014$ mg Eq R/g de MS) pour l'extraction par micro-onde, concernant l'extraction par macération le mélange (Met/Et/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10) est le meilleure solvant($11.36 \pm 0,09$ mg Eq R/g de MS). L'extrait méthanolique 80%, l'extrait acétonique 80% et éthanologique 80% ont donnés la meilleure capacité anti-DPPH pour l'extraction par micro-onde, et l'extrait acétonique 80%, l'extrait éthanologique 80% et méthanolique 80% pour l'extraction par macération. Le mélange (Met/Et/Ac/Eau) à différents volumes (30/30/30/10) est le meilleur solvant qui possed une activité antiradicalaire (ABTS) ($74.43 \pm 0,45$ %) pour l'extraction par micro-onde, et l'acétone 80% ($56.15 \pm 0,45$ %) pour macération. Concernant les fromages frais, l'étude statistique montre que la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et le pourcentage d'inhibition du radical DPPH et ABTS la plus importante a été trouvée dans le fromage aromatisé avec 3ml d'extrait aqueux de l'armoise blanche. Le pH des fromages frais aromatisés varie entre (5,36 - 5,76). Tandis que l'acidité Dornic varie entre (31,5-34,87°D). Concernant l'extrait sec total (EST) des fromages aromatisés et non aromatisés (58,67 et 61,33 %) sont accordant avec la norme.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, Polyphénols, Flavonoïdes, Activité antioxydante, Fromage frais aromatisé, Analyse physico-chimique, pH, acidité Dornic, Extrait sec total.

Abstract

The aim of this work is to optimize the extraction of polyphenols from *Artemisia herba alba* using five solvents of different polarities (Distilled water, 80% Methanol, 80% Ethanol, 80% Acetone and the mixture (Met / Et / Ac / Water) at various volumes

(30/30/30/10)), and evaluation of their antioxidant activities. The use of the aqueous extract of white mugwort obtained from a microwave as a solvent Incorporation into the fresh cheese after its manufacture, as well as the determination of the antioxidant activity of the extracts of the flavored fresh cheese and the physicochemical analysis thereof. The results obtained indicate that the acetone extract has the highest phenolic content for maceration extraction (91.42 ± 0.14 mgEq AG / g DM) and (33.52 ± 0.05 mg Eq AG / g MS) for Extraction by microwave. Methanol 80% is the most efficient solvent for extracting flavonoids (12.69 ± 0.014 mg Eq R / g MS) for microwave extraction, with respect to the maceration extraction of the mixture (Met / Et / Ac / Water) at different volumes (30/30/30/10) is the best solvent (11.36 ± 0.09 mg Eq R / g MS). The 80% methanolic extract, the 80% acetonc extract and the 80% ethanolic extract gave the best anti-DPPH capacity for microwave extraction, and the 80% acetone extract, the 80% ethanolic extract and the methanolic extract 80% for maceration extraction. The mixture (Met / Et / Ac / Water) at different volumes (30/30/30/10) is the best solvent which possesses an antiradical activity (ABTS) ($74.43 \pm 0.45\%$ Wave, and acetone 80% ($56.15 \pm 0.45\%$) for maceration. In the case of fresh cheeses, the statistical study shows that the phenolics, flavonoids and the percentage of inhibition of the DPPH and ABTS radicals were found in the cheese flavored with 3 ml of aqueous extract of the white wormwood . The pH of fresh flavored cheeses varies between (5.36 -5.76). While Dornic acidity varies between (31.5-34.87 ° D). Concerning total dry extract (TSE) of flavored and non-aromatised cheeses (58.67 and 61.33%) are consistent with the standard.

Key words: *Artemisia herba alba*, Polyphenols, Flavonoids, Antioxidant activity, Fresh flavored cheese, Physico-chemical analysis, pH, Dornic acidity, Total dry extract.