

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT des science de la Nature

Et de la vie

N°:.....



DEPARTEMENT : SCIENCES

DE LANATURE ET DE LA

VIE

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIODIVERSITE ET

PHYSIOLOGIE VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Intitulé

**Incorporation de bioconservateur
d'origine végétale dans la fabrication du
beurre**

Soutenu devant le jury composé de:

SMAILI Tahar	PR	Université M'sila	Président
BELKASSAM Abdelouahab	MCA	Université de M'sila	Rapporteur
ARAB Radhia	MCB	Université M'sila	Examineur

PAR :

- **Attoui Asma**
- **Laouidji Marwa**
- **Torki Lamis**

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

Avant tout chose, on tient à remercier Dieu le tout puissant, de nous avoir donnée la force, la patience et le courage pour réaliser ce travail.

*On exprime d'abord nos profonds remerciements à notre encadreur **Dr. Belkessam Abdelouahab** pour l'honneur qu'il nous a fait de nous encadrer, pour son soutien, son attention, ses bon conseils, Pour tout cela on tient à lui exprimer tout notre gratitude.*

*Nous tenons à remercier **Dr. Smaili Tahar** nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.*

*Nos remerciement s'adressent aussi à **Dr. Arab** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous exprime également nos profondes reconnaissances et nos respects à Monsieur **Dr. Mire Ahmed** le directeur de l'incubateur de l'université de M'sila.*

*Nous adressons nos remerciements aux personnes qui nous ont aidés dans la réalisation de ce mémoire et spécialement **L'ingénieure sij Eddine Attoui** et tout l'équipe de l'usine **Hodna lait** que me nous donne l'aide.*

Nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance vont à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Nous remerciement tout personne de prés et de loin.

DEDICACE

A mon Père Attoui Saad

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation.

A ma très chère mère Attoui Halima

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études..

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes chers frères et mes jolies sœurs

Yaaqoub, Abd Errahmane, Seyf Eddine ,Hour Elaine, Maria

Pour leur grand amour et leur soutien moral qu'ils trouvent ici l'expression de ma haute gratitude.

A mes mon fiancé

Abd elhalim

A mes chères ami(e)s

Rawnak ,sedjoud,imane,nedjate,hasina,joury

Attoui Asma

Dédicace

*Je dédie ce travail A mon chère Père **Laouidji Miloud** pur son soutien son affection
et la confiance qu'il m'accordé*

*A ma chère mère **Kahoul Messouda** Ma source de force et de soutien, Grace à vous
prières et à vous sacrifies et grâce à votre gentillesse et votre patience j'ai réussi
grâce a toi*

*Mes frères : **Alaa et Taha***

*Mes sœurs : **Kawther et Soundous***

*A mon fils : **Wassim** que j'ai laissé un nouveau née*

Pour terminer cette étude

*A mon mari **Sofian** qui m'a toujours soutenu et encouragé*

A ma grand-mère et mes tantes pou leur soutien et leur encouragement r

A ma belle-mère et A toute ma famille a tout qui me connait

*A Mes amies **Asma et Lamis , Hadjer chayma Sabrina fatima et amel***

A tous ceux que nous connaissons sur les études

LAOUIDJI Marwa



Dédicace

A la prune de mes yeux et à mon père **TORKI Rabeh**

À celui qui a été la raison de mon succès et de mon excellence, au pont qui m'a lié à ce succès et à cette distinction. Aucune mot ne peut exprimer cet amour, cette appréciation et ce respect envers vous.

Au puissant et constructif, à la mère tendre et au lien de soutien

Au bien –aimé de mon cœur, à **LAOUIDJI Feraiha**

pour moi, vous êtes un symbole d'espoir et d'optimisme et une source de tendresse. Merci pour toutes vos prières, et votre soutien pour moi. Je vous dédie ce travail et ce succès comme un simple certificat d'appréciation en retour de votre générosité et de vos efforts et comme une expression de mon profond amour envers vous, que dieu vous protège et prenne soin de vous.

Aux miroirs de mon cœur :Amel et Ahleme

Aux mari de mes yeux : la joie mon cœur **Amdjed** et mon petit **Anas**

A mon oncle **Torki Samir**, et toutes la familles **TORKI** et **LAOUIDJI** et **BELAGOUNE**

A ma seconde moitié, mon fiancé **Abd el Nour**, pour son soutien, son don et sa motivation, tu m'as donné un lieu qui ne tend pas.

A mes chères amies :Asma, Marwa, Kholoud, Wissem, Sara, Imane, Wissem, Sara ,Lamia, Hadda, Bouchra, Amina, Aya.

TORKI Lamis

Liste des Tableaux

tableau 1: Les différentes classes des flavonoïdes.....	16
tableau 2: types des souches bactériennes.....	41
tableau 3: La composition des mélanges sont mentionne au tableau suivant.....	50
tableau 4: Les RFS et les couleurs des spots obtenus dans les deux systèmes par CCM dans l'extraits d'acétate d'éthyle de plante <i>Thymus ciliatus</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> L	60
tableau 5: valeurs de diamètre des zones d'inhibitions en (mm) de l'extrait méthanoïque de plante <i>Rosmarinus officinalis</i> relatives aux souches bactériennes testées.....	63
tableau 6: valeurs de diamètre des zones d'inhibitions en (mm) de l'extrait méthanoïque de plante <i>Thymus ciliatus</i> relatives aux souches bactériennes.....	64
tableau 7: des valeurs de diamètre des zones d'inhibition en (mm) des huiles essentiels de <i>Thymus ciliatus</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> relatives a la souche bactérienne testée (<i>E. coli</i>)...	66
tableau 8 : résultats des analyses physicochimiques du beurre témoin et beurre incorpore...	67
tableau 9: résultats de dénombrement et de recherches microbiologiques.....	67

Liste des Figures

figure 1: les caractéristiques morphologiques d'une lamiaceae.....	6
figure 2: carte de répartition géographique de la famille des lamiaceae dans le monde entier.....	7
figure 3: <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	9
figure 4: aspects morphologiques du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	10
figure 5: distribution géographiques de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	11
figure 6: <i>Thymus ciliatus</i>	13
figure 7: structure du noyau phénol.....	15
figure 8: structure de base des flavonoïdes.....	16
figure 9: structure de coumarine.....	17
figure 10: l'espèce bactérienne <i>Escherichia coli</i>	25
figure 11: l'espèce bactérienne <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
figure 12: l'espèce bactérienne <i>Staphylococcus aureus</i>	27
figure 13: microstructure du beurre.....	32
figure 14: beurre et babeurre.....	33
figure 15: étapes de fabrication industrielle du beurre a 80% en masse de matière grasse par agglomération.....	34
figure 16: mécanisme biochimique de la formation de l'arome du beurre a partir du lactose et de l'acide citrique.....	37
figure 18: 50 g matière végétale sèche.....	42
figure 17: photo original de l'appareil de clavier d'extraction l'huile.....	42
figure 19: l'extrait méthanoïque de deux plantes étudiée.....	44
figure 20: appareil du rota vapeur rotatif.....	44
figure 21: l'extrait n-butanol.....	45
figure 22: préparation de beurre incorpore.....	49
figure 23: détermination matière grasse du beurre.....	51
figure 24: mesure de ph a laide de pH-mètre	52

figure 25: mesure de l'humidité	52
figure 26: préparation des échantillons pour les analyses microbiologiques du beurre.....	53
figure 27: méthode de recherche entérobactéries	53
figure 28: recherche des staphylococcus aureus.....	54
figure 29: dénombrement de la levures et les moisissures	54
figure 30: recherche des germe aérobie.	55
figure 31: rendement en huiles essentielles de <i>Thymus ciliatus</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> L...	57
figure 32: rendement des différents extraits de l'espèce <i>Thymus ciliatus</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	59
figure 33: Représentation de l'inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d' ic...50 des différents extraits de <i>Thymus ciliatus</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	61
figure 34: effet de l'extrait méthanoïque de la plante <i>Rosmarinus officinalis</i> L. sur la souche bactérienne <i>staphylococcus aureus</i> en présence de différentes concentrations d'extrait.....	63
figure 35: effet de l'extrait méthanoïque de la plante <i>Thymus ciliatus</i> sur la souche bactérienne <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de différentes concentrations d'extrait.....	64
figure 36: effet de les huiles essentielles de <i>Thymus ciliatus</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> L. sur la souche <i>E. coli</i> en présence de différentes concentration.....	65

Liste des abréviations

R.officinalis : *Rosmarinus officinalis*.

T.ciliatus : *Thymus ciliatus*.

HE: Huile essentiel.

EAcOEt :L'extrait d'acétate d'éthyle.

EBrt : L'extrait brut (hydrométhanolique).

EnBuOH : L'extrait butanolique.

Me OH : Methanol.

HCl : Acide chlorhydrique.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

Rf : Rapport frontal.

UV : Ultraviolet.

R (%) : Le rendement en %.

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

I (%) : Pourcentage d'inhibition.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

nm : Nanomètre.

µl : Microlitre.

mm : Millimètre.

HER : Huile essentiel de *Rosmarinus officinalis* L.

HET : Huile essentiel de *Thymus ciliatus*.

CHCl₃ : Chloroforme

P : Poids

P/p : Poids sur poids.

µg/ml : Microgramme sur millilitre.

C° : degré Celsius .

mg / ml : Milligramme sur Millilitre .

ATCC : American Type Collection Culture .

Table de matières :

Dédicace

Remerciements

Liste des tableaux

Listes des Figures

Listes des Abréviations

Introduction 1

Partie 01 :Etude bibliographique

Chapitre I : Présentation de la plante étudiée5

I. la famille des Lamiaceae.....6

I.1. généralité sur la famille lamiaceae 6

I.1.2. Les Genre du la famille Lamiaceae..... 7

I.1.3. Répartition géographique de la famille Lamiaceae7

I.2 . *Rosmarinus officinalis* L..... 8

I.2.1. Généralité sur la *Rosmarinus*8

I.2.2. Description botanique9

I.2.4. Nomenclature..... 11

I.2.6. Autres utilisations 11

I.3. *Thymus ciliatus* 12

Chapitre II : Métabolisme secondaire 13

II. Métabolites secondaires 14

II.1.Généralités..... 14

II.2.Importance des métabolites secondaires 14

II.3.Classification des métabolismes secondaires..... 15

a. Les composés phénoliques	15
b. Les huiles essentielles	17
Chapitre III : Activité biologique	23
III. Activités biologiques	24
III.1. Activité Antibactérienne.....	24
III.1.1. les types des bactéries	24
III.2. Activité antioxydant.....	27
II.2.1. Les antioxydants.....	27
Chapitre IV: Le Beurre	31
IV. Beurre.....	32
IV.1. Structure du beurre.....	32
IV.2. Technologie de fabrication du beurre	33
IV.2.1. Fabrication traditionnelle	33
IV.2.2. Fabrication moderne.....	33
IV.3. Préparation de la crème	34
IV.3.1. Pasteurisation	35
IV.3.2. Maturation de la crème.....	35
IV.3.3. Bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du beurre.....	36
IV.3.4. Barattage	37
IV.3.5. Lavage.....	37
IV.3.6. Malaxage	37
IV.3.7. Emballage.....	38

Partie 02 : Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthodes	40
--	-----------

I.1. Matériel végétale	41
I.2. Souches bactériennes	41
I. 3. Milieu de culture	41
I. 4. Méthodes	41
I.4.1. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	41
I.4.2. Conservation de l'huile essentielle obtenue	43
I.4.3. l'extraction des principes actifs	43
I.5. Caractérisation qualitatives des extraits	46
I.5.1.Chromatographique sur couche mince CCM	46
I.6. Activités biologiques	46
I. 6.1. Evaluation de l'activité antioxydants.....	46
I. 6.2. Calcul des concentrations inhibitrices à 50 % Ic 50	47
I. 7. Evaluation de l'activité antibactérienne	48
I. 7.1. Méthodes de l'aromatogramme	48
I. 7.2. Méthodes de diffusion sur milieu gélosé	48
I. 8. Préparation du beurre incorporé.....	49
I. 8.1. Analyse chimique.....	50
I. 8.2. microbiologiques.....	53
Chapitre II : Résultats et discussions.....	56
II. Evaluation des techniques d'extraction	57
II.1. rendement des huiles essentielles des plantes <i>Rosmarinus officinalis</i> L. et <i>Thymus ciliatus</i>	57
II.2. Rendement des extraits.....	58
II.2.1. Evaluation des extraits.....	58
II.3. Caractérisation qualitatives des extraits.....	60
II.3.1. Chromatographique sur couche mince CCM.....	60
II.4. Résultats d'activité biologiques des plantes <i>Rosmarinus officinalis</i> L. et <i>Thymus</i>	61

II.4.1. Détermination de l'extrait anti-radicalaire (antioxydants) des différents d'extrait de R. officinalis et Thymus ciliatus par le méthode DPPH.....	61
II.4.2. Résultats de R. officinalis et Thymus ciliatus.....	61
II.5. L'activité antibactérienne.....	63
II.6. Les analyse physicochimique.....	66
II.6.1. Les analyse microbiologiques.....	67
Conclusion	69
Annexes.....	72
Références Bibliographiques	82
Résumé.....	94

Introduction générale

Introduction

Ces dernières années, les consommateurs se réfèrent à des aliments naturels, ils préfèrent une substitution partielle ou complète des conservateurs synthétiques en raison de leurs effets néfastes sur la santé. Ce fait a suscité un intérêt croissant pour le développement d'alternatives naturelles afin d'améliorer la durée de conservation et la sécurité des aliments (**Bukar et al., 2010**).

Les méthodes de protection naturelle ont commencé à être populaires dans l'attribution des aliments et de nouvelles méthodes de conservation axées sur l'utilisation de plantes respectueuses de l'environnement qui ont des effets antioxydants et antimicrobiens. Les plantes aromatiques et médicinales constituent une grande source d'antioxydants naturels pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

L'oxydation des lipides dans les produits alimentaires est l'un des problèmes majeurs en industrie agroalimentaire, à cause de la formation des produits d'oxydation, qui sont responsables des odeurs indésirables et de la diminution des qualités organoleptique, nutritionnelle, et microbiologique des aliments (**Paradiso et al., 2006**).

L'utilisation des huiles essentielles dans ce sens a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche qui démontre leur efficacité au niveau des aliments aussi bien pour la prolongation de leur durée de vie que pour l'aromatisation, ainsi leur activité antimicrobienne a été largement démontré. Dans ce fait, l'objectif étant de mettre sur le marché de nouveaux produits tout en diversifiant l'offre déjà existante (**Lahlou, 2004**).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est l'extraction des huiles essentielle des parties aérienne de *Rosmarinus officinalis* et de *Thymus ciliatus*, étudie leur activité biologique, Que l'activité antioxydant et l'activité antimicrobienne, ces huiles essentielles possèdent un moyen très prometteur pour pallier les risques d'altérations causés par l'oxydation des lipides et par les microorganismes. Ainsi que l'amélioration de la qualité et la diversification du beurre raffiné fabriqué à base de lait de vache. Afin de mettre en évidence le rôle conservateur et aromatisant de ces deux huiles essentielles sur le beurre raffiné.

Nous avons structuré notre démarche en 2 partie et 5 chapitres interdépendants :

- ✓ Les 4 premiers strictement théoriques rassemblent d'une part des présentations de la plante étudiée, les métabolismes secondaires et les activités biologiques généralités sur le beurre
- ✓ Le quatrième chapitre est consacré aux méthodes et aux techniques employées pour la réalisation de ce travail : extraction des huiles essentielles, analyses physico-chimiques et microbiologiques de beurre incorporé.
- ✓ Enfin une conclusion achève notre étude..

Partie 01 :

Etude bibliographique

Chapitre I :
Présentation
de la plante étudiée



I. la famille des Lamiaceae
généralité sur la famille Lamiaceae

lamiacées constituent une importante famille d'angiospermes dicotylédones qui comprenant 233 à 263 genres (Heywood et al., 2007) et de 6900 à 7200 espèces (Heywood et al., 2007; Grayer et al., 2003) qui se répartissent sur tout le globe.

La distribution de cette famille est presque mondiale (Jamzad Z, Ingrouille and Simmonds MSJ., 2003). C'est une famille très importante en Algérie, Représentée par 28 genres et 146 espèces (Guignard et al., 2001) , c'est une famille très homogène et Lamiaceae sont facilement identifiables.

Dans cette famille, ils appartiennent à la même espèce vernaculaire du même genre. Par exemple la menthe, la lavande, le romarin. Beaucoup de ces espèces sont des plantes médicinales. D'un point de vue chimique, cette famille a fait l'objet d'études intensives, notamment *Ocimum* (Fernandez et al., 2012).

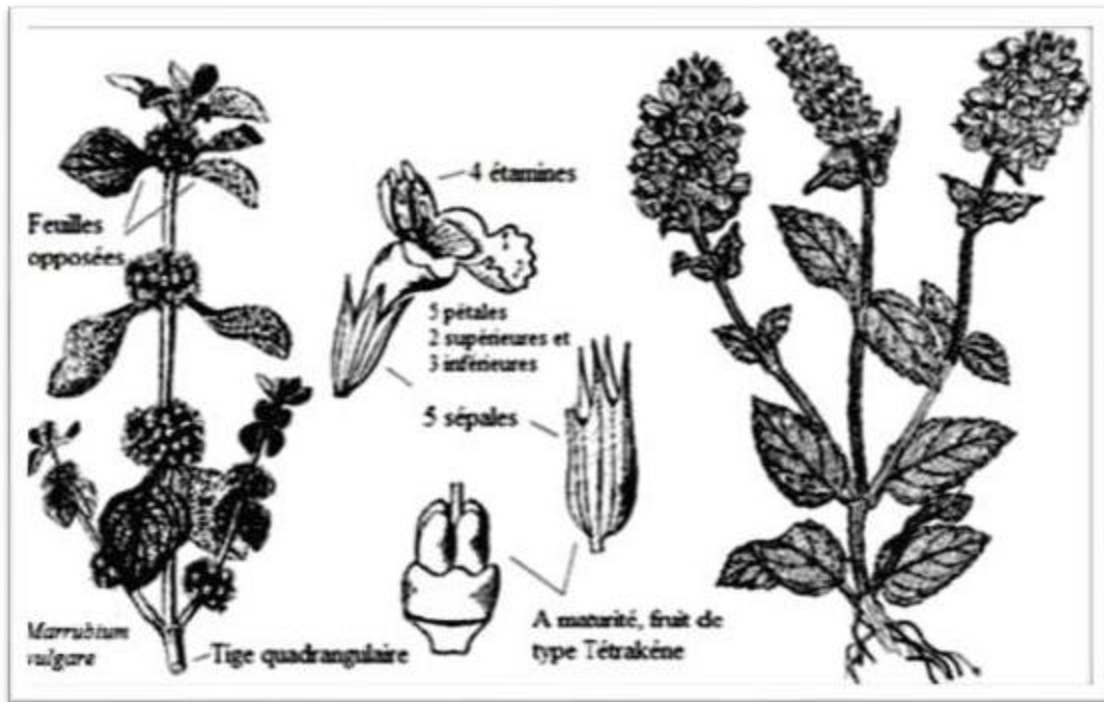


Figure 1: Les caractéristiques morphologiques d'une Lamiaceae (Skafia-Crete., 2018)

Les Genre du la famille Lamiaceae

Cette famille très homogène comprend environ 7000 espèces (**Leplat. M., 2017**) elle très diversité avec 224 genres (**Kabouche, A., 2005**).

Les Lamiacées sont divisées en deux sous-familles principales : *les Stachyoideae* et les *Ocimoideae* , et de nombreux genres de cette famille sont riches en trapénoïdes, flavonoïdes et iridiodes , glycolyses , ainsi qu'en composés phénoliques (**Lee, A., 2005**). Les Lamiacées se divisent en plusieurs genres dont les plus cités dans la littérature sont:

Le genre *Lavandula* avec les lavandes , le genre *Mentha* avec les menthes , le genre *Rosmarinus* avec le romarin , le genre *Salvia* avec la sauge et le genre *Thymus* avec le thym (**Chu C., 2001**).

Au cours de notre étude, nous sommes intéressés par les deux genres *Thymus & Rosmarinus*.

Répartition géographique de la famille Lamiaceae

La famille de Lamiaceae se trouve dans les régions tropicales et tempérées du monde. La plus grande variété se trouve dans cet arrangement : Bassin méditerranéen, Asie centrale, contient américain, iles du pacifique, Afrique équatorial et chine (**Kabouche., 2005**).

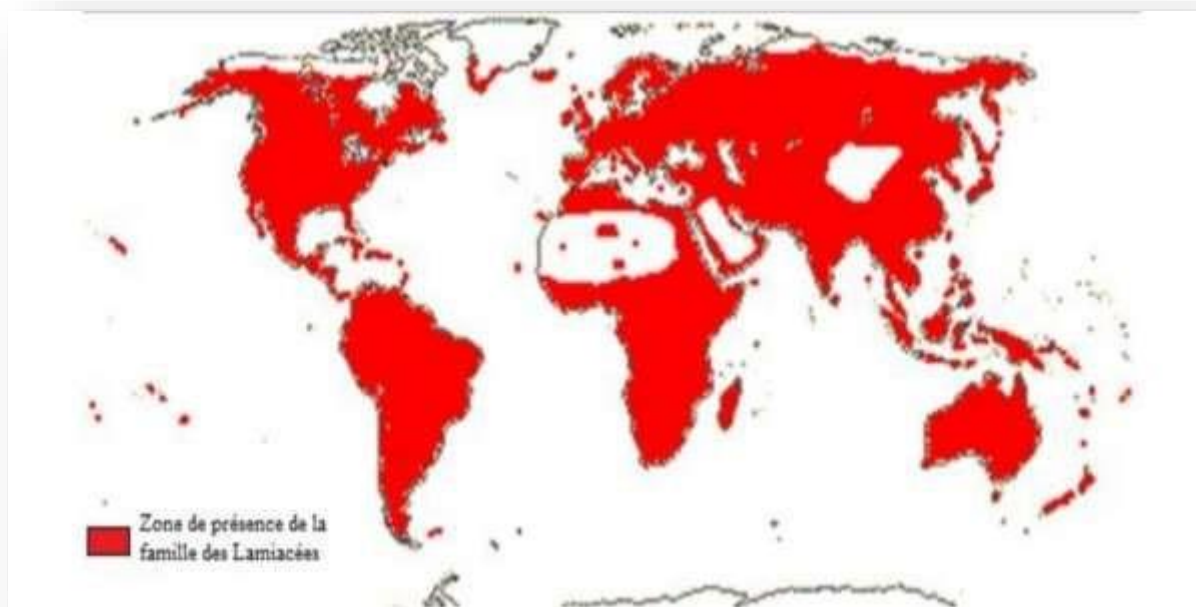


Figure 2: Carte de répartition géographique de la famille des Lamiaceae dans le monde entier (**Ajoudj, 2018**).

. *Rosmarinus officinalis* L.**Généralité sur la *Rosmarinus***

Le nom latin de Romarin est *Rosmarinus officinalis* L. (Leplat., 2017) Du latin rose = apparenté à rhus et signifiant arbrisseau ou buisson (Beloued., 2009). Le romain *Rosmarinus officinalis* L. est un arbrisseau de la famille des lamiacée, répons sur toutes les rives de la méditerranée (Gildemeister et Hoffmann., 1912), elle est sans doute, et se présente en une seule espèce avec de très nombreux chémotypes (Fadil et al., 2015). C'est l'espèce la plus utilisée dans le méditerrané surtout en Algérie. Elle possède plus de 3300 espèce et environ 200 genres (Alma-Ata., 1978).

Le romarin aime les terrains calcaires et s'accommode très bien des cintrées arides et rocailleuses. On le reconnaît aisément, toute l'année. Ce sont les feuilles, les sommités fleuries, qu'un aura pris le soin de sécher, ou l'huile essentielle qui sont utilisées en phytothérapie (Mouas et al., 2017). Il est considéré comme une herbe sacré depuis des millénaires et il était associé aux rituels funéraires par les embaumeurs dans l'ancienne Egypte puis par les Athéniens et les Romains pour les funérailles et autres rites religieux (Aggarwal bet al., 2009).

Le romarin aime les terrains calcaires et s'accommode très bien des cintrées arides et rocailleuses. On le reconnaît aisément, toute l'année. Ce sont les feuilles, les sommités fleuries, qu'un aura pris le soin de sécher, ou l'huile essentielle qui sont utilisées en phytothérapie (Mouas et al., 2017). Il est considéré comme une herbe sacré depuis des millénaires et il était associé aux rituels funéraires par les embaumeurs dans l'ancienne Egypte puis par les Athéniens et les Romains pour les funérailles et autres rites religieux (Aggarwal bet al., 2009).



Figure 3: *Rosmarinus officinalis* L. (variété cultivée)

Description botanique

En raison de l'extrême variabilité de l'espèce, une taxonomie complétée des plantes du genre romarin n'a été achevée qu'au début du XXe siècle. Le romarin appartient à la deuxième famille de la des six Lamiacées ou labiées. Cette famille est l'un des plus importantes de la flore Algérienne, avec plus de 200 genres et 3500 espèces (**Boelens., 1985**).

Arbuste ou sous-arbrisseau très odorant. Feuilles linéaires à marges révolutes, sessiles, mesurant 2mm de largeur, verdâtres en dessus et tomenteuses en dessous. Fleurs bleuâtres, disposées en grappes courtes, axillaires, brièvement pédicellées. Bractées petites, caduques, calice à lèvre supérieure ovale et dont les lobes de la lèvre inférieure sont lancéolées. Corolle bleu rarement blanche avec lèvre supérieure divisée en 2 segments et à lèvre inférieure à 3 lobes dont un médian plus large (**Beloued., 2009**)



Figure 4: Aspects morphologiques du *Rosmarinus officinalis* L. (Sanon., 1992)

Position systématique des plantes *R. officinalis* (Quézel et Santa., 1963)

- | | |
|----------------------|----------------------------------|
| • Règne | Plantae |
| • Embranchement | Spermaphyte |
| • Sous-embranchement | Angiospermes |
| • Classe | Dicotylédone |
| • Sous-classe | Asteridae |
| • Ordre | lamiales |
| • Famille | Lamiaceae |
| • Genre | <i>Rosmarinus</i> |
| • Espèce | <i>Rosmarinus officinalis</i> L. |

Nomenclatureur**Nom vernaculaire arabe (Beloued., 2009)**

- Klil
- Hatssa louban
- Hassalban

Répartition géographique de la *Rosmarinus officinalis* L .**❖ Dans l'Algérie**

En Algérie, cette plante est bien apparente région. On Oriane elle est souvent cultivée comme plante ornementale, qui pousse dans la steppe de Sidi Djilali dans la région de Sidi Makhfi, ainsi on peut donc la voir sur la cote de Béni saf dans la région de Sidi Safi. On trouve à Tlemcen: Lala Seti 1025 mètre, le grand bassin 750 mères, et chetouan (**Mostefai A., 2012**).



Figure 5:Distribution géographiques de *Rosmarinus officinalis* L. (**Mostafai, 2015**)

Autres utilisations

- 1. En alimentaires:** en cuisine dans toute la région méditerranéenne et même plus au nord. Les feuilles et les sommités fleuries servent à révéler de nombreux plats, des salades, desserts (**Couplan, 2009**).

2. Comme antioxydants: Grâce à ses propriétés antioxydants, le romarin est utilisé dans l'industrie de fabrication des produits à base de viande (**Lt-Colonel et al., 2011**).

Thymus ciliatus **Généralité sur le Thym**

Le *Thymus* est un genre de plantes (couramment appelées thym) de la famille **des Lamiaceae**, ce genre comporte plus de 300 espèces, ce sont des plantes rampantes ou coussinet portant de petites fleurs rose pâle ou blanches. Ces plantes sont riches en huiles essentiels, le thym aime les régions sèches et ensoleillées d'Europe.

Le nom (thym) provient du mot Grec *Thymus* que veut dire odeur, et à ce titre le thym est très largement utilisée en qualité et quantité de plante aromatique, en particulier dans la cuisine méditerranéenne en tant que condiment (**Richard, 1985**).

Le thym est une des plantes aromatiques les plus employées en thérapeutique depuis les temps les plus anciens. Il a toujours accompagné la vie quotidienne des humains, tant pour ses usage médicaux et cosmétiques que caulinaires. (**Boukhatem et al., 2014**)

Les égyptiens s'en servaient pour embaumer leur mort (processus de momification), les Grecs pour parfumer les temples et l'eau, les romains pour purifier leur appartement.

❖ le thym en Algérie

L'Algérie connue par sa richesse en plante médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique, le thymus de la famille Lamiaceae ou labiées, comprend plusieurs espèces botaniques réparties surtout le littoral et même dans les régions internes jusqu'à zone arides.

Thymus ciliatus

Thymus ciliatus est une plante vivaces surprenant excellent couvre-sol persistante, ce type de thym au port rampant au feuillage, très résistant à la sécheresse et formant un alternative au gazon dans les lieux piétinement occasionnel. Cette véritable moquette végétale se couvre de fleurs d'un ballet incessant.



Figure 6: *Thymus ciliatus*

Positon systématique des plantes *T. ciliatus* (Quézel et Santa, 1963)

- Règne Plantae
- Embranchement Spermaphyte
- Sous-embranchement Angiospermes
- Classe Dicotylédone
- Sous-classe Asteridae
- Ordre lamiales
- Famille Lamiaceae
- Genre *Thymus*
- Espèce *Thymus ciliatus*

Nomenclature

1. Djertil
2. Zaitra

Description botanique

- Plantes vivaces, à limbe foliaire entier.
- Inflorescence formée, au moins dans sa partie supérieure de glomérules rapprochés en forme de capitule ou d'épi dense.
- Etamines dépassant la lèvre supérieure de la corolle (au moins 2 d'entre elles), à filets divergents

propriétés thérapeutique

Cette plante aromatique très odorante est considérée comme l'un des remèdes les plus efficaces contre le rhume, la grippe et l'angine, elle calme les toux quinteuses, et diminue les sécrétions nasales. Elle contribue aussi dans le traitement de l'hypertension et les problèmes intestinaux, en usage externe pour le nettoyage et la cicatrisation des plaie.

Chapitre II :

Métabolisme secondaire



II. Métabolites secondaires

- **Définition**

On appelle métabolites secondaires des composés synthétisés naturellement par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal. De nombreux métabolites secondaires possèdent des propriétés thérapeutiques et sont utilisés en médecine humaine (Hostettmann et Marstonn, 1995).

Généralités

La majorité des molécules synthétisées par les plantes d'intérêt pharmaceutiques sont extraites directement de la plante entière. Ces molécules, appelées métabolites secondaires, ne constituent pas des espèces chimiques impliquées dans la croissance, aucun rôle spécifique pour la plante ne leur a été assigné (**Braz-Filho., 1999 in Eloutassi., 2004**).

Le métabolisme secondaire des plantes est lié au métabolisme primaire par cinq voies métaboliques principales: la voie de l'acide shikimique, de l'acide malonique, de l'acide mevalonique, des acides aminés (**Taiz et Zeiger., 1998 in Eloutass.i, 2004**) et du glycéraldéhyde-3-phosphate (G3P) via la voie des pentoses phosphates (**Contin et al., 1998 in Eloutassi.,2004**).

Importance des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont importants pour le développement des plantes. C'est un groupe de différentes substances telles que les alcaloïdes, les huiles essentielles et les flavonoïdes. Dans la nature, ces substances chimiques paraissent jouer un rôle essentiel en réduisant l'appétibilité des plantes qui en contiennent ou en les rendant même repoussantes pour les animaux (**Hopkins., 2003**).

En raison de leur valeur au plan économique ou médical, les chercheurs en chimie organique ou ceux qui s'intéressent aux substances naturelles, ont étudié les métabolites secondaires depuis des siècles. Durant ces trois dernières décennies, il a été montré que de nombreux métabolites secondaires jouaient un rôle écologique important (**Harborne., 1988; Rosenthal et Berenbaum., 1991; Paré et Tumlinson., 1997**).

Classification des métabolismes secondaires

Il y a trois classes principales de métabolites secondaires chez les plantes: les substances phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (Raven et al., 2003).

a. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Mompon et al., 1996 ; He et al., 2008). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits.

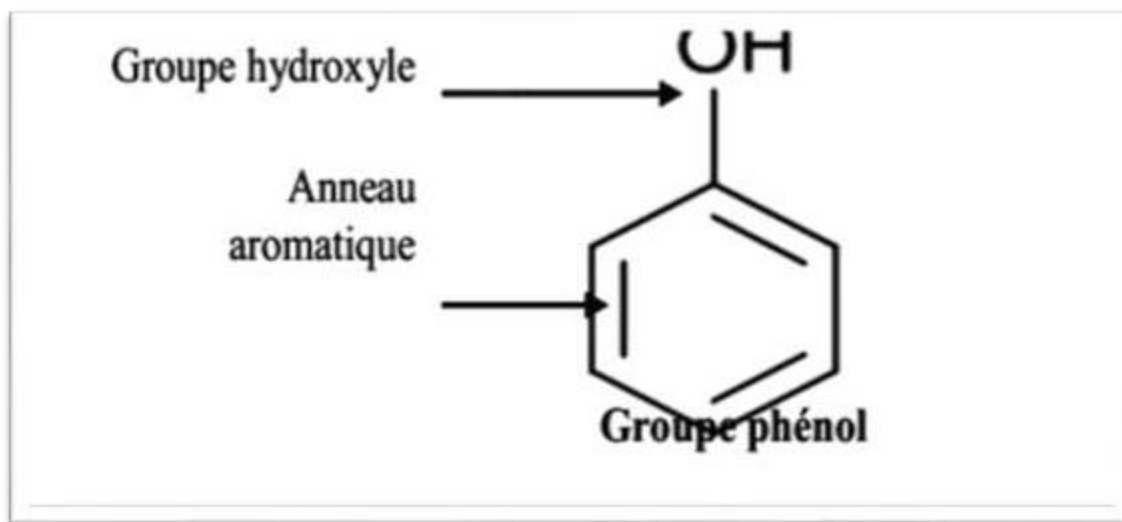


Figure 7: Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier., 2006)

Classification des composés phénoliques

Les flavonoïdes

Les flavonoïdes rassemblent une très large gamme de composés polyphénoliques constitué de base à 15 atomes de carbones ayant une structure commune en C₆-C₃-C₆ (Derbel et Ghedira., 2005). Constituent des pigments, leur fonction principale chez les plantes est des colorations jaunes, oranges et rouges de différents organes végétaux (Derbel et Ghedire., 2005). Et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (Crozier., 2003). Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits.(notamment du genre Citrus où ils représentent jusqu'à 1% des fruits frais), les légumes, le thé, le café en contiennent également des quantités importantes. Les flavonoïdes composés naturels, ils sont retrouvés dans plusieurs plantes médicinales (Derbel et Ghedire, 2005).

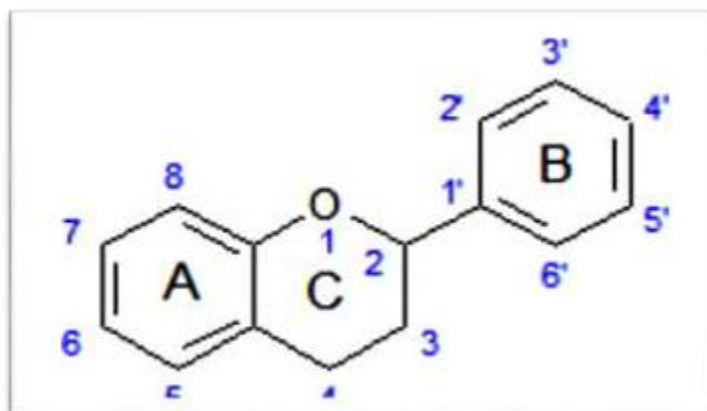


Figure 8: Structure de base des flavonoïdes (Dacosta., 2003)

Tableau 1: les différentes classes des flavonoïdes (Hardman., 2014) (Bruneton., 1999)

Classe	Structure	Exemple	Activité
Flavones		Apigénine Lutéoline	Antibactériens Antioxydants
Isoflavones		Daidzéine Génistéine	Insecticides Antitumoraux bouffée de chaleur
flavonols		Kaempférol Quercétine Myricétine	anti-inflammatoires antiallergiques antibactériens
flavanols		Catéchine Gallocetechin	Antioxydants Anticancéreuses
flavanones		Naringinine Ériodictyol Hespérétine	anti-inflammatoires antiviraux antiallergiques
anthocyanes		Pélagonidine Cyanidine Delphinidine Pétunidine Malvidine	Antiseptiques Couleurs brillant dans les fruits et les légumes. La lutte contre le vieillissement cellulaire

Les coumarines

Les coumarines sont des composés phénoliques végétaux, portant un noyau benzopyrone dans leur structure, elles sont présentes en quantités plus faibles dans plusieurs plantes comme le mélilot, la sauge sclarée et lavande. On la trouve aussi dans le miel, le thé vert, etc.

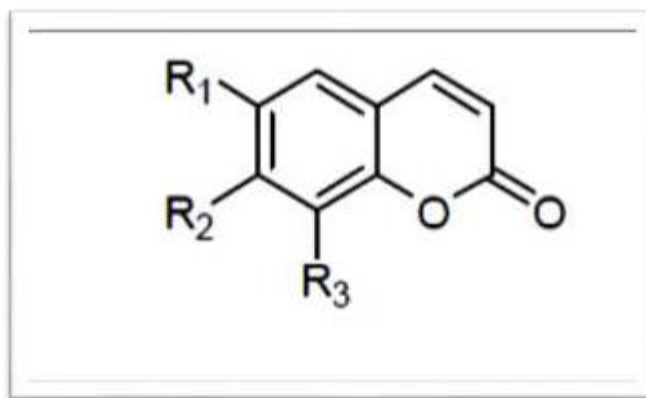


Figure 9: Structure de coumarine (Hadj Salem., 2009)

les Tanins

➤ Définition

Les tannins sont des substances polyphénoliques de structure variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Très répandus dans le règne végétal, ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles quelquefois combinés aux protéines et aux alcaloïdes (Catier et Roux., 2007).

b. Les huiles essentielles

➤ Définition

Le terme huiles essentielles (HE) dérive de « quinta essentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante (Khenaka., 2011). Sont des composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une forte et caractéristique odeur, les terpènes (principalement les monoterpènes) représentent la majeure partie (environ 90%) des ces composants (Hamdani., 2012).

La plupart des composants des HES sont inclus dans deux groupes : les trapénoïdes et les phénylpropanoïdes mais ces derniers sont moins fréquents par rapport aux trapénoïdes. Les HES ne contiennent pas de corps gras (lipides) (Hamdani., 2012 ; Khenaka., 2011).

Rôle physiologique

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les trapénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination, mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateurs (Thompson et al. 2003 ; Ormeno et al. 2007).

Classification

On distingue deux types de classification des huiles essentielles (Bekhechi et al., 2010)

➤ Selon la composition chimique

- les huiles essentielles hydrocarburées qui sont les plus nombreuses.
- les huiles essentielles oxygénées qui présentent toutes les huiles essentielles solides (HE du camphre).
- les huiles essentielles sulfurées retrouvées chez les Liliacées et les Brassicaceae.

➤ Selon la couleur de l'huile

- Les incolores qui sont dépourvues de résines et d'azulène.
- Les jaunes qui renferment des résines.
- Les bleues qui contiennent de l'azulène.
- Les jaunes, vert et vert-brun qui contiennent de l'azulène mais aussi d'autres colorants.

Caractérisation physico-chimiques de huiles essentielles

Propriétés physiques:

Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes, très rarement colorée, ce sont des liquides d'odeur et de saveur généralement forte (Khlaifia k et al., 2015).

Selon (Bardeau., 1976; Legrand., 1978; Lemberg., 1982; Bruneton., 1999), les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques:

- Elle sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elle communiquent leur odeur.
- Leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C.
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- Ce sont des parfums, et sont de conservation limitée.
- Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, très odorantes et volatiles.
- A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, exemple: huile essentielle à azulène de coloration bleue.
- Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, quelquefois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté .

➤ **Composition chimiques**

En effet, les HE sont un mélange de molécules variées qui appartiennent principalement à deux grands groupes: Les terpénoïdes, les phénylpropanoïdes qui se différencient entre eux par l'origine biogénétique. D'autres substrats, corps en faible proportion, entrent dans la constitution de certaines HE, acides organiques, esters et autres... (Chenni., 2016).

Les principaux constituants des huiles essentielles sont les suivants:

Terpénoïdes:

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils: mono- et sesquiterpènes (Abdelouahid et Bekhechi., 2010).

- **Les monoterpènes:** constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités «isopréniques»(Bruneton., 1999).
- **Les sesquiterpènes:** Un grand nombre de sesquiterpènes sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs, ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles (Bruneton., 1999).

✚ **Activités antioxydants**

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire : ils ont été montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (Laib., 2011).

✚ **Activité antibactérienne**

Le mode d'action des HE dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane. Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des HES, par rapport aux bactéries à Gram négatif (Khenaka., 2011). Les HES peuvent aussi inhiber la synthèse de DNA, ARN, des protéines et des polysaccharides des bactéries (Laib., 2011).

Toxicité des huiles essentielles

La toxicité des huiles essentielles est moins investiguée. En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 supérieures à 5g/kg. Chez l'Homme des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves, les plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion en quantité importante d'huiles essentielles (Laib., 2011).

Domaines d'utilisation des huiles essentielles

□ En pharmacie

L'importance des plantes aromatiques est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle-ci leur confèrent de grandes perspectives d'application. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique (**valent., 1984**).

Les substances actives des plantes médicinales sont de deux types:

- Les produits du métabolisme primaire (essentiellement des saccharides), substances indispensables à la vie de la plante se forment dans toutes les plantes vertes grâce à la photosynthèse.
- Les second type de substance se compose des produits du métabolisme secondaire résultat essentiellement de l'assimilation de l'azote.

Généralement, ces substances ne se trouvent pas dans la plante à l'état pur, mais sous forme de complexes qui se complètent et se renforcent dans leur action dans l'organisme (**Rubin et Messali., 1988**).

❖ En cosmétologie

L'industrie des cosmétiques et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier, pour les formulations de grande diffusion, les produits synthétiques (**Beylier-Maurel., 1976; De boucheberg et al., 1976; Pellecier et al., 1976**). Puisque la majorité des cosmétiques contiennent une certaine quantité d'huile essentielle comme élément parfumant, il serait probable que ces essences servent aussi à préserver ces cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable (**Abdelouahid et Bekhechi., 2010**).

□ Dans les industries agroalimentaires

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes utilisées dans l'assaisonnement des aliments a été reconnue depuis longtemps. C'est pour cela, que l'on pense de plus en plus à les utiliser dans la conservation des denrées alimentaires, sans pour autant en dénaturer le goût puisque ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires. C'est ainsi que

l'on trouve le laurier dans certaines conserves et dans le miso qui est un met japonais traditionnel (Kurita et Koike., 1982).

Le thym peut être utilisé dans diverses préparations alimentaires comme le smen par exemple (Ismaili, 1983; Banquour., 1984). Busta et foegeding en 1983, ont eux aussi étudié la conservation alimentaires par les épices, les aromates et les huiles essentielles qui sont rajoutés aux aliments pour rechausser le goût et qui ont aussi un effet antimicrobien empêchant les contaminants alimentaires de se développer.

En effet, tous les secteurs alimentaires sont consommateurs: alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale. Il est à noter que les huiles essentielles sont aussi utilisées dans le milieu hospitalier pour la désinfection des locaux (Abdelouahid et Bekhechi., 2010).

❖ Aromathérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie. Elle utilise les propriétés odoriférantes des huiles essentielles que contiennent les plantes aromatiques (Telephone., 2003).

Nous savons que les anciens utilisèrent les huiles essentielles pour (Chiej., 1982) :

- Embaumer les corps
- Combattre la putréfaction
- Conserver les aliments
- Lutter contre les agression microbiennes

Des solution aqueuse d'huiles essentielles, surtout celles de la famille des lamiacées (lavande, sauge, romarin, thym), facilitent les processus de réparation des tissus et stimulent la cicatrisation des plaies et des ulcères, en prévenant les surinfections bactériennes (Padrini et Lucheroni., 1996).

Chapitre III:

Activité biologique



III. Activités biologiques

- **Antibactérien**

est une substance active utilisée pour lutter contre des bactéries, les gênant qui détruit les bactéries avec une action bactéricide, on peut également trouver les appellations antimicrobien.

- **Les Antioxydants**

Sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées.

Activité Antibactérienne

❖ **Agents antibactériens**

Est un agent qui inhibe la croissance bactérienne ou tue les bactéries. Aujourd'hui, cependant on a une meilleure connaissance des agents responsables de diverses maladies infectieuses, et le terme antibiotique remplace le terme antibactérien pour désigner un large éventail de composés antimicrobiens,

❖ **Synonymes de termes**

- A bactérien
- Antibiotique
- Antimicrobien
- Antiseptique
- désinfectant

les types des bactéries

A. Bactérie à Gram positif :

Est une bactérie qui conserve la couleur Violet de cristal lorsqu'elle est décolorée à l'alcool ; elle se colore en violet foncé. Les bactéries à gram positif peuvent être des cocci ou des bacilles.

Ce type de bactéries deviennent de plus résistantes aux antibiotiques par exemple les bactéries *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline sont résistantes à la plupart des antibiotiques liés à la pénicilline.

B. Bactérie à gram négatif

Est une bactérie avec des parois cellulaires épaisses, dans un test de coloration de gram, ces micro-organismes donnent un résultat positif.

- Les différences entre les deux types de bactéries sont l'épaisseur de la couche peptidoglycane et la présence ou l'absence de la membrane lipidique externe.

III.2.1. Description des bactéries étudiée

✚ *Escherichia coli* (*E. coli*)

Est une bactérie que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain, (*E. coli*) c'est un producteur de Shigatoxines.

Escherichia coli est un bacille à gram négatif radio-résistant de la famille des *Enterobacteriaceae*, en forme de bâtonnet, sa taille varie en fonction des conditions de croissance (entre 0.5 à 3 micromètre), pesant de 0.5 à 5 picogrammes (**Bremer et Dennis., 1996**), le diamètre d'*E. Coli* est de 0.5 micromètre en moyenne. La température optimale environ 37 °C (**Ramon., 2002**).



Figure 10:L'espèce bactérienne *Escherichia coli*.

✚ *Bacillus cerus*

Est une bactérie constituée des bacilles gram positif de 1.4 micromètre habituellement observés ou en chainettes courtes(Murray et al. , 2007 et Logan et al., 2006), *B.cerus* est un anaérobie facultatif, mobile et capable de former des endospores, et ses colonies blanches d'aspect granuleuse font entre 2 et 7 mm de diamètre(Ray, C. G., 2004), la croissance est observée à des températures entre 10-20 °C et 35-4°C, la température optimale étant environ 37 C° (Murray et al. , 2007 et Logan et al., 2006).

Le bacille peut produire six type de toxine, savoir cinq entérotoxines et une toxine génétique, qui peuvent être thermolabiles, selon les souches(Logan et al., 2006 et From et al., 2005).

✚ *Pseudomonas aeurginosa*

Est une bactérie mobile à gram négatif, de 2 à 4 micromètre de longueur, en forme de bâtonnets renflés, avec un flagelle polaire qui joue un rôle dans la pathogénicité (Willcox,M., D2007 et Kayser, F. H., et al., 2001).

P.aeurginosa peut sécréter un vaste éventail de toxines extracellulaires, notamment A et des entérotoxines(Liu, P. V.1974)

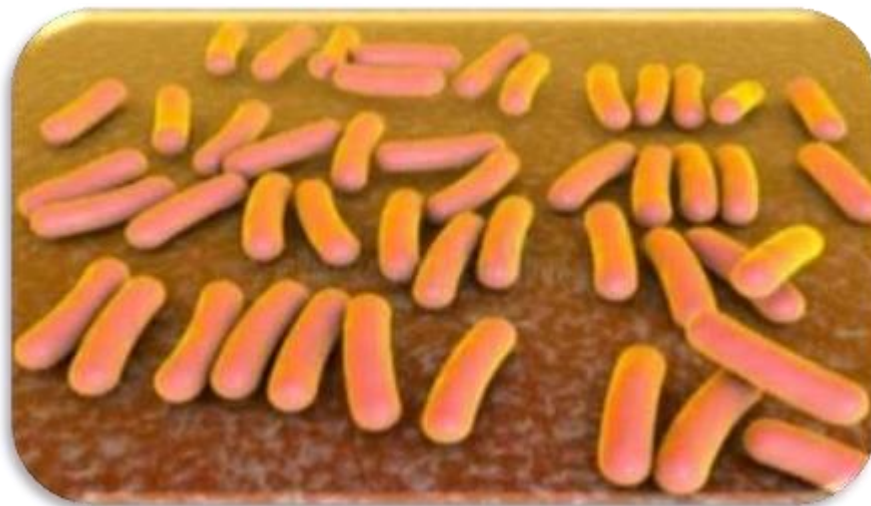


Figure 11:L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeurginosa*

Staphylococcus aureus

Est une coccobactérie à gram positif, il a une diamètre environ 0.5 à 1.5 micromètre, elle est immobile, asporulé et facultativement anaérobique (**Klytmans et al., 1997**). cette bactérie est une des principales causes de toxi-infections alimentaires, résultant la consommation d'aliments contaminés par des entérotoxines (**le loir et al., 2003**)



Figure 12:L'espèce bactérienne *Staphylococcus aureus*

III.2. Activité antioxydant

Les antioxydants

- **Définition**

Les principales activités biologiques relevées sont liées à la recherche de nouveaux composés antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoire, antiviraux, antidiabétiques,...etc. (**Belbey., 2014**).

A l'origine le terme antioxydant était utilisé exclusivement pour désigner les produits chimiques qui inhibent la consommation d'oxygène. A la fin de **XIX**ème Siècle et au début du **XX**ème siècle les propriétés des antioxydants ont été largement étudiées pour être utilisées dans les processus industriels afin de réduire.

L'activité antioxydants peut être mesurée simplement en plaçant la graisse dans un récipient hermétique rempli d'oxygène et en mesurant le taux de consommation d'oxygène (**V.lobo et al., 2010**).

- *Les antioxydants primaires*

La cellule est pourvue d'enzymes anti oxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (**S.O.D**) de catalase, et de peroxyde (glutathion et ascorbate) (**Favier., 2006**).

- *Les antioxydants secondaires*

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

stress oxydatif

➤ Définition

Le stress oxydatif a été défini comme le déséquilibre entre la présence d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote(ERO et ERA) et la capacité de l'organisme à neutraliser leur action par les systèmes de protection antioxydants (**persson et al., 2014**).

D'autre part, le stress oxydatif ou radicalaire est l'un des facteurs qui participe à l'installation du dysfonctionnement important au niveau du système cardiovasculaire (**Lacolly., 2007**).

Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources anti oxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer(**Benbrinis., 2011**)

Définition d'un radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisation ainsi d'autres molécules (**Dacosta, 2003**). Ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalent (fission homolytique) pendant le quelle chaque atome conserve son électron, soit au coure d'une électron réaction redox avec perte ou gain d'un électron à partir d'un composé non radical (**kocchilin-Ramonatxo., 2006**). Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaine. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

Différents types de radicaux libres (Boudour et Rouana., 2020)

Il existe de nombreux composés oxydatifs qui se forment en doublant l'oxygène que nous respirons:

- ✓ **Les radicaux libres primaires:** ils sont séparés directement de l' O₂ par une réaction de réduction.
- ✓ **Les radicaux libres secondaires:** ils sont formés par la réaction de réduction libres primaires sur des composés chimiques cellulaires.
- ✓ **Les espèces actives de l'oxygène:** ces molécules ne possèdent pas d'électron non appariés, mais sont fortement oxydantes car elles peuvent générer des radicaux libres.

Les principaux radicaux libres

Il existe des radicaux soufrés, azotés, phosphorés ou carbonisés, mais le radical principal est la forme activée de l'oxygène, au nombre de six (Seignalet., 2004) :

- L'anion super oxyde **O²⁻**
- L'eau oxygénée **H₂O₂**
- Le radical hydroxyle **HO[•]**
- L'oxygène singlet **O₂**
- L'oxygène nitrique **NO**
- L'acide hypochloreux **ClHO**

Ce sont des oxydants très puissants. Selon les situations, ils ont des effets bénéfiques ou néfastes, constituant un stress oxydatif.

Rôles physiologiques des radicaux libres

Les radicaux libres ont les fonctions physiologiques suivantes (W. Droge, 2002)

- Transduction du signal
- Relaxation du muscle lisse
- Activation du facteur nucléaire (NF-**KB**) responsable de l'expression du gène de l'interleukine 2 (IL-2).
- Activation de la protéine kinase C.
- Relaxation des muscles.

- Modulation des fonctions des protéines kinases, phosphodiesterases, et des Canaux ioniques.
- Activation des MAPK des cellules endothéliales et monocytes.
- Protection contre l'apoptose par inhibition de certaines cascades.

Le mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants vont intervenir comme "captures" de radicaux libres. En effet certains antioxydants de type phénolique réagissent selon un mécanisme proposé dès 1976 par **Sherwin** décrit comme suit: l'antioxydants cède formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins rapidement, par donner un intermédiaire radical stabilisé par ses structures mésomères conjuguées (**Outaleb, 2016**).

Chapitre IV:

Le Beurre



IV. Beurre

• Définition

Le beurre est un aliment préparé, conformément aux bonnes pratiques industrielles, à partir du lait ou des produits du lait et doit contenir au moins 80% de matière grasse du lait. Il peut également contenir des solides du lait, des cultures bactériennes, du sel et un colorant alimentaire. Conformément au **Codex Alimentaires**, le beurre est un produit gras dérivé exclusivement du lait ou de produits obtenus à partir du lait, principalement, sous forme d'une émulsion du type eau dans l'huile (**Paul., 2010**).

IV.1. Structure du beurre

La phase est constituée d'un grand nombre de globules gras (GG) intacts intégrés à un ciment de MG liquide. Au sein des globules gras et du ciment de MG sont susceptibles de former dans le ciment sont responsables de la fermeté du beurre. Enfin, on trouve également une part non négligeable d'eau dispersée sous forme de petites gouttelettes (1- 25 µm) et intégrée dans la matière grasse (au niveau des membranes des GG), et des bulles d'air (>20µm). le principal critère d'appréciation de la qualité fonctionnelle du beurre est la tartinabilité. Elle dépend de la structure de celle-ci (**Couvreur et Hur taud., 2007**).

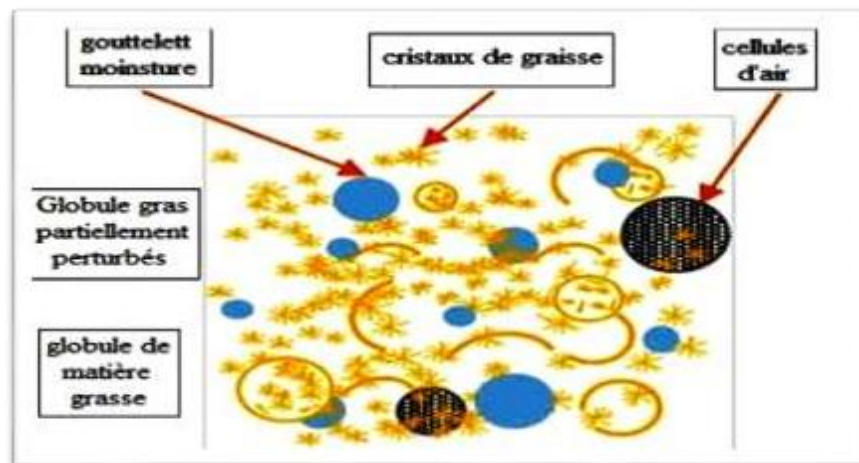


Figure 13:Microstructure du beurre (site).

➤ Composition du beurre

Il contient de 80 à 81% de matière grasse laitière, 17% d'humidité, 1% de glucides et de protéines, et 1,2 à 1,5% de chlorure de sodium (**Kornacki et al., 2001**)

IV.2. Technologie de fabrication du beurre

IV.2.1. Fabrication traditionnelle

Il est reconnu depuis l'antiquité que les femmes des nomades ont joué un rôle très important dans la transformation du lait en produits dérivés traditionnels, notamment le beurre (Le Quellec *et al.*, 2006).

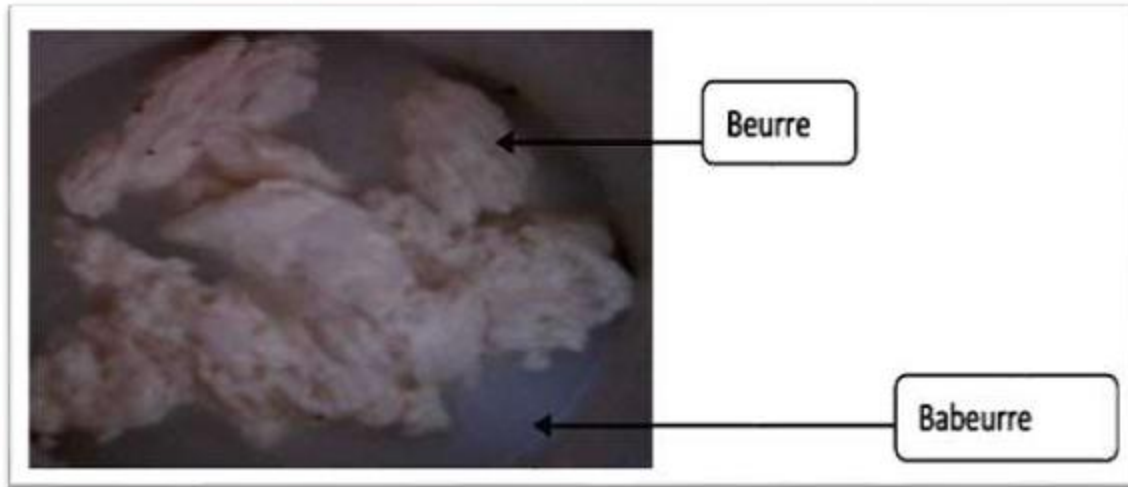


Figure 14: Beurre et babeurre (Makhloufi., 2010)

IV.2.2. Fabrication moderne

Selon **Keogh (2006)**, La fabrication du beurre comprend cinq étapes principales:

- Concentration de la phase grasse du lait par séparation mécanique.
- Cristallisation de la phase grasse de la crème par refroidissant.
- Phase d'inversion de l'émulsion huile dans l'eau de la crème.
- Elimination du babeurre.
- Formation d'une émulsion eau-dans-huile.

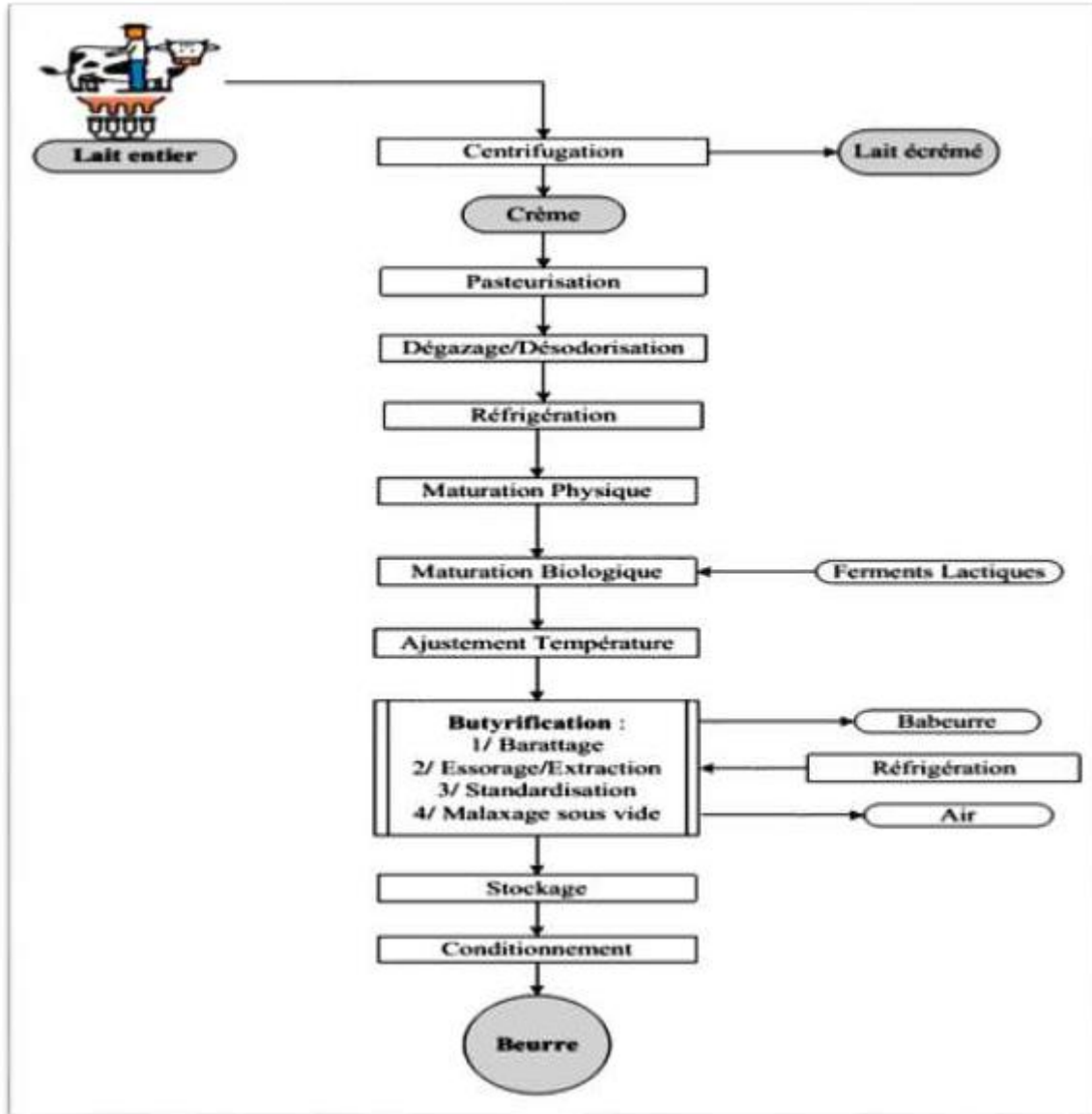


Figure 15:Étapes de fabrication industrielle du beurre à 80% en masse de matière grasse par agglomération (Boutonnier., 2007).

IV.3. Préparation de la crème

Quelle que soit l'utilisation de la matière grasse celle-ci est d'abord séparée du lait au cours de l'opération d'écémage qui donne deux produits à savoir le lait écrémé et la crème (FAO, 1995).

Préalablement, le lait est chauffé à 50°C pour l'obtention d'un meilleur rendement d'écémage (Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques., 2002).

La crème est standardisée entre 35 et 40% de MG en fabrication traditionnelle et entre 40 et 45% de MG en fabrication continue. Dans le cas des crèmes acides, on procède à une désacidification pour ramener l'acidité du non gras entre 15° et 20°D soit par lavage à l'eau suivi d'un écrémage afin d'éliminer la phase non grasse altérée, soit par addition de neutralisants (Jeantet *et al.*, 2008).

IV.3.1. Pasteurisation

La pasteurisation consiste en un traitement thermique à haute température qui se fait entre 85°C et 90°C pendant 15 à 20 secondes tout en préservant les qualités organoleptiques de la crème. Elle provoque la destruction des germes pathogènes et de la plupart des germes saprophytes, la destruction des lipases facteurs de rancissement, la formation de composés sulfurés réducteurs qui s'opposent à l'oxydation des lipides, et la maîtrise ultérieure de la maturation lactique de la crème (Fredot., 2005).

IV.3.2. Maturation de la crème

La maturation de la crème peut combiner deux processus : d'une part, la maturation physique qui assure une cristallisation dirigée de la matière grasse et d'autre part, une maturation biologique qui assure le développement de l'acidité et de l'arôme (Jeantet *et al.*, 2008).

a. Maturation physique

Les propriétés rhéologiques des beurres dépendent fortement des propriétés thermiques et structurales des triglycérides constituant la matière grasse. La maturation physique qui vise à solidifier une partie des triglycérides est une opération incontournable pour obtenir un beurre de qualité optimale et constante malgré le degré de variabilité de la qualité de la crème. L'application d'un cycle thermique adapté permet de diriger la cristallisation des triglycérides et de corriger ainsi les effets liés à la saison.

Par conséquent, le régime de refroidissement pratiqué lors de la maturation physique influence, à la fois, la quantité de matière grasse solidifiée par cristallisation, ainsi que le degré d'agglomération des globules gras. Ce dernier facteur est fondamental car il conditionne l'aptitude de la crème au barattage. Les globules gras sont dans un état métastable de grande fragilité au niveau de la crème pendant une dizaine de minutes après le refroidissement. Aussi, tout stress mécanique, pendant cette phase, entraîne une libération de matière grasse liquide qui

agglomère les globules gras. La crème étant plus visqueuse, l'agitation doit être plus longue et plus énergique (Boutonnier., 2007).

b. Maturation biologique

Cette opération se réalise dans le cadre des fabrications traditionnelles ainsi que pour l'obtention de beurres d'appellation d'origine contrôlée (obligation d'une durée minimale de 12 heures entre 9°C et 15°C). Elle consiste àensemencer la crème avec une préparation de bactéries lactiques à la dose massique de 3 à 5% et à laisser se développer celles-ci pendant une dizaine d'heures afin de développer deux types de fermentations : lactique et aromatique.

La fermentation lactique produit de l'acide lactique qui abaisse le pH de la crème entre 4,70 et 5,80 afin d'améliorer la conservation du beurre. En outre, cette diminution du pH permet en se rapprochant du point isoélectrique des protéines membranaires de faciliter l'agglomération des globules gras, recherchée lors du barattage.

La fermentation aromatique résulte majoritairement du métabolisme des citrates par les bactéries lactiques, Elle conduit à la production d'une molécule très aromatique (goût de noisette du beurre) le diacétyle ou 2-3 butanedione. Même si d'autres composés, soit originels (acides ou delta lactones), soit ceux issus de fermentation (alcools, aldéhydes, cétones, esters, amines, etc.) participent au profil aromatique du beurre, c'est le diacétyle qui joue un rôle prépondérant (Boutonnier., 2007).

IV.3.3. Bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du beurre

La substance aromatique recherchée essentiellement dans le beurre est le di acétyle : il est le fruit de l'oxydation de l'acétoïne produit par *Leuconostoc cremoris* et *Leuconostoc dextranicum* à partir du lactose et de l'acide citrique. Ces espèces produisent leur effet aromatisant seulement en milieu acide : c'est pourquoi on les utilise en mélange avec des ferments de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ou *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Il existe cependant des souches de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (biovar, *diacetyllactis*) capable de former à la fois de l'acide lactique et des substances aromatisantes. La fermentation de la crème doit permettre une production suffisante et la conservation du diacétyle (Angers., 2010). La figure 6 présente le mécanisme biochimique de la formation de l'arôme du beurre à partir du lactose et de l'acide citrique (Veisseyre., 1975).

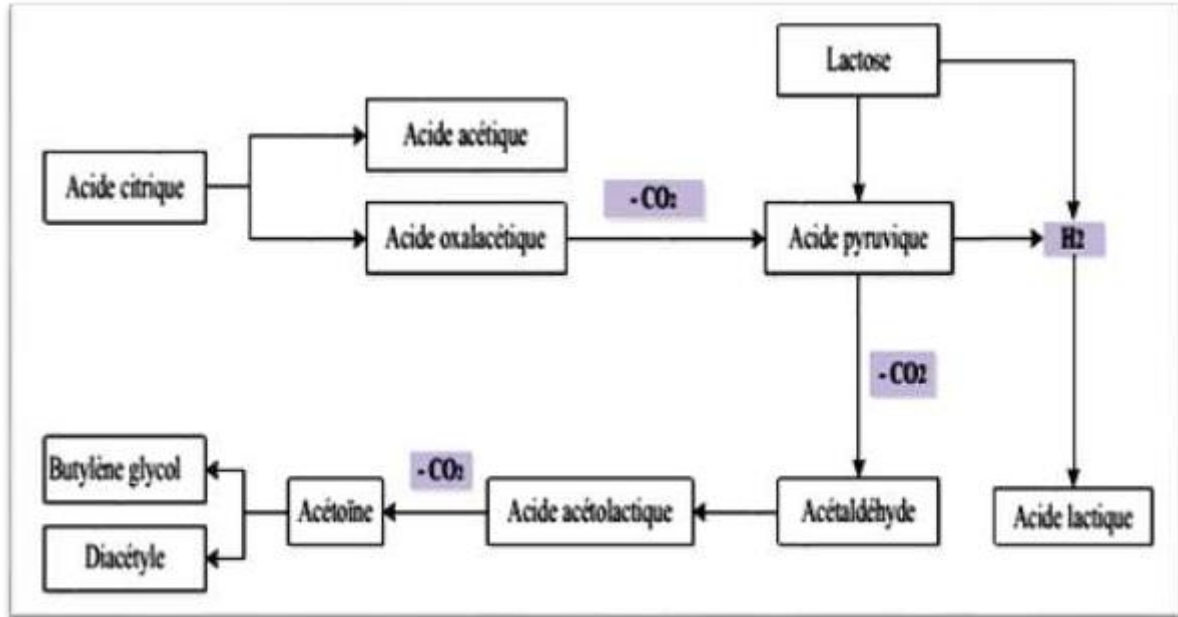


Figure 16: Mécanisme biochimique de la formation de l'arôme du beurre à partir du lactose et de l'acide citrique (Veisseyre., 1975).

IV.3.4. Barattage

A l'utilisation d'un butyrateur, Le barattage consiste à agglomérer par un mouvement mécanique les petits globules de matière grasse contenus dans la crème du lait : qui permet d'obtenir du beurre et du babeurre. La température doit être maintenue constante (Kanafani-Zahar., 1994).

IV.3.5. Lavage

Il permet de refroidir et de resserrer le grain, de diluer les gouttelettes du babeurre par de l'eau afin de limiter le développement microbien (Jeantet et al., 2008).

IV.3.6. Malaxage

Le malaxage sert à mélanger intimement les granules de beurre entre elles, pour obtenir un produit de consistance et de texture désirables. Pour la fabrication de beurre salé, c'est pendant le malaxage que le sel est ajouté. La teneur en sel est limitée à 1,5% (Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques., 2002).

IV.3.7. Emballage

Les matériaux utilisés sont le papier, l'aluminium et certains plastiques thermoformés qui doivent présenter une bonne étanchéité, une protection contre la lumière, l'oxygène et les odeurs de l'environnement (**Jeantet *et al.*, 2008**).

Partie 02 :
Partie expérimental

Chapitre I :

Matériel et Méthodes



Matériel végétale

Le type de l'HE utilisée ont été préparée par hydrodistillation, au niveau de l'université de M'sila (pole universitaire) à partir de la plante :

- ✓ *Rosmarinus officinalis* L.
- ✓ *Thymus ciliatus*.

Les plantes ont pour origine la région de M'sila et elle étant récolte la moi Mars 2022 (université de M'sila).

Souches bactériennes

Les souches utilisées pour déceler l'activité bactérienne des huiles essentiels et des extraits de *Thymus ciliatus* et *Rosmarinus officinalis* L. Font partie de quatre genre de micro-organismes qui sont des souches cliniques isolées de patients hospitalisée proviennent de laboratoire de Microbiologie de l'université de M'sila, il s'agit des souches suivantes :

Tableau 2:Types des souches bactériennes

Les souches bactériennes	Type de bactère	Code
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	ATCC25 933
<i>Bacillus cereus</i>	Gram+	ATCC10 876
<i>Escherichia coli</i>	Gram-	ATCC25 922
<i>Pseudomonas aeurginosa</i>	Gram-	ATCC27 853

Milieu de culture

Pour l'étude de l'activité bactérienne, le bouillon nutritives a été utilisé comme milieu d'enrichissement pour toutes les souches bactériennes, pour obtenir des colonies jeunes des bactéries afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentiels et des extraits, pour l'activité bactérienne le bouillon et le gélose nutritives ont été utilisées.

Méthodes**Méthodes d'extraction des huiles essentielles**

L'objectif de ce travail est obtenir l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. et *Thymus ciliatus*, par la méthode d'hydrodistillation pour faire :

- L'évaluation de l'activité antibactérienne
- L'évaluation de l'activité antioxydants

- L'incorporation avec le beurre

❖ Procédé d'extraction

L'huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* L. et *Thymus ciliatus* à été extrait au niveau du laboratoire de pôle universitaire Mohammad Boudiaf de M'sila par le procédé de hydrodistillation.

Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé à l'acétone puis rincé à l'eau distillée pour éviter les contamination de l'huile essentielle au cours de l'extraction.

Dans un ballon d'une capacité 1L, on introduit 50 g de matière végétale (chaque plante seule) découpées . puis, on ajoute un 600 ml d'eau distillée. Cette ballon avec son contenu a été mise sur le chauffe ballon. Les HE entraînés par les vapeurs d'eau générées dans la fiole sont dirigées vers le col de cygne, qui relie fiole avec le réfrigérant et lorsqu'elle pénètre dans le liquide de refroidissement, elle se condensent rapidement et se retrouvent dans l'ampoule a décanté qui permet la séparation immédiate de l'essence par sa densité. Après 3 ou 4 heures d'extraction, l'HE a été recouvert de papier aluminium pour le protéger de la lumière et conservée à 4°C.

Pour chaque plante, on réextrait 3 cycles.



Figure 17: 50 g matière végétale sèche



Figure 18: photo original de l'appareil de clavier d'extraction l'HE

Conservation de l'huile essentielle obtenue (*Rosmarinus officinalis* L. , et *Thymus ciliatus*)

La conservation des huiles essentielles de *R. officinalis* et *T. ciliatus* dans des flacons en verre enveloppées avec papier aluminium à une température 4°C pour éviter toutes dégradation.

• Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'HE extrait et le poids de la plante à traiter (**Carré., 1953**).

Le rendement d'extraction est calculé comme suivants :

$$\text{Rdt (\%)} = \text{P}_{\text{rec}} / \text{P}_{\text{A}} \times 100$$

Avec :

- Pdt % = rendement d'extraction
- P_{rec} = poids de l'huile recueilli (mg)
- P_{A} = poids de la plante (mg).

l'extraction des principes actifs**Préparation de l'extrait brut par extraction type solide-liquide (ESL)****❖ Procédé d'extraction**

On met 50g de matériel végétale (*Rosmarinus officinalis* L; et *Thymus ciliatus*) tout seul, et macéré dans une solution contenant 80 ml de méthanol et 20 ml d'eau distillée pendant 48 heures, cette opération est répétée trois fois à température ambiante. Après quoi on filtre cette solution par papier. Ensuite, nous évaporons pression réduite à sec, pour obtention de l'extrait brut (Température 40°C) par un évaporateur rotatif (Rota vapeur) puis , est séché dans l'étuve à 40°C. Afin de cette méthode , on gratte la solution séchée pour obtenir un extrait final (semi-adjacent). Nous conservons ces solution extraits dans des bouteilles en verre opaques et hermétique avec des fermetures en aluminium et les mettons au réfrigérateur jusqu'à utilisation.



Figure 19: Appareil du rota vapeur rotatif



Figure 20: L'extrait méthanolique de deux plantes étudiée

extraction par macération dans l'eau distillées (extraction solide-liquide)

✓ Le principe

La macération (extraction solide-liquide) est une procédé consistant à laisser reposer la poudre de la matière végétale dans l'eau distillée ou un solvant pour en extraire la substance actives qui se fait température ambiante.

❖ Procédé d'extraction

- On met 50 g de poudre végétale de *R. officinalis* dans 400 ml d'eau distillé.
- 50 g poudre végétale du *T. ciliatus* dans un 500 ml l'eau distillé.

Cette opération est répétée trois fois. Après extraction est filtré , le filtrat récupéré est séché dans l'étuve à 40°C. Puis, on gratté la solution séchée pour obtenir un extrait final (poudre)

Extraction hydrométhanolique

L'extraction brut de la plante (extrait hydrométhanolique) sont mélangés avec 80 ml d'acétate d'éthyle dans un ampoule à décanter, et on la couvre d'aluminium pour éviter une interaction lumineuse, après la décantation (2 heures), la phase d'acétate d'éthyle (phase organique) supérieur et récupérée, et la phase aqueuse inférieur obtenant en répétant cette étape trois fois en ajoutant l'acétate d'éthyle, et le présenter à un autre fractionnement par utiliser du n-butanol avec les même étapes que lors de la première extraction utilisant d'acétate d'éthyle.

Les extraits obtenus sont ensuite évaporés avec un appareil Rotavapor à une température de 45°C. Après cela, les deux extraits (acétate d'éthyle, n-butanol) sont placés dans une bouteille en

verre noire, recouverte d'aluminium et placée au réfrigérateur jusqu'à utilisation, (répétée cette étape par 3 fois).

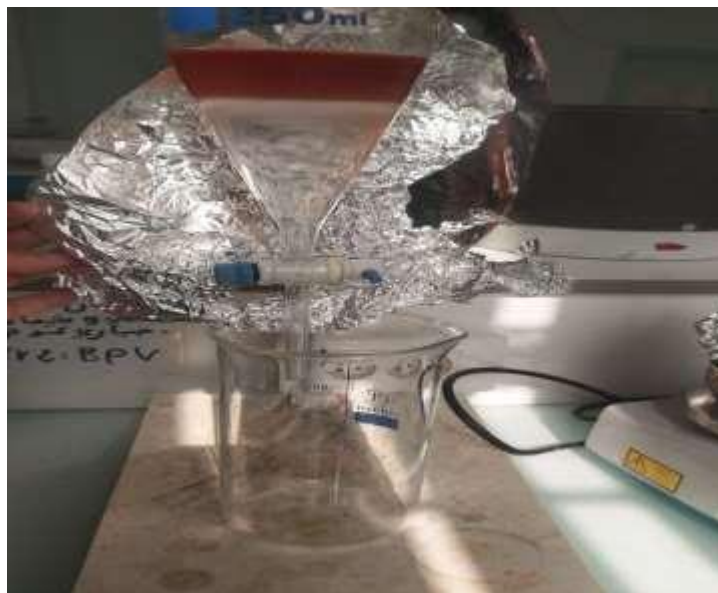


Figure 21:L'extrait n-butanol

- **Calcule du rendement des extraits**

Le pourcentage de rendement pour chaque extrait a été calculé par la formule suivante :

$$\text{La taux de matière extrait (\%)} = (P_1 - P_0)100/P$$

Avec :

- ❖ **P** = poids initial de l'échantillon (g)
- ❖ **P0** = poids de boîte pétri vide (g)
- ❖ **P1** = poids de boîte pétri après évaporation total (g)

Extraction des coumarines

- **Procédé d'extraction**

- On pose 50 g de matière broyée des plantes étudiée (tout seul) dans un bécher
- On ajoute un 4 ml de méthanol et 20 ml l'eau distillée et on laisse 24 heures
- Après le 24 heures, on fait la filtration à l'aide d'un papier filtre et un entonnoir, pour 3 fois qui répétée cette étape
- Après la filtration total, on a évaporée par la Rota vapeur

- Puis, poser cette extrait brut dans un bécher, et mesuré le PH par la papier de PH,
- On ajoute quelque gouttes de la Na_4OH jusqu'à l'obtention de PH = 9.
- Après la régulation de pH, on pose l'extrait dans un ampoule à décanter et ajoutant 40 mg de chloroforme et nous attendons quelque heures.
- Puis, après quelque heures 2 heures, nous obtenons deux phases, phases organique inférieure et phases aqueuse supérieure. Cette étape est répétée à 3 fois.
- En suite, diminuer le PH de la phase aqueuse jusqu'à l'obtention de PH = 2 par l' HCl diluer
- On pose l'extrait dans une ampoule à décanter, moulage 20 ml de chloroforme puis agité et pendant quelque heures, nous obtenons deux phases, phases organique (inférieure) phases aqueuse (supérieure). Répétée cette étapes 3 fois.
- Puis, on évapore l'extrait par Rot vapeur et on conserve jusqu'à utilisation.

Caractérisation qualitatives des extraits

Chromatographique sur couche mince CCM

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu phénolique de nos différents extrait (EAcOEt, EnBuOH, EBr) à partir de la plante *Rosmarinus officinalis L.* et *Thymus ciliatus* à l'utilisation de la chromatographie sur couche mince (CCM) puisqu'elle est l'une des méthodes habituelles pour la séparation et la purification des différents constituants d'un extrait végétal et qui est plutôt simple à mettre en œuvre.

Une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant 2 systèmes solvants moyennement polaires méthanol/acétate d'éthyle et méthanol/acétate d'éthyle/H₂O . Sous lumière UV à 365 nm Les différentes taches de produits qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. Les couleurs des spots et leurs R_f observés sous UV suite à une analyse par chromatographie sur couche mince.

Activités biologiques

Evaluation de l'activité antioxydants

L'évaluation de l'activité antioxydants des extraits et des HE a été réalisée par l'équation de réaction sans DPPH.

Ce radical libre, (2,2-Diphényle picrylhydrazyl) peut être suivie par spectrophotomètre. UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm. Le DPPH possède une coloration violet formé et lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle (Mohammed et Atik Bekkara., 2012).

❖ **Mise en œuvre pratique**

- Nous prenons 4 g de DPPH et y ajoutons 100 ml de méthanol, mélangeons le mélange et le gardons dans un endroit sombre pendant une demi-heure.

- Nous préparons différentes concentrations de ces extraits pour chaque plante séparément :

1. *Rosmarinus officinalis* L.

- Extrait méhtanolique : (10, 25, 50, 100 μ l)
- Extrait aqueuse: (10, 25, 50, 100 μ l)
- Huile essentielles : (10, 25, 50, 100 μ l)

2. *Thymus ciliatus*

- Extrait méhtanolique : (10, 25, 50, 100 μ l)
- Extrait aqueuse : (10, 25, 50, 100 μ l)
- Huile essentielle: (10, 25, 50, 100 μ l)

Toutes les lecteurs sont effectuées à 517 nm par un spectrophotomètre.

• **Expression des résultat**

La pourcentage de l'activité anti radicalaire est calculé selon l'équation suivante :

$$AA\% = (\text{Abs}_{\text{contrôle négatif}} - \text{Abs}_{\text{Echantillon}}) / \text{Abs}_{\text{contrôle négatif}} \times 100$$

Avec :

- **AA%** : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire
- **Abs Echantillon** : Absorbance de l'échantillon
- **Abs Control négatif** : Absorbance du control négatif

Calcul des concentrations inhibitrices à 50 %" IC₅₀"

L' IC₅₀ (inhibitory concentration 50 %, concentration inhibitrice 50%) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% des radicaux DPPH .

Evaluation de l'activité antibactérienne

Méthodes de l'aromatogramme

L'activité bactérienne est évaluée par la méthode d'aromatogramme qui permet de déterminer la sensibilité des différents espèces bactériennes vis-à-vis de les huiles essentiels et les extraits donnés, la méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boites de Pétri contenant un milieu de gélose convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée.

Méthodes de diffusion sur milieu gélosé :

Cette méthode consiste en l'ensemencement sur un milieu gélosé dans une boite pétrie, d'une suspension bactérienne. Les boites pétriensemencées ont été laissées 1 heures à températures ambiante puis retournées et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures, Après incubation, le diamètre d'inhibition a été mesuré en mm disque inclus.

- **Mise en œuvre pratique**
- **Préparation du milieu de culture**

On a mettez le flacon de gélose nutritive dans une cocotte d'Autoclave jusqu'à ce qu'il soit complètement dissous, et puis couler le milieu dans les boites Pétri à 4 mm de hauteur et laisser quelque minute jusqu'à la solidification.

- **Préparation des trous**

Dans la surface de la boite gélosé et A l'aide d'une pipette Pasteur on perce quatre trous pour le mettez-en les extraits et les huiles.

- **Préparation des dilutions d'extraits et des huiles de *Thymus ciliatus* et *Rosmarinus officinalis***

Les extraits et les huiles sont préparés à différentes concentrations, on a une solution mère de 32 mg/ml a partir de laquelle on fait des dilutions

- **Préparation de l'inoculum bactérien**

Les souches bactériennes ont étéensemencées dans la gélose nutritive sur des boites Pétri, puis incubés à 37°C pendant 24 heures pour optimiser leur croissance, Après le temps d'incubation à l'aide d'une anse de platine ont prélevées quelque colonies bien isolées et identique de chacun des souches bactériennes à tester.

Puis émulsionnées dans un tube d'essai contenant 5 ml d'eau physiologique puis agiter au vortex, l'inoculum peut être ajusté en ajoutant soit de la lecture s'il trop faible, ou bien l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

- **Ensemencement**

La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec de benzène et l'ensemencement est réaliser par écouvillonnage de suspension bactérienne sur tout la surface gélosée.

- **Dépôt les dilutions**

A partir de chaque dilution on prélève 10 microlitre et on le mit dans les trous qui sont déjà dans les boites Pétri, Finalement les boites de Pétri sont incubées 2 heures à 4 °c puis a 37 °c pendant durée d'une 18 à 24 heures.

- **Lecture des antibiogrammes**

La lecture se fait par la mesure de diamètre des zones (halos) d'inhibition au tour des trous

Préparation du beurre incorporé

Dans une salle aseptique sous la hotte à l'aide d'une micropipette graduée on a ajout des différentes concentrations des huiles sur des flacons contenant 50 g de beurre



Figure 22:Préparation de beurre incorporé

Tableau 3: La composition des mélanges sont mentionné au tableau suivant :

Mélange	Composition
Témoin	50 g de Beurre
BR ₁	50g de beurre + 20 µl huile de Romarin
BR ₂	50 g de beurre + 10 µl huile de Romarin
BT ₁	500 g de beurre + 20 µl huile Thymus
BT ₂	50 g de beurre + 10 µl huile Thymus

Analyse chimique

- **Détermination la matière grasse**

- **Principe**

La méthode de **ROEDER** est une technique de référence, son principe est basé sur la séparation de la matière grasse du beurre par centrifugation dans un butyromètre, où l'acide sulfurique dissout tous les constituants du beurre à l'exception des matières grasses. L'alcool isoamylique agit comme séparateur de phase

• Mode opératoire

- On pèse 5 g de beurre dans le récipient en verre se trouvant dans le bouchon et déposés dans le butyromètre. On ajoute l'acide sulfurique (densité: $1,522 \pm 0,005$ g/ml) par l'ouverture supérieure du butyromètre jusqu'au-dessus du bord du récipient en verre. On ferme le butyromètre et on agite énergiquement à plusieurs reprises jusqu'à dissolution complète de l'albumine et on place dans un bain-marie à 70°C.

- Par la suite, on ajoute de l'acide sulfurique jusqu'à hauteur du début de l'échelle et 1 ml d'alcool amylique. On agite le butyromètre et placer au bain-marie pendant 5 min (à 70°C), suivi d'une centrifugation à de 5 min avec un température 65°C à l'aide d'une centrifugeuse GERBER. La température au bain-marie doit être à 65°C (env.5 min) et on lit à l'extrémité inférieure du ménisque.



Figure 23:Détermination matière grasse du beurre

pH (AFNOR., 1982)

Le pH est déterminé directement en utilisant un pH-mètre électronique de type INOLAB730, qui affiche la valeur sur son écran après avoir plongé son électrode dans le flacon contenant l'échantillon de beurre. La mesure est effectuée à 16.



Figure 24: Mesure de pH à l'aide de pH-mètre

l'humidité

Préparée 3gde beurre sur disucateur



Figure 25: Mesure de l'humidité

Analyses microbiologiques

. Préparation des échantillons

On pèse 25g d'échantillon, on ajoute 60 ml de la solution Ringer, qu'on met au bain-marie ou étuve pour quelques minutes. Les dilutions et les ensemencements seront réalisés à partir de la phase aqueuse de la solution mère



Figure 26: Préparation des échantillons pour les analyses microbiologiques du beurre

Les germes recherchés

Le J.O.R.A de 2017, exige la recherche de quatre germes dans le beurre cru, qui sont : *entérobactéries*, *Staphylococcus aureus*, *levures* et *les moisissures*, *les germe aérobie* A partir de la solution mère, 1 ml est ensemencé en profondeur dans les milieux suivants:

a. Recherche entérobactéries:

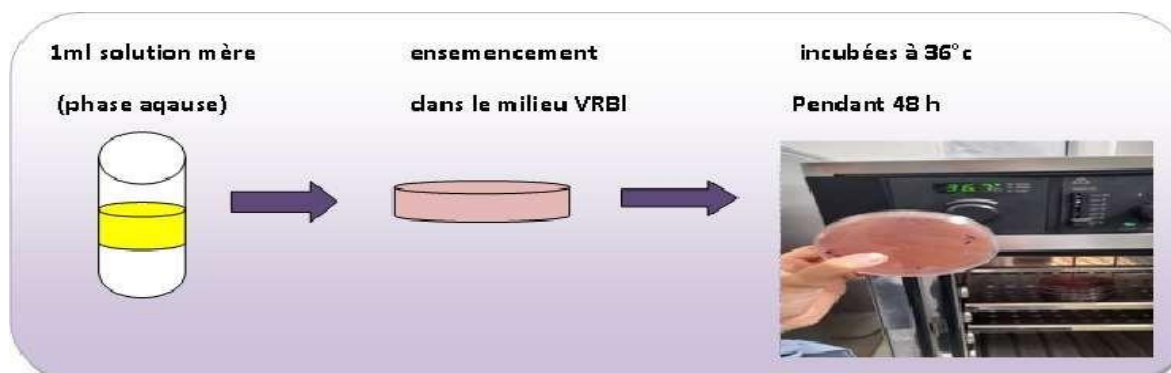


Figure 27: Méthode de recherche entérobactéries

b. Recherche des *Staphylococcus aureus*

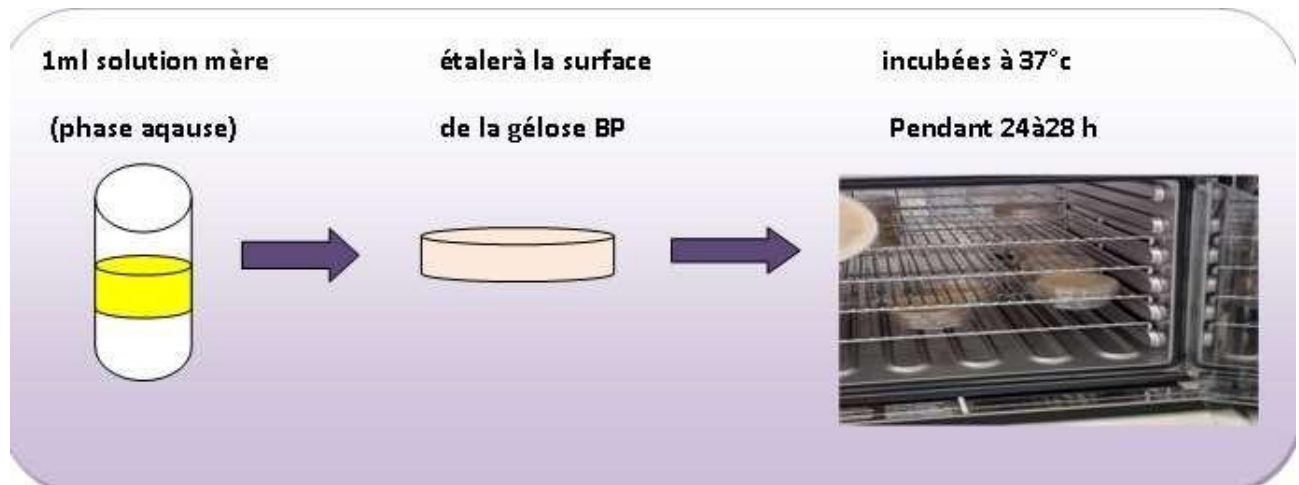


Figure 28: Recherche des *Staphylococcus aureus*

C. Recherche des levures et les moisissures:

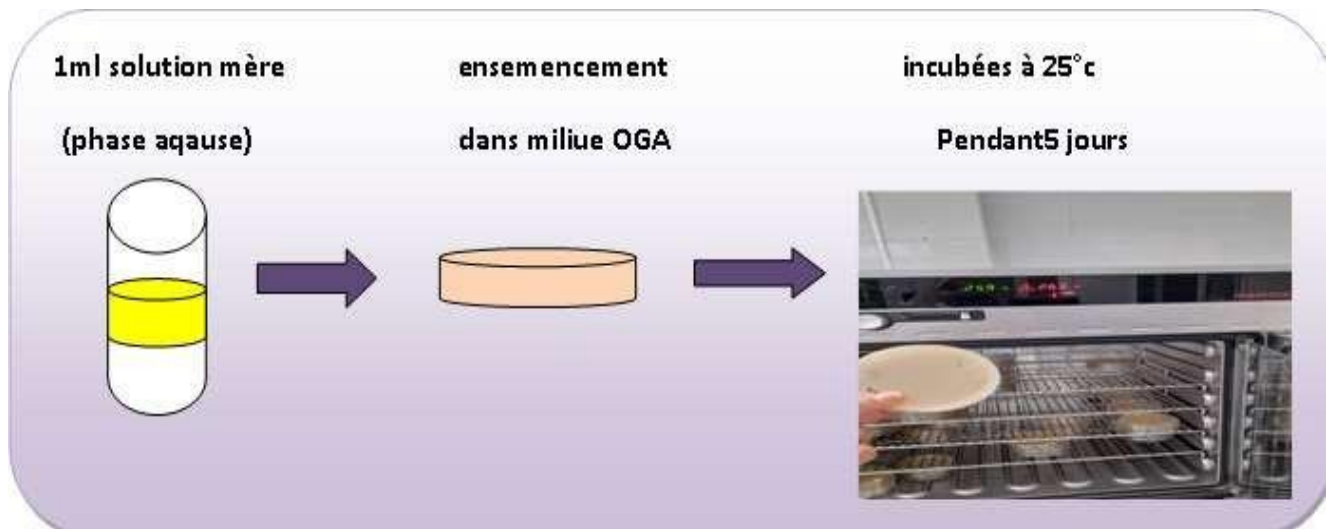


Figure 29: Dénombrement de la levures et les moisissures

D. Recherche les germe aérobie

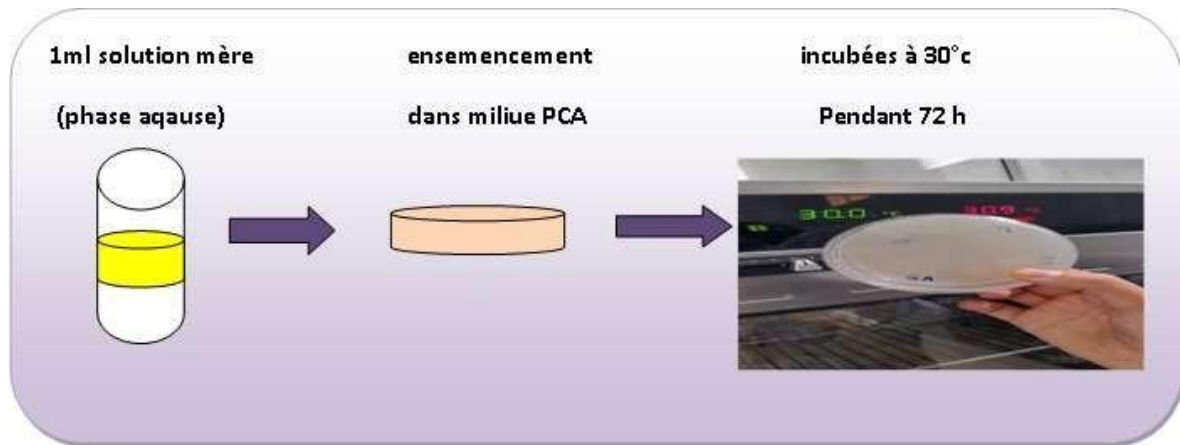


Figure 30:Recherche des germe aérobie

Chapitre II :

Résultats et discussions



Conclusion

Conclusion

Conclusion

La famille des Lamiaceae est l'une des familles les plus importantes et les plus connues qui sont utilisées dans de nombreux domaines, dont le plus célèbre est le domaine médical, où les plantes de cette famille sont considérées comme une médecine alternative pour leurs grands bienfaits.

Le recours aux plantes aromatiques s'avère être un choix pertinent face aux risques de contamination précis ou à la nécessité de réduire ou remplacer les conservateurs chimiques ou synthétiques dans l'industrie agro-alimentaire. Ainsi, leur utilisation à faibles doses est envisageable, en raison de leur grande efficacité, ainsi que leur apport en goût, fraîcheur, équilibre nutritionnel et rentabilité qui sont des valeurs ajoutées aux produits consommés.

Les résultats de notre étude ont montré deux plantes de cette famille *Rosmarinus officinalis* et *Thymus ciliatus* que le rendement de l'extrait que nous avons obtenu varie d'une plante à l'autre en raison de plusieurs facteurs différents. Ainsi, nous avons enregistré au niveau de l'extrait méthanolique le rendement le plus élevé (le meilleur résultat) d'environ 19,96 % par rapport au *T. ciliatus*, qui a enregistré un rapport de 17,01 %, suivi de l'extrait butanolique de 12,4 % avec le rapport de production le plus élevé plante de *Thymus ciliatus*, qui était inférieur d'environ 11,22 % , tandis que le rendement le plus bas a été enregistré par l'extrait de chloroforme dans la plante *R. officinalis* avec 4,36 % et 6,36 % pour le *T. ciliatus*.

Alors que la productivité de l'huile essentielle variait, le rapport de rendement était estimé à 0,94 % et 0,31 % respectivement *T. ciliatus* , *R. officinalis*. Ce ratio était moyen par rapport au rendement des autres paiements, qui étaient estimés à 0,41 % et 5,1 % respectivement.

Cet écart est dû à la différence de nombreux facteurs, dont le plus important est la région géographique et la technique d'extraction des huiles.

Dans une autre étude de ces extraits, il a été démontré qu'ils avaient une activité antioxydante très élevée, car les résultats de l'étude ont montré que les huiles essentielles et l'extrait méthanolique fournissaient la plus grande activité avec IC₅₀ (10,0 µg/ ml , 7,81 µg/ ml) pour le *T. Ciliatus* et *R. officinalis* respectivement, le moins actif a été enregistré par l'extrait aqueux, où il a été estimé à 82,64 µg/ ml , 84, 97 µg/ ml) respectivement.

Le test de l'activité antibactérienne des extraits et des huiles essentielles par la méthode de diffusion en milieu gélosé, a montré que les extraits de deux plantes *Thymus ciliatus* , *Rosmarinus officinalis* L. sont actifs vis-à-vis de certaines souches bactériennes, il est noté que

Conclusion

les bactéries les plus sensibles étaient du genre *S.aureus* et *E. Coli* pour le *Rosmarinus*, et *S.aureus* et *P. Aeurginosa* pour le *Thymus*.

Les résultats montrent que le meilleur effet remarque chez les huiles essentielles de *Thymus ciliatus* et *Rosmarinus officinalis* L. vis-à-vis de souche *E. coli*.

Le présent travail a pour but d'étudier l'effet de l'incorporation des huiles essentielles de deux aromates, à savoir le romarin thymus dans la formulation et la conservation d'un beurre raffiné.

Pour les analyses chimiques du beurre raffiné ils sont conformes aux normes fixés par la réglementation algérienne et celles mentionnées par d'autres chercheurs

L'analyse microbiologique du beurre incorporé est satisfaisante et ne présente aucune une pathogénicité particulière, donc il est de bonne qualité microbiologique.

Annexes

I. Matériel et appareillage de beurre



Figures: PH mètre .



Figures: Dessiccateur.

Matériel utilisé pour l'extraction des HE



Figures :hydrodistillation de type Clevenger



Figures: balance.



Figures: huile essentielle de *Thymus ciliatus*



Figures: huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.

L'extraits



Figures: filtration des extraites



Figures: Extrait aqueux.

Résultat

Tableau: caractéristique organoleptique de l'HE de *Rosmarinus officinalis*

	Aspect	Couleur	Odeur
HE obtenu <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Limpide	Presque incolore	Odeur forte (caractéristique fraiche)

Tableau : Caractère organoleptiques des HE de *T. ciliatus*

annexes

	Couleur	Aspect	Odeur
Huile essentielle de <i>Thymus ciliatus</i>	Jaune foncé	Liquide	Aromatique

Tableau: Résultat du rendement d'HE de *R.officinalis* et *T.ciliatus*

Les plantes	Méthode d'extraction	La masse de la matière végétale des plantes(g)	Rendements d'HE (%)
<i>R.officinalis</i> L.	Hydrodistillation	300	0,32
<i>T.ciliatus</i>		143	0,94

Tableau : Rendements des extraits de *R. officinalis* et *T. ciliatus*

Espèces végétales	Rendement des extraits (%)				
	Extrait brut	Extrait de chloroforme	Extrait d'acétate d'éthyle	Extrait butanolique	Extrait aqueuse
<i>R. officinalis</i>	19,96	4,36	8,4	12,4	10
<i>T. ciliatus</i>	17,02	6,36	10,36	11,22	12

Tableau °: Les différentes concentrations des extraits

Extrait	Concentration (mg/ml)
C1	16
C2	8
C3	4
C4	2

Les dilutions sont dissoutes dans le DMSO



Figures : Effet de l'extrait méthanolique de la plante *Rosmarinus officinalis* L sur les souches bactérienne testées en présence de différentes concentration d'extraits.

Tableau N°: Les concentration des extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Thymus ciliatus* qui inhibent 50% du radical DPPH.

Les type d'extraits	Aqueux	Méthanolique	HE
IC ₅₀ µg/ml de <i>R.officinalis</i>	84,97	7,81	43,45
IC ₅₀ µg/ml de <i>T.ciliatus</i>	82,64	19,06	10,09



Figures : Effet de l'extrait méthanolique de la plante *Thymus ciliatus* les souches bactérienne testées en présence de différentes concentration d'extraits.

Thymus (thym)

IC₅₀

Les extraits	AQUEX	Méthanolique	Huile essentielle
IC ₅₀	82,64	19,06	10,09

AQUEX

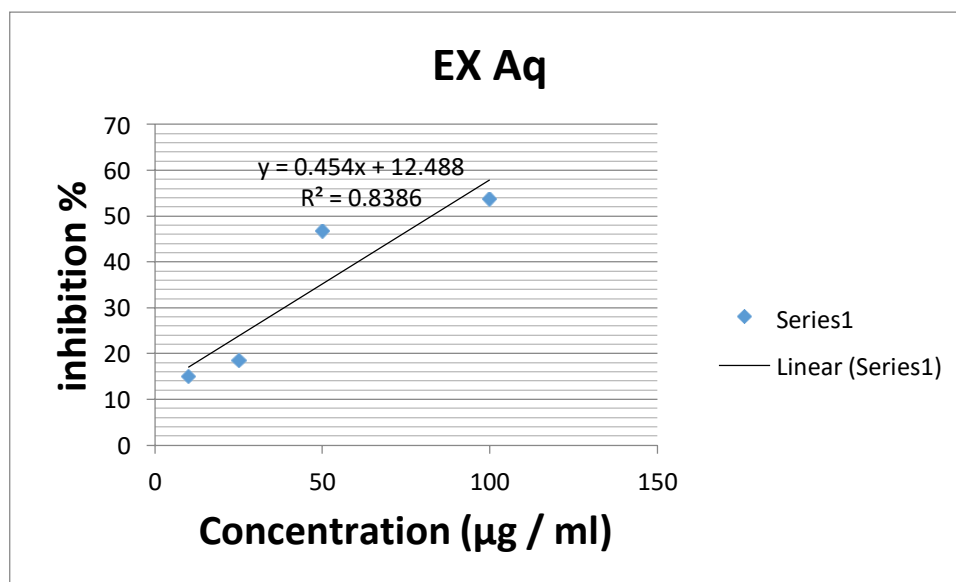


Figure : Courbe d'activité antioxydant de l'extrait aqueux de plante *Thymus ciliatus*

Méthanolique

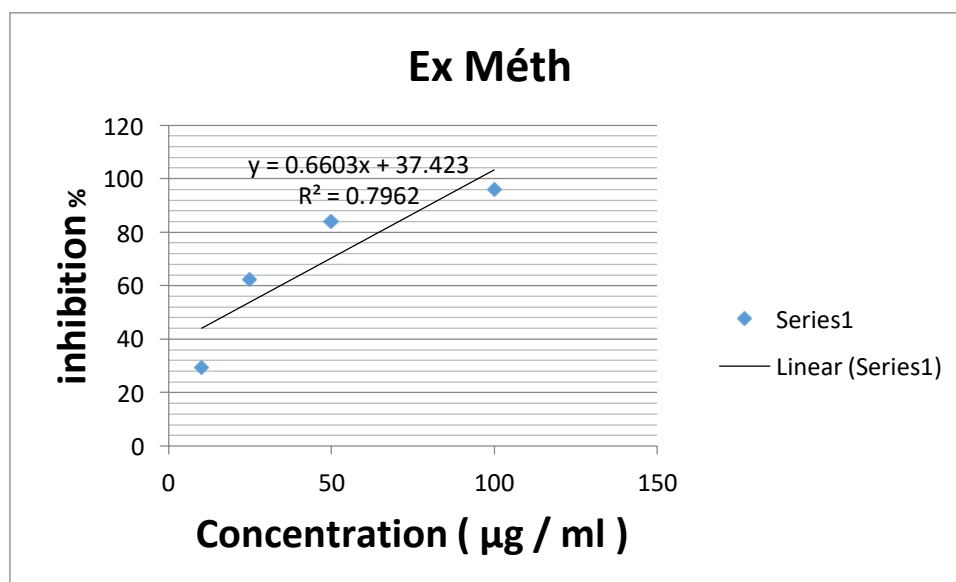


Figure : Courbe d'activité antioxydant de l'extrait méthanolique de plante

Huile essentielle

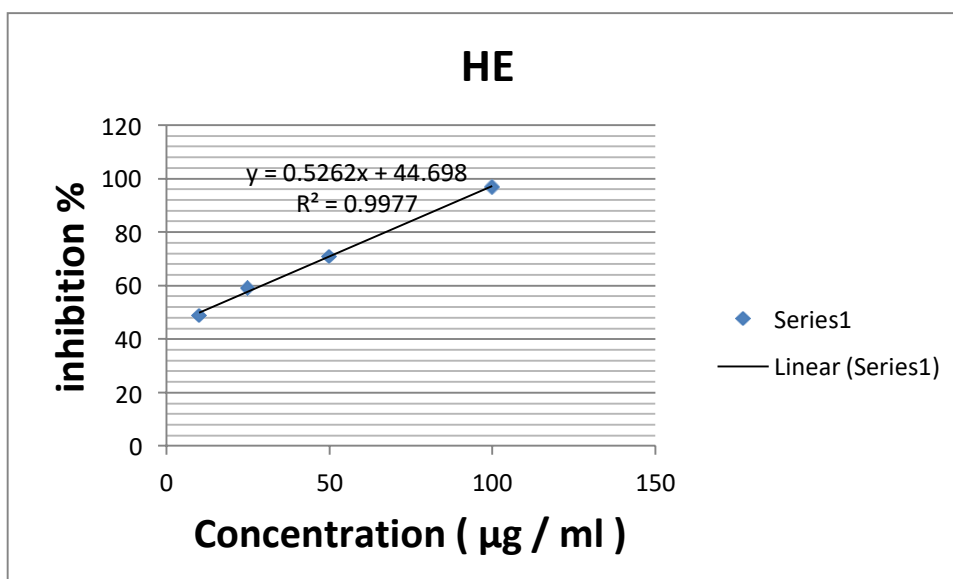


Figure : Courbe d'activité antioxydant de l'extrait d'huile essentielle de plante

Thymus ciliatus

***Rosmarinus officinalis* (Romarin).**

IC₅₀

Les extraits	AQUEX	Méthanolique	Huile essentielle
IC50	84,97	7,81	43,45

AQUEX

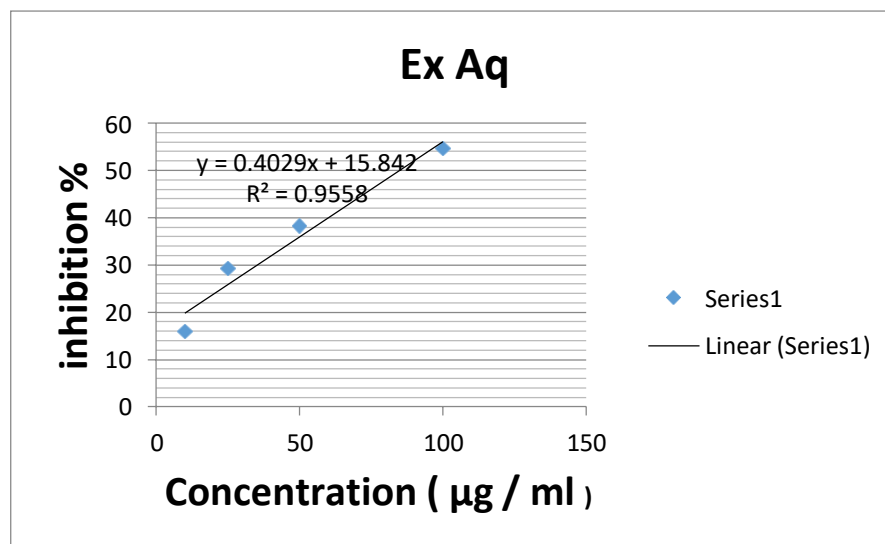


Figure : Courbe d'activité antioxydant de l'extrait aqueux de plante *Rosmarinus officinalis* L.

Méthanolique

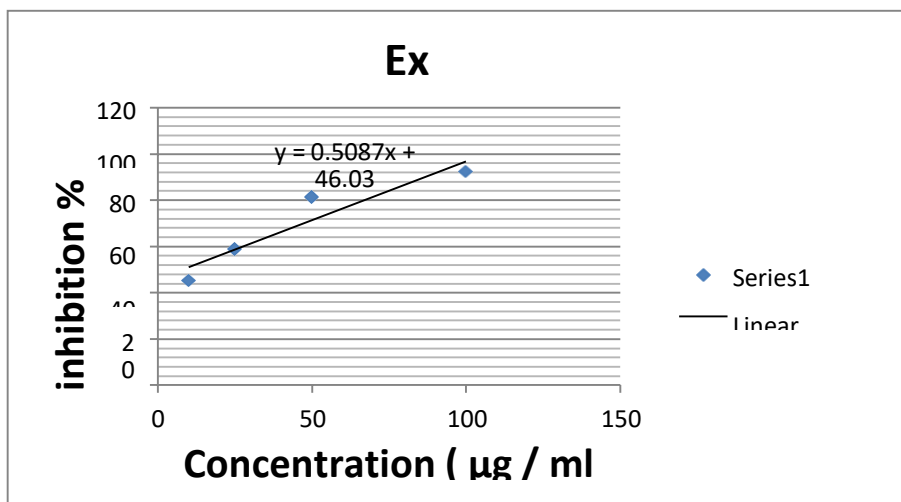


Figure : Courbe d'activité antioxydant de l'extrait méthanolique de plante *Rosmarinus officinalis* L.

Huile essentielle

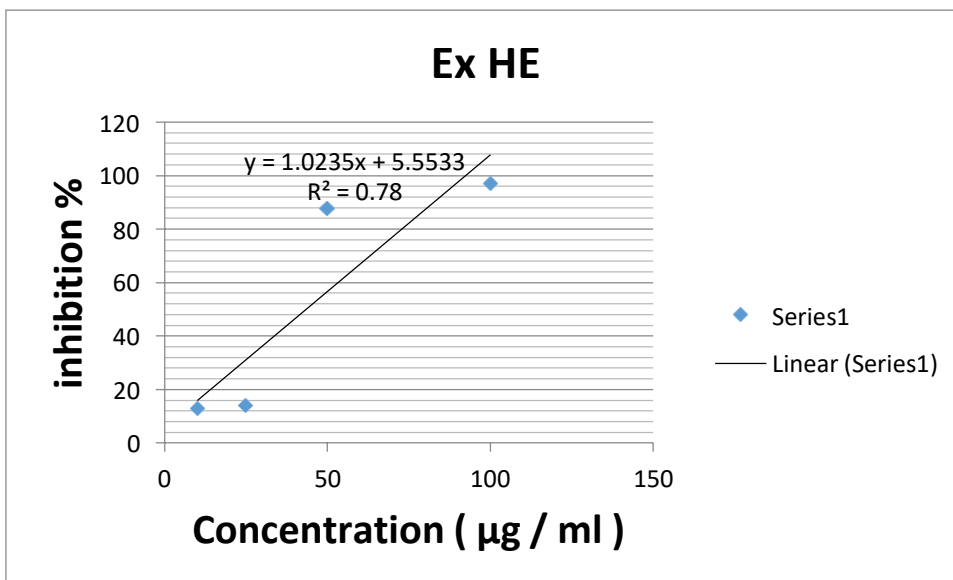


Figure : Courbe d'activité antioxydant de l'extrait huile essentielle de plante *Rosmarinus officinalis* L.

Références Bibliographiques

Référence

- **Adjoud, A. (2018).** Auto écologie et biologie de la conservation de phlomis crinite (Lamiaceae) des monts de tessala, Algérie occidentale. Thèse e doctorat troisième cycle. Univ.Sidi bel Abbes, P.3.
- **Alma-Ata, du 6 au 12 septembre, (1978);** Déclaration d'Alma-Ata a été établie à l'issue de la Conférence internationale sur les soins de santé primaires.
- **Amarti F., B. Satrani, M. Ghanmi, A. Aafi, A. Lotfi, M. El Ajjouri & A. Chaouch, 2010.-** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* et *Thymus ciliatus* du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **14** (1), 141-148.
- **Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. & Chaouch A. (2010).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus Algeriensis* boiss. Reut. Et *Thymus ciliatus* (desf) Benth. Du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **14(1): 141-148.**
- **Atik bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé.* 7: 6-11.2007.
- **Attoui A., Laouidji M., Torki L . (2022).** Incorporation de bioconservateur d'origine végétale dans la fabrication du beurre , universite mohamed boudiaf - m'sila/Algérie .
- **Banquour N.,** Etude de l'effet de thym (décoction) et son huile essentielle sur l'évolution de la flore microbienne et quelques paramètres chimiques du smen au cours de son évolution. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle en microbiologie, Université Cadi Ayed, faculté des Sciences, Marrakech, **1984.**
- **Bardeau F.,** La médecine par les fleurs. Ed. Robert Laffont, **1976.**
- **Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., Meier, C., Schumann, P., Peters, G., & von Eiff, C. (2004).** Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 4988-4995. doi : 10.1128/JCM.42.11.4988-4995.2004
- **Beloued, A.(2009).** Plantes médicinales d'Algérie, 5^{ème} Edition. office des publication Universitaires. Place centrale de Ben-Aknoun, 184p.
- **Beylier-Maurel F.,** Activités bactériostatiques des certaines matières premières de parfumerie. *Rivista Italiana EPPOS*, 58,p 238-286, **1976.**
- **Blois M.S., 1958.-** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1200.

Références Bibliographiques

- **Boelens M.H., 1985.** The essential oil from *Rosmarinus officinalis L.* *Perfumes Flavours*,
Vol. 5, N° . 10, P.P. 21–37.
- **Sara, B., Khadîdja, C.,(2021)** Extraction et étude comparative des huiles essentielles et des extraits de deux plantes aromatiques de la famille des lamiacées.
- **Boukhatem, M.N., kameli, Ferhat, MA.,Saidi, F., Tayebi, H., D. 2014.** Valorisation de l'essence aromatique de Thym (*ThymusVulgaris L.*) en aromathérapie anti-infectieuse. *IJIAS ;8(4) : 1418-1431*
- **Boukrif, R., Boukabous, S.,(2014)** Etude de l'activité antibacterienne de *Thymus Vulgaris*
- **Bounatirou S., Smiti S., Miguel M. G;, Faleiro L., Rejeb M. N., Neffati M., costa M. M.,Figueiredo A. C., Barroso J. G. & Pedro L. G; (2007).** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activités of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. *Food chemistry*, **105**: 146-155.
- **Bousmaha-Marroki L., Atik B.F., Tomi F. & Casanova J. (2007).** Chemical position and antibacterial activity of the essential oil of *Thymus ciliatus* (Desf). Benth. ssp. *Eu-ciliatus* Maire from Algeria. *Journal of Essential oil research*, **19(5)**: 490-493.
- **Boutonnier, J.L.,(2007).** Matière grasse laitière – crème et beurre standard. Villefranchede-Rouergue, France : Techniques de l'ingénieur, p. 1-16.
- **Bruneton J. ;** Huile essentielle, In *Pharmacognosie – Phytochimie plantes médicinales*. 3^{ème} éd. Doc. Et Tec. Lavoisier, **1999**.
- **Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales* : Technique et documentation Lavoisier.
- **Bukar, A., Uba A., Oyeyi T., (2010).** "Antimicrobial profile of *Moringa oleifera* Lam. extracts against some food–borne microorganisms." *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 3(1) :43-48
- **Busta F. ; Foegeding P.M.,** *Chemical food preservatives in S. block* : «

Références Bibliographiques

Desinfection, sterilization and preservation ». Lea and Febiger Ed., p 256-694, **1983**.

- **Carrée, P., (1953)**. Précis de technologie et de chimie industrielle. Paris, Ballière, Pp. 475.
- **Carrée, P., (1953)**. *Précis de technologie et de chimie industrielle*. Paris, Ballière, Pp. 475.
- **Catier.O . ;Roux.D. , (2007)**. Botanique Pharmacognosie Phytothérapie ,3^{ème}édition, Wolters Kluwer, p74.
- **Chiej R. ;** Les plantes médicinales. Ed. Solar, **1982**.
- **Chu C. J et Kemper, K. j. (2001)**. Lavender (*Lavandula spp.*). Longwood Herbai Task Force. P. 32.

Références Bibliographiques

- **Couplan, F. (2009).**le régale végétal : plantes sauvages comestibles. Sang de la terre.2éd, paris .404 p :370.
- **Couvreur, S., Hurtaud, C.,(2007).** le globule gras du lait : sécrétion, composition, fonction et facteuers de variation. INRA Production Animales 20:365-382.
- **Crozier, A. 2003.** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In Plants” Diet and Health”. Ed. Goldberg.P: 27- 48.
- **Dacosta Y.** Les phytonutriments bioactifs : 669 réfeerences bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, paris, **2003**, p. 317.
- **De Bouchebreg M.S. ; Allegrini J. ; Bessvere C. ; Ahisso M. ; Passet J. ; Granger R.,** Propriétés microbiologiques des huiles essentielles se chimiotype de *Thymus vulgaris linnalus*. Rivista Italiana EPPOS, P 58-527-536, **1976**.
- **Derbel, S.,Ghedire,K.** 2005. Les phytonutriments et leur impact sur la santé, Phytothérapie.1, P:28-34.
- **Djamel eddin, A., Bekhechi ch. 2010.** Les huiles essentielles. Office de publication Universitaires, 11p.
- **EL OUALI LALAMI, A.,, EL-AKHAL, F., OUEDRHIRI W., OUAZZANICHAHD,I F., GUEMMOUH, R., GRECHE, H.,LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE - 2013,** Volume 8, N°31Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulagris* et *Thymus satureioïdis*
- **Eltouassi, N. (2004)** Elaboration de procédés biotechnologiques pour la valorisation du romarin (*Rosmarinus officinalis*). Université Sidi Mohamed Ben Abdellah,57
- **Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., & Rachiq, S. (2015).** Optimisation des paramètres influençant l’hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. by response surface methodology. *J. Mater. Environ. Sci*, 6(8), 2346-2357.
- **Fadili, K., Amalich, S., N’dedianhoua, S. K., Bouachrine, M., Mahjoubi, M., El Hilali, F., & Zair, T. (2015).** Teneurs en polyphénols et évaluation de l’activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides* [Polyphenols content and antioxidant activity of two species from Moroccan High Atlas: *Rosmarinus officinalis* and *Thymus satureioides*]. *International journal of innovation and Scientific Rechearch*, 17(1), 24-33.

Références Bibliographiques

- **FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Rome. p209-211.
- **Favier A.** Stress oxydant et pathologie humaines. *Ann. Pharm. Fr.* **2006**; 64: 390-396.
- **Fernandez, X.;** Chemat, F . et Tiên Do, T.K. «*Les huiles essentielles – vertus et application* »; Ed, Vuibert, Paris **2012**, p.160.
- **François Couplan**, les plantes et leur noms : Histoires insolite, Éditions Quae, 2012, p.120
- **Fredot, E., (2005).** Connaissance des aliments, bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Paris: TEC & DOC, Lavoisier, p. 295-304.
- **From, C., Pukall, R., Schumann, P., Hormazabal, V., & Granum, P. E. (2005).** Toxin-producing ability among Bacillus spp. outside the Bacillus cereus group. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(3), 1178-1183. doi : 10.1128/AEM.71.3.1178-1183.2005
- **Garnero J., (1975).** Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention, du contrôle et de l'étude de la composition des huiles essentielles. *Journ"e de dermato-pharmacie (Naice)*, 105-126.
- **Gildemeister E. et Hoffmann FR., 1912:** Les huile essentielles. 2^{ème} Edition. Edition Schimmel & Cie , Miltitz près Leipzig.
- **Giordani R., Hadeff Y. & Kaloustina J (2008).** Composition and activities of essential oils of some Algerizn aromatic plants. *Fitoterapia*, **79**: 199-203.
- **Grayer R. J., Eckert M. R., Veitch N. C., Kite G. C., 2003.** The chemotaxonomic significance of two bioactive caffeic acid esters, Nepetoidins A and B, in the Lamiaceae. *Phytochemistry*, 64, 519-528.
- **Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques,(2002).**Transformer les produits laitiers frais à la ferme, éd. Educargri, p. 103, 104, 105,109.
- **Guignard J. L., Pelt J. M., 2001.** Boutanique moleculaire. 12e edition. Masson, Paris
- **H. Bremer et P.P. Dennis**, modulation of chemical composition and other paramteres of the cell by growth rate , dans F.C Neidhardt, R Curtiss, III, J. l Ingraham, E. C. Clin, k. blow, B Magasanik, W,S Reznikoff, M riley, M shaechter et H.E Umbarger. *Escherichia coli and Salmonella typhimuriumcelluar and Molecular Biology*, Washington, DC, ASM press, 1996, p.1553-1569.
- **Hardman, W. E. (2014).** Diet components can suppress inflammation and reduce cancer risk. *Nutrition research and practice*, 8(3), 233-240.

Références Bibliographiques

- **Heywood V . H., Brumitt R. K., Culham A., Seberg O. 2007.** Flowering plant families of the world. Royal botanic Gardens,Kew.
- **Heywood V . H., Brumitt R. K., Culham A., Seberg O. 2007.** Flowering plant families of the world. Royal botanic Gardens,Kew.
- **Ismaili Allaoui M.:** Pouvoir antiseptique de l'huile essentielle de thym sur les micro-organisme du smen. Mémoire de fin d'étude, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, rabat, **1983**.
- **Jamzad Z, Ingrouille and Simmonds MSJ, (2003).** Three new species of Nepta (lamiaceae).Taxon.
- **Jeanter, R., Croguennec, T., Schuckm P., Brule, G., (2008).** Science des aliments: tome 2, technologie des produits alimentaires. Paris : Tec & Doc, Lavoisier, p. 58- 59.
- **Kabouche, A. (2005).**Etude phytochimique de la plantes médicinales appartenant à la famille des lamiaceae, université de Constantine, p.18.
- **Kabouche, A. (2005).**Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la familles des lamiaceae, université de Constantine, p.18.
- **Kanafani-Zahar, A., (1994).** *Mūne: la conservation alimentaire traditionnelle au Liban:* Maison des Sciences de l'Homme
- **Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., & Zingernagel, R. M. (Eds.). (2001).** Medical Microbiology (10th ed.). Stuttgart, Germany : Georg Thieme Verlag.
- **Keogh, M.K., (2006).** Advanced Dairy Chemistry, Chemistry and technology of better and milk fat spreads. 3emeEdition. Cork, Ireland: Springer Science, University College, Vol. 2 p. 333-355
- **Khaoula, Rehamnia Yamina Khlaifia, and Messioud Wafa.** "Contribution à l'étude de l'activité acaricide des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. et *Lavandula stoechas* L. contre les tiques de genre Rhipicephalus sp." **(2015)**.
- **Kholkhal F. (2004).** Etude phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus ssp. colorants et ssp. eu-ciliatus*. Thèse de doctorat en Biologie. *Université de Tlemcen*. 200 pages.
- **Kluytmans, J., Van Belkum, A.,&Verbrugh, H. (1997).** Nasal carriage of *staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *ClinicalMicrobiologyreviews*, 10(3), 505-520

Références Bibliographiques

- **Koehilin-Ramonatxo C., 2006.** Oxygen oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et métabolique*, Vol. 20, P.P. 165–177.
- **Kornacki, J.L., Flowers, R.S., Robert, L., Bradley, J.R., (2001).** Microbiology of butter and related products. Dans: MARTH E.H., STEELE J.L. Applied dairy Microbiology, 2eme edition, revised and expanded, p.128.
- **Kurita N. ; Koïke S.:** Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils componements . *Agric. Biol. Chem.*, p 46-159-165, **1982**.
- **Lacolly ; P. (2007)** biologie et pathologie du cœur des vaisseaux. John libbey eurotext .léd. paris .401p :318.Lt-Colonel ,H ; et Balouk,A .(2011) Les plantes aromatiques et médicinales le Centre de Recherche Forestière et l'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques , Maroc .68p : 22.
- **Lahlou, Mouhssen., (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother Res*; 18: 435-48.
- **LATRECHE, B., KACI, A. A., & BAYA, A. (2021).** *Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de Thymus vulgaris* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
- **Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003).** *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Resarch* :GMR, 2(1), 63-76.
- **Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003).** *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research* : GMR, 2(1), 63-76.
- **Lee ,A. (2005).** Identification of volatilscomposants in basil (*ocimumbasilicum* L.) and thym leaves (*thymus vulgaris* L.) and their antioxydante proprieties- food chemistry ,vol 91 ,page 131-137 ,2005.
- **Leila, B. E. L. B. E. Y.** *Activité antioxydante de Rosmarinus officinalis L., et son in vitro effet sur Penicillium digitatum.* Diss. Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, **2013**.
- **Leplat, M. (2017).** Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale.
- **Leplat, Marion.** "Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale." (2017): 227.

Références Bibliographiques

- **Lequellec, J.L., Treal, C., Ruiz, J.M. ,(2006).** *Maisons du Sahara: habiter le désert*, Hazan, Paris, p.180.
- **Liu, P. V. (1974).** Extracellular toxins of *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of Infectious Diseases*, 130 Suppl(0), S94-9.
- **Logan, N. A., & Rodrigez-Diaz, M. (2006).** *Bacillus spp. and Related Genera*. In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), *Principles and Practice of Clinical Bacteriology* (2nd ed., pp. 139-158). West Sussex, England, UK : John Wiley and Sons Ltd.
- **Madjour, S. (2014).** Etude phytochimique et evaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *Rosmarinus officinalis*. Thèse Master. Université Mohamed Khider Biskra. P :45.
- **Makhloufi, A., (2013).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru.
- **Makhloufi, K. M. (2010).** *Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique Leuconostoc pseudomesenteroides isolée du boza*, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.
- **Mebarki, N.,** Extraction de l'huile essentiel de *Thymus fontanesu* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse antimicrobienne. 2010.« Bacteria-Diversity of structure of bacteria », *surencyclopedia Britannica* (consultéle 17 septembre 2020)
- **Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P. et Surbel, D.,** 1996. Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». Ed INRA.P: 31-35.
- **Mostefai, A. (2012).** Contribution à une étude morphométrique de *Rosmarinus officinalis* L (Lamiacées) dans la région de Tlemcen. *Mémoire de master Univ. Abou Bakr Belkaid. Tlemcen.*
- **Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017).** Evaluation de l'activité ntibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis* l. *Revue Agrobiologia*, 7(1), 363-370.
- **MOUAS, Y., BENREBIHA, F., CHAOUIA, C.,** évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis*l.*revue agrobiologia* (2017) 7(1): 363-370

Références Bibliographiques

- **Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., & Pfaller, M. A. (Eds.). (2007).** Manual of Clinical Microbiology (9th ed.) American Society of Microbiology Press.
- **Nassima, B. O. U. C. H. E. L. O. U. K. H., & Takia, K. A. D. J. A. (2019).** *Etude botanique et phytochimique de la plante médicinale Rosmarinus officinalis L* (Doctoral dissertation, Abdelhafid Boussouf University centre-Mila).
- **Nv(2014).**, Thymus ciliates, www.pepenier-bretagne.fr
- **OUTALEB, Tydia.** *Extraits de romarin d'Algérie (Rosmarinus officinalis L. et Rosmarinus tournefortii De Noe)*. Diss. ENSA, **2016**.
- **Padrini F. ; Lucheroni M. T.:** Le grand livre des huiles essentielles. Ed. de Vecchi, **1996**.
- **Pellecuer J. ; Allegrini J. ; De Boucheberg M.S.:** huiles essentielles bactéricides et fongicides. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon, p 135-159, **1976**.
- **Ponce A.G., Fritz R., del Valle C.E.&Roura S.I.,** 2003-Antimicrobial activity of essential oils on the motile microflora Of organic Swiss chard. *Lebensmittel .wissenschaft Und-Technologie*,36: 679-686
- **Quézel, P. and S., Santa, 1962-1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et de régions désertiques méridionales. 2 vol. ED. C.N.R.S, Paris.
- **Quézel, P. et Santa. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tom II. Ed. C.N.R.S. Paris. P603,781-793.
- **Ramon Morales,** « the history, botany and taxonomy of the genus », Medicinal and aromatic plants-Industrial Profiles: The genus *Thymus*, 2002, P.26
- **Raven.P.H ; Evert R.F ; Eichhorn.S.E .,** (2003).Biologie végétale, p32,527,(2003).
- **Ray, C. G. (2004).** Enteric Infections and Food Poisoning. In K. J. Ryan, & C. G. Ray (Eds.), Sherris Medical Microbiology (4th ed., pp. 857-865). USA : Mcgraw Hill.
- **Richard, H.,Benjilali, B., Baouquor, N.,Barिताux, O. 1985.** Etude de diverses huiles essentielles de Thym du Maroc. *Lebensm-wiss v-technol*
- **ROUANA, S., & BOUDOOR, H. (2020).** *Etude de l'activité antioxydante de quelques composés de synthèse organique* (Doctoral dissertation, University of Jijel).
- **Rubin M. ; Messali J.P.:** Abrégé de phytothérapie pratique. Ed. Doin, **1988**.
- **S.benbrinis,** Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de Santolina chamaecyparissus. Thèse de magister, université Ferhat Abbas-setif, **2012**.

Références Bibliographiques

- **Saidj F.** Extraction de l'huile essentielle de Thym : *Thymus numidicus* kabylica - thèse de magistère en technologie des hydrocarbures, Département génie des procédés chimiques et pharmaceutiques ; université M'hamedbougara-Boumerdes, 2006
- **Sanchez-Moreno C., 2002.** - Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. food sci. Technol.*, **8**, 121-137.
- **Sanon E., (1992).** Arbre et arbrisseaux en Algérie O.P.U. Ben Aknoun. Algérie N°686 Alger. 121p.
- **Sara, B., & Khadîdja, C., (2021).** Extraction et étude comparative des huiles essentielles et des extraits de deux plantes aromatiques de la famille des lamiacées.
- **Sara, Bouabdallah, and Cherrati Khadîdja.** "Extraction et étude comparative des huiles essentielles et des extraits de deux plantes aromatiques de la famille des lamiacées."
- **SARA, Bouabdallah; KHADÎDJA, Cherrati.** Extraction et étude comparative des huiles essentielles et des extraits de deux plantes aromatiques de la famille des lamiacées.
- **Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V.** 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. P: 02-11.
- **Seignalet, J. (2004)** l'alimentation ou la troisième médecine . (O.E.I.L.) François-Xavier de Guibert, 5^{éd.} Paris .660p : 145.
- **T. Persson., B. O. Popescu, A. cedazo-Minguez,** Oxidative Stress in Alzheimer's- Disease: Why Did Antioxidant Therapy Fail? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2014**, 1–11.
- **Telphon T. ;** Auteur de l'ABC des huiles essentielles. Ed. Grancher, **2003**.
- **V.Lobo., A.Patil., A.Phatak, N.Chandra,** Free radicals, antioxidants and functional foods. Impact on human health, *V 4(8)*. **2010**, 118-126.
- **Valent J.:** Aromathérapie – Traitement des maladies par les essences des plantes. Ed. Maloine S.A., n°10, 1984.
- **Veisseyre, R., (1975).** Technologie du lait, 3^{ème} édition. Paris : la maison rustique, p. 342-397.
- **W. Droge,** free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological review*, **2002** , 82; 47.

Références Bibliographiques

- **Alma-Ata, du 6 au 12 septembre, (1978)**; Déclaration d'Alma-Ata a été établie à l'issue de la Conférence internationale sur les soins de santé primaires.
- **Ibrahim, H., (2013)**. Etude de l'activité biologique de certaines plantes de la famille orale et de l'activité contre l'oxydation, Faculté des Sciences, Techniques et Sciences des Matériaux, Université de Kasdi Merbah, Ouargla P. 109

Site

- **Aggarwal B.B et Ajaikumar B.K (2009)**. « Molucular target and therapeutic uses of spices), moderne uses for ancient médecine, ed.word scientific 430 p. 52-
<https://www.graines-semances.com/plantes-aromatique-etmédicinales/274-romarin-officinal-50-graines-5420027417868.html>.
- **Skafia-Crete.Com**, Sit internet <http://www.skafia-crete.com/skafia-crete/herbs-plants-floracrete.html>, consulté le 9avril 2018.
- **Paul A. ,(2010)**. beurre et fractions de matière grasse laitière, Dans: VINGOLE C.L. Science et Technologie du lait, presses polytechnique, n°5, p. 323-347.

Site 1 : https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-41661-4_21

Résumé

Les plantes constituent une grande source d'antioxydants naturels pour l'industrie agroalimentaire. L'oxydation de la matière grasse est probablement la transformation chimique causant le problème majeur en technologie laitière surtout dans le beurre en raison de sa teneur élevée en matière grasse. L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût et aromatiser les aliments, elles possèdent aussi des profils de composition chimique différents permettant de les utiliser comme agents naturels de conservation des aliments.

Rosmarinus officinalis et *Thymus ciliatus* plante médicinale appartenant à la famille des *lamiacée*, utilisée en médecine traditionnelle pour ses divers effets thérapeutiques

Notre étude vise à l'incorporation des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et *Thymus ciliatus* pour une aromatisation et bio-conservation du beurre industriel raffiné qui rentre dans l'innovation des produits alimentaires. Pour ce faire L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation, le rendement obtenu est équivalent à (*Rosmarinus*,0.32% et *Thymus*,0.94%). L'activité antioxydant des huiles extraites a été étudiée par le test de DPPH°, les résultat de cette activité du *Thymus* ($IC_{50}=82,64\mu\text{g/ml}$ et $IC_{50}=19,06\mu\text{ g/ml}$ et $IC_{50}=10,09\mu\text{ g/ml}$ pour l'extrait aqueux, Méthanolique et HE) et de *Rosmarinus officinalis*($IC_{50}=84,97\mu\text{ g/ml}$ et $IC_{50}=7,81\mu\text{ g/ml}$ et $IC_{50}=43,45\mu\text{ g/ml}$ pour l'extrait aqueux, Méthanolique et HE(respectivement) .Les flavonoïdes pour la fraction acétate d'éthyle qui a été élevé.

L'activité antimicrobienne réalisé sur les quatre souche : *Bacillus Cerus* et *Escherichia coli*, *pseudomonas aeurginosa* ,*Staphylococcus aureus* ,les résultats indiquent que les huile essentiels de plante possède une bonne activité contre les bactéries testées ,l'activité le plus élevée dans les deux extrait méhtanolique montre chez *Staphylococcus aureus* ,et le plus moins chez *Escherichia coli*.

Mots clés: *Rosmarinus officinalis* , *Thymus ciliatus* , beurre , huile essentielle , plante médicinale , activité antioxydant , activité antimicrobienne.

ABSTRACT

Plants are a great source of natural antioxidants for the food industry. Fat oxidation is probably the chemical transformation causing the major problem in dairy technology especially in butter due to its high fat content. The food industry uses essential oils to enhance the taste and flavor of foods, they also have different chemical composition profiles allowing them to be used as natural food preservatives.

Rosmarinus officinalis and *Thymus ciliatus* medicinal plant belonging to the Lamiaceae family, used in traditional medicine for its various therapeutic effects

Our study aims at the incorporation of essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Thymus ciliatus* for aromatization and bio-conservation of refined industrial butter which enters into the innovation of food products. To do this, the essential oil was extracted by hydrodistillation, the yield obtained is equivalent to (*Rosmarinus*, 0.32% and *Thymus*, 0.94%). The antioxidant activity of the extracted oils was studied by the DPPH° test, the results of this *Thymus* activity ($IC_{50}=82.64\mu\text{g/ml}$ and $IC_{50}=19.06\mu\text{ g/ml}$ and $IC_{50}=10.09\mu\text{ g/ml}$ for the aqueous extract, Methanolique and HE) and of *Rosmarinus officinalis* ($IC_{50}=84.97\mu\text{ g/ml}$ and $IC_{50}=7.81\mu\text{ g/ml}$ and $IC_{50}=43.45\mu\text{ g/ml}$ for the aqueous extract, Methanolique and HE (respectively).The flavonoids for the ethyl acetate fraction that was elevated.

The antimicrobial activity carried out on the four strains: *Bacillus Cerus* and *Escherichia coli*, *pseudomonas aeurginosa*, *Staphylococcus aureus*, the results indicate that the plant essential oils have good activity against the bacteria tested, the highest activity in the two extracts methanol shows in *Staphylococcus aureus*, and least in *Escherichia coli*.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* , *Thymus ciliatus* , butter , essential oil , medicinal plant , antioxidant activity , antimicrobial activity

الملخص :

تعتبر النباتات مصدرا كبيرا لمضادات الأكسدة الطبيعية لصناعة الأغذية. من المحتمل أن تكون أكسدة الدهون هي التحول الكيميائي الذي يسبب مشكلة كبيرة في منتجات الألبان خاصة في الزبدة بسبب محتواها العالي من الدهون. تستخدم صناعة المواد الغذائية الزيوت الأساسية لتعزيز طعم ونكهة الأطعمة ، كما أن لها سمات تركيب كيميائية مختلفة تسمح باستخدامها كمواد حافظة طبيعية للأغذية.

نباتات إكليل الجبل و الزعتر الطبية التي تنتمي إلى عائلة ثنائية الفلقة ، وتستخدم في الطب التقليدي لتأثيراتها

العلاجية المختلفة.

تهدف دراستنا إلى دمج الزيوت الأساسية من إكليل الجبل و الزعتر من أجل النكهة والحفاظ الحيوي للزبدة الصناعية المكررة التي تدخل في ابتكار المنتجات الغذائية. للقيام بذلك ، تم استخلاص الزيت العطري بالتقطير المائي ، وكان الناتج يعادل (إكليل الجبل 0.32% الزعتر 0.94%). تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت المستخلصة باختبار ° DPPH ، ونتائج نشاط الزعتر ($IC_{50} = 82.64$) ميكروغرام / مل و $IC_{50} = 19.06$ ميكروغرام / مل و $IC_{50} = 10.09$ ميكروغرام / مل للمستخلص المائي ، *Methanofique* و *HfE* (و إكليل الجبل $IC_{50} = 84.97\mu$) جم / مل و $IC_{50} = 7.81\mu$ جم / مل و $IC_{50} = 43.45\mu$ جم / مل للمستخلص المائي ، *Methanofique* و *HfE* على التوالي). كان هذا مرتفعاً. تم إجراء النشاط المضاد للميكروبات على السلالات الأربعة *Bacillus Cerus* : و *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *pseudomonas aeurginosa* وتشير النتائج إلى أن الزيوت الأساسية للنبات لها نشاط جيد ضد البكتيريا المختبرة وأعلى نشاط في المستخلصين يظهر الميثانول في *Staphylococcus aureus* والأقل في *Escherichia coli*.

الكلمات المفتاحية : *Thymus ciliatus* ، *Rosmarinus officinalis* ، زبدة ، زيت عطري ، نبات طبي ، نشاط

مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للميكروبات