

République Algérienne démocratique et Populaire  
**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique**

**Thèse**

Présentée à

**L'UNIVERSITE ABOUBAKER BELKAID**

**Faculté des sciences**

**LABORATOIRE PRODUITS NATURELS**

**PAR MR : MAKHLOUFI AHMED**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTORAT D'ETAT EN BIOLOGIE**

Spécialité : Microbiologie et sécurité sanitaire des  
aliments

**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.**

Soutenue –Le :.....

Devant la commission d'examen formée de

<b>Mr: Chaabane sari D</b>	Professeur à l'université de Tlemcen	<b>Président</b>
<b>Mr : Abedelouahid D.E</b>	Professeur à l'université de Tlemcen	<b>Examineur</b>
<b>Mr : Meddah B</b>	Professeur à l'université de Mascara	<b>Examineur</b>
<b>Mr : Bahri F</b>	Maitre de conférences (A) à l'université de Mostaganem	<b>Examineur</b>
<b>Mr :Moussaoui A</b>	Professeur à l'université de Bechar	<b>Encadreur</b>
<b>Mr : Lazouni H A</b>	Maitre de conférences (A) à l'université de Tlemcen	<b>co- Encadreur</b>

## **Remerciements**

*A* vant tout, mes remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant » de m'avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.

Au moment où s'achève ce travail, permettez-moi de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de thèse, m'ont dirigée, soutenue, aidée et encouragée.

Tout d'abord, je tiens particulièrement à remercier mon directeur de thèse, le Professeur Moussaoui A de l'université de Bechar, pour m'avoir accueilli au sein du Laboratoire valorisation des ressources végétale et sécurité alimentaire dans les zones semi aride Université de Béchar, pour m'avoir fait confiance, m'avoir encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté. Pour son soutien et sa grande générosité, tout le long de mon travail de thèse, qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Je remercie sincèrement Monsieur le Docteur Lazouni H A mon co- directeur de thèse, MCA à l'université de Tlemcen, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail tout au long de ces années. Ses conseils et ses commentaires mais aussi sa bienveillance et son humour auront été fort utiles, qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur Chaabane sari D, de l'université de Tlemcen d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance de thèse. J'aimerais également remercier Monsieur le Professeur Abdelouahid D.E de l'université de Tlemcen pour leurs conseils très précieux et leurs encouragements ,Monsieur le Professeur Meddah B de l'université de Mascara, ainsi que le Docteur Bahri F ,MCA à l'université de Mostaganem pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, pour avoir accepté d'en être rapporteurs et surtout pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail.

Je remercie tous ceux sans qui cette thèse ne serait pas ce qu'elle est : aussi bien par les discussions que j'ai eu la chance d'avoir avec eux, leurs suggestions ou contributions.

J'adresse de sincères remerciements à tous mes collègues et amis du laboratoire : Bouyahyaoui et Belarbi, Mebarki, Boussouar, Belloufa et Maazouzi,... et les autres, et tous sans oublier mes étudiants de magistère, de PFE . Merci à tous pour leur amitié et pour leur aide précieuse.

Je tiens enfin à redire le plaisir que j'ai eu à travailler au sein Laboratoire LAPRONAT de l'université de Tlemcen, et j'en remercie ici tous les membres.

Enfin, pour leur soutien sans faille et permanent, je tiens à remercier de tout cœur mon épouse, mes parents, mes frères, pour son amour et sa compréhension.

---

## Résumé



ce travail s'intéresse à la valorisation de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L.) par l'études de leurs activités antimicrobienne et anti-oxydante et de leurs impacts sur la conservation du beurre et des dattes. L'activité anti-oxydante par le test du DPPH a montré que les H.E des deux plantes ont un pouvoir antioxydant (RSA % >à 84,5%) meilleur que celui des extraits (RSA % >à 79,6%). L'activité antimicrobienne a été étudiée vis-à-vis de six souches bactériennes et six souches fongiques. L'activité antibactérienne d'H.E de *R. officinalis* L. est meilleure comparativement à celle de *M. pubescens* (Desf.), avec une zone d'inhibition maximale de 30,5 mm pour *E. faecalis* avec l'H.E de *R. officinalis* L. En outre, les H.E des deux plantes exercent une activité antifongique remarquable. *A.niger* est la souche la plus sensible avec diamètre d'inhibition de 37 mm avec l'H.E de *M. pubescens* (Desf.).

Les caractéristiques morphologiques et physicochimiques des dattes, montrent que deux variétés sont des fruits demi-molles, de poids et de dimensions importants. Elles renferment une humidité de 24,4% et 21,90%, une acidité de 0,19 et 0,21% respectivement pour les variétés Feggous et Cherka, et un pH légèrement acide. Les deux variétés renferment un taux des sucres totaux qui dépasse les 70%, un taux de protéines supérieur à 5,36%. Les analyses microbiologiques des dattes montrent l'existence d'une flore aérobie totale, une flore fongique dominée par *Penicillium* et *Aspergillus*, et l'absence de souches pathogènes.

Par ailleurs, la conservation des dattes et du beurre par *R. officinalis* L, *M. pubescens* (Desf.)et / ou leurs H.E, a été suivi à une période allant de 15 Octobre 2009 jusqu'au 16 Mai 2010. Les résultats obtenus montrent qu'il y a une diminution de l'humidité, du pH, une légère augmentation de l'acidité et une réduction considérable de la flore microbienne. Ainsi, les résultats des analyses sensorielles montrent l'acceptabilité des produits conservés avec appréciation des dattes et du beurre avec H.E.

**Mots clés :** Dattes, Beurre, Conservation, *Rosmarinus officinalis* L., *Matricaria pubescens* (Desf.), Activité antimicrobienne, Anti-oxydante, Analyse sensorielle.

---

## Abstract

This work focuses on the valorization of two medicinal plants growing wild in Bechar region (*Matricaria pubescens*(Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L.) by studying their antimicrobial and antioxidant activities and their impacts on preservation of butter and dates. Antioxidant activity using DPPH test showed that the essential oil of the two plants have an antioxidant activity (RSA% > 84,5%) better than that of extracts (RSA% > to 79,6%). Antimicrobial activity was tested against six strains of bacteria and six fungal strains. Antibacterial activity of *R. officinalis* L. essential oil is better than *M. pubescens* (Desf.), with a maximum inhibition zone of 30.5 mm for *E. faecalis* with *R. officinalis* L. essential oil. In addition, the essential oil of the two plants have a remarkable antifungal activity. *A.niger* is the most sensitive strain with inhibition diameter of 37 mm with *M. pubescens* (Desf.) essential oil.

Morphological and physicochemical characteristics of dates show that both varieties are semi-soft fruit, with important weight and dimensions. The moisture content is about 24.4% and 21.90%, acidity 0.19% and 0.21 respectively for the varieties Feggous and Cherka, and a slightly acidic pH. The rate of total sugars, proteins exceeds 70% and 5% respectively for both varieties. The ash is similar for both varieties (1.69% Cherka) and (1.72% Feggous). About the fat is 0.1% (Cherka) and 0.15% (Feggous). Microbiological analysis showed the presence of coliforms, total aerobic mesophilic flora, a fungal flora including *Penicillium* and *Aspergillus* genus are the most dominant and the absence of pathogens strains.

Moreover, the conservation of dates and butter *R. officinalis* L, *M. pubescens* (Desf.) et /or their essential oil was followed by interval of 15 days in a period stretching from 15 October 2009 to 16 May, 2010. The obtained results show that there is a decrease of the humidity, the pH, a light increase of the acidity and a reduction of the microbial flora. On the other hand, the results of the sensory analyses show the acceptability of preserved products with appreciation of dates and butter with essential oil.

**Keywords:** Dates, butter, Conservation, *Rosmarinus officinalis* L., *M. pubescens* (Desf.), Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Sensory analysis.

## الملخص

تهدف هاته الدراسة إلى تثمين نبتتين طبيبتين بريتين بمنطقة بشار (*Rosmarinus officinalis L et Matricaria pubescens Desf*) وذلك بدراسة نشاطهما المضاد للميكروبات وللأكسد , وكذا تأثيرهما على حفظ الزبدة و التمور .  
باستعمال طريقة ال (DPPH) , أظهرت النتائج أن الزيوت الطيارة لهاتين النبتتين ذاتا نشاط مضاد للأكسد (  $RSA\% > 90,5\%$  ) أحسن من مستخلصاتها ( $RSA\% > 79,6\%$  ). وقد تمت دراسة النشاط المضاد للميكروبات تجاه ست سلالات بكتيرية وست أخرى فطرية ليفية. أظهرت النتائج أن الزيت الطيار لنبات (*Rosmarinus officinalis L.*) ذو فعالية أحسن من نظيره لدى (*Matricaria pubescens Desf.*) و تمثل ذلك جليا بقطر تثبيط أعلى قدره 29,5 مم تجاه (*E. faecalis*)

بالإضافة إلى ذلك أظهرت الزيوت الطيارة للنبتتين فعالية معتبرة تجاه الفطريات الليلية, وكانت سلالة (*Penicillium*) الأكثر تأثرا بقطر تثبيط قدره 43,3 مم وذلك باستعمال الزيت الطيار لنبات (*Matricaria pubescens Desf.*)  
من خلال الخواص المرفولوجية والفيزيوكيميائية للتمور, تبين لنا ان ثمار النوعيتين نصف رطبة , ذاتا وزن وأبعاد معتبرة. تحتوي النوعيتين على كمية ماء قدرها 24,4 و 21,90 , وحموضة تقدر ب 0.19 و 0.21, وان الأس الهيدروجيني يميل نوعا ما إلى الحموضة بالنسبة لنوع الفقوس والشركة على التوالي. بالإضافة إلى ذلك تحتوي النوعيتان على نسبة سكريات, رماد, ودهون وبروتينات تفوق 70 , 1,69, 0,15 , 5,36 على التوالي.  
وتشير التحاليل الميكروبيولوجية للتمور على وجود الفلورا الهوائية, و الفلورا الفطرية, ويمثل عن البنسليوم والاسبرجلس الأكثر تواجدا, كما نلاحظ عدم وجود السلالات المرضية.

من جهة أخرى, فان حفظ التمور والزبدة باستعمال (*Rosmarinus officinalis L et Matricaria pubescens Desf*) أو زيتهما الطيار قد تم خلال فترة ممتدة من 15 أكتوبر إلى 16 ماي 2010 . أظهرت النتائج المحصل عليها على انخفاض في المحتوى المائي, والأس الهيدروجيني, وزيادة طفيفة في نسبة الحموضة, كما لوحظ أيضا انخفاض معتبر في عدد الفلورا الميكروبية. بالإضافة إلى ذلك أوضحت نتائج الدراسة قبول المنتجات المحفوظة مع استساغة أكثر للتمر والزبدة الممزوجة بالزيت الطيار.

**الكلمات المفتاحية:** التمور, الزبدة, الحفظ, النشاط المضاد للميكروبات, المضاد للأكسد, *Matricaria pubescens* *Rosmarinus officinalis L.*, (Desf.)

## LISTE DES FIGURES

	Page
<b>Figure 1</b>	Datte et noyau du palmier dattier 19
<b>Figure 2</b>	Etapas de fabrication du beurre 31
<b>Figure 3</b>	Carte géographique situant la wilaya de Béchar 40
<b>Figure 4</b>	Etapas du screening phytochimique. 42
<b>Figure 5</b>	Dispositif utilisé pour l'extraction des H.E par hydrodistillation 43
<b>Figure 6</b>	Carte géographique de Taghit 55
<b>Figure 7</b>	Etapas d'évaluation de la conservation 70
<b>Figure 8</b>	Etapas des analyses au cour de la période de conservation 72
<b>Figure 9</b>	Rendement en huile essentielle extrait par hydro-distillation pour les deux plantes étudiées. 78
<b>Figure 10</b>	Résultat des diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'ampicilline 83
<b>Figure 11</b>	Résultat de l'activité antibactérienne des H.E des deux plantes étudiée en mm 84
<b>Figure 12</b>	Résultat de l'activité antifongique des H.E des deux plantes étudiée en mm 85
<b>Figure 13</b>	Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique du romarin en mm 89
<b>Figure 14</b>	Résultat des diamètres (mm) des zones d'inhibition d'extrait aqueux de romarin 90
<b>Figure 15</b>	Résultat des diamètres (mm) des zones d'inhibition d'extrait aqueux et éthanolique (500mg/l) de <i>M. pubescens</i> (Desf.) 91
<b>Figure 16</b>	Pourcentage de la pulpe et du noyau dans la datte entière (CHERKA) 97
<b>Figure 17</b>	Pourcentage de la pulpe et du noyau dans la datte entière (FEGGOUS) 98
<b>Figure 18</b>	Evolution de la teneur en eau en % au cours de la conservation 105
<b>Figure 19</b>	Evolution de pH au cours de la conservation 107
<b>Figure 20</b>	Evolution de l'acidité au cours de la conservation 108
<b>Figure 21</b>	Evolution de la FAMT au cours de la conservation 109
<b>Figure 22</b>	Evolution de la flore fongique au cours de la conservation 109
<b>Figure 23</b>	Evaluation hédonique des trois formes de dattes 114
<b>Figure 24</b>	Taux d'humidité et de la matière sèche 116
<b>Figure 25</b>	Evolution de l'acidité titrable en fonction du temps 117
<b>Figure 26</b>	Evolution de l'indice de peroxyde en fonction du temps 118
<b>Figure 27</b>	Evolution quantitative de FAMT au cours de conservation 119
<b>Figure 28</b>	Evolution quantitative des coliformes au cours de conservation 120
<b>Figure 29</b>	Evolution quantitative de la flore fongique au cours de conservation 121

# LISTE DES PHOTOS

	Page
<b>Photos 1</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i> L. Djebel Antar, Béchar 11
<b>Photos 2</b>	<i>Matricaria pubescens</i> (Desf.) Région de Béchar 14
<b>Photos 3</b>	Datte au stade Bounoune 19
<b>Photos 4</b>	Datte au stade Blah. 19
<b>Photos 5</b>	Datte au stade souffar 19
<b>Photos 6</b>	Datte au stade Routab 19
<b>Photos 7</b>	Datte au stade tmar 19
<b>Photos 8</b>	Etapas des analyses au cour de la période de conservation 19
<b>Photos 9</b>	Datte au stade tmar 28
<b>Photos 10</b>	El chekoua 29
<b>Photos 11</b>	Beurre et babeurre 30
<b>Photos 12</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i> L. Béchar , Djebel Antar 39
<b>Photos 13</b>	<i>Matricaria pubescens</i> (Desf.)Région de Béchar 39
<b>Photos 14</b>	Séparation des H.E par décantation. 43
<b>Photos 15</b>	Variété Cherka entière et en coupe. 54
<b>Photos 16</b>	Variété Feggous entière et en coupe. 54
<b>Photos 17</b>	Conservation des dattes dans des sachets stérile à 4°C. 55
<b>Photos 18</b>	Gamme d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux 61
<b>Photos 19</b>	Enrobage des dattes avec l'H.E 69
<b>Photos 20</b>	Présentation des échantillons pour l'analyse sensorielle 73
<b>Figure 21</b>	H.E de <i>R. officinalis</i> L. (a) et <i>M. pubescens</i> (Desf.) (b), obtenue par hydro-distillation. 80
<b>Photos 22</b>	Les zones d'inhibition exercées par l'ampicilline sur les souches bactériennes testées 82
<b>Photos 23</b>	Résultat de l'activité antibactérienne des H.E des deux plantes étudiée 84
<b>Photos 24</b>	Résultat de l'activité antifongique des H.E des deux plantes étudiée 84
<b>Photos 25</b>	L'effet inhibiteur des extraits de <i>R. officinalis</i> L. sur <i>E. faecalis</i> , par la méthode de Vincent 88
<b>Photos 26</b>	L'effet inhibiteur de l'extrait aqueux de <i>R. officinalis</i> L. 89
<b>Photos 27</b>	Résultat de dénombrement de FMAT 103
<b>Photos 28</b>	Résultat de dénombrement de FF 103
<b>Photos 29</b>	Résultat de dénombrement de CT pour la variété CHERKA 103
<b>Photos 30</b>	Résultats de l'identification des souches fongiques isolées à partir des variétés des dattes étudiées 104

# LISTE DES TABLEAUX

		Page
<b>Tableau 1</b>	Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de Romarin	12
<b>Tableau 2</b>	Les différents stades de maturation des dattes	20
<b>Tableau 3</b>	Points de fusion en fonction du nombre d'atomes de carbone	35
<b>Tableau 4</b>	Points de fusion en fonction du nombre de doubles liaisons	35
<b>Tableau 5</b>	Composition moyenne pour 100 g de beurre	37
<b>Tableau 6</b>	Les souches microbiennes testées et leurs origines	49
<b>Tableau 7</b>	Concentrations des extraits pour le test antioxydant avec DPPH	52
<b>Tableau 8</b>	Dilutions pour la courbe d'étalonnage	60
<b>Tableau 9</b>	Résultats de l'enquête ethno-pharmacologique de <i>M. pubescens</i> (Desf.) et <i>R. officinalis</i> L. dans la région de Béchar.	75
<b>Tableau 10</b>	Résultat du criblage phytochimique des parties aériennes de <i>R. officinalis</i> L. et <i>M. pubescens</i> (Desf.)	77
<b>Tableau 11</b>	Les caractéristiques physico-chimiques des H.E de <i>M. pubescens</i> (Desf.) et <i>R. officinalis</i> L.	80
<b>Tableau 12</b>	Détermination des CMI de l'H.E de <i>R. officinalis</i> L. sur les souches testées	87
<b>Tableau 13</b>	Détermination des CMI de l'H.E de <i>M. pubescens</i> (Desf.) sur les souches testées	87
<b>Tableau 14</b>	résultat de la détermination des CMI des extraits de <i>M. pubescens</i> (Desf.) (mg/ml) et sur les souches testées.	92
<b>Tableau 15</b>	Activité antioxydante en(%) des extraits et l'H.E de <i>M. pubescens</i> (Desf.) et <i>R. officinalis</i> L. comparativement à celui de l'acide ascorbique	93
<b>Tableau 16</b>	Caractéristiques morphologiques des deux variétés de dattes étudiées	95
<b>Tableau 17</b>	Evaluation de la qualité des deux variétés des dattes par rapport aux paramètres morphologiques des dattes	97
<b>Tableau 18</b>	Caractéristiques physicochimiques des deux variétés des dattes	101
<b>Tableau 19</b>	résultats de l'analyse microbiologique des deux variétés des dattes UFC/g	102

<b>Tableau 20</b>	Importance du pH pour la conservation des aliments	106
<b>Tableau 21</b>	les résultats d'analyse sensorielle (exprimé en % des dégustateurs)	113
<b>Tableau 22</b>	les notes de dégustation.	114
<b>Tableau 23</b>	Caractéristiques physique du beurre cru, beurre à H.E et et D'han	115
<b>Tableau 24</b>	Caractéristiques chimique du beurre cru, beurre à H.E et et D'han	116
<b>Tableau 25</b>	Dénombrement de germes au premier jour	117
<b>Tableau 26</b>	Résultat d'épreuve de notation sur la saveur	122
<b>Tableau 27</b>	Résultat d'épreuve de notation sur l'odeur	122
<b>Tableau 28</b>	Résultat d'épreuve de notation sur l'arome	123
<b>Tableau 29</b>	Résultat d'épreuve de classement sur la couleur	123
<b>Tableau 30</b>	Résultat d'épreuve de notation sur l'impression globale	124

## Introduction générale

De part sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe, le Sahara et autour des points d'eau. Ces ressources naturelles sont importantes pour l'économie Algérienne et pour le maintien de l'équilibre écologique de la région. La zone Saharienne présente une flore spécifique, caractérisés par une importante diversité floristique, renfermant de nombreuses espèces endémiques hautement adaptées au climat de la zone.

L'évaluation des propriétés anti-oxydantes, et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile pour l'utilisation plus au moins fréquente dans les traditions locales médicinales et culinaires. Ces plantes représentent une nouvelle source des composés bioactifs.

Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi, les huiles essentielles et leurs composants, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaire.

La valorisation de ces plantes passe inévitablement par des criblages phytochimique, et par l'extraction et l'étude de caractéristiques physico-chimiques de leurs huiles essentielles. Ces dernières sont des produits à forte valeur ajoutée, et sont utilisées dans les industries agro-alimentaires et pharmaceutiques. Les activités antimicrobiennes, et anti-oxydantes ont été rapportées par plusieurs travaux dans la plupart des cas, ces activités sont attribuées à leurs compositions chimiques.

L'Algérie, 5<sup>ème</sup> producteur mondial des dattes avec 6,3 millions de quintaux, héberge un patrimoine génétique très diversifié (**Assabah, 2009**). Elle compte environ 13 millions de palmiers composés de 940 cultivars différents (**Hannachi et al., 1998**). La richesse de la phoeniculture Algérienne montre la nécessité à des

projets ayant pour objet de sauvegarder, et de valoriser le patrimoine des palmiers dattiers. L'évaluation de la qualité physicochimique et microbiologique des dattes est l'un des principaux outils pour parer à cette menace.

Une quantité non négligeable des dattes altérées sont rejetées chaque année à cause des mauvaises conditions de stockage (Absence des chambres froides comme le cas de région de Taghit où il y a 137450 palmiers **(DSA Bechar, 2009)**, et d'unités de transformation ou de conditionnement. A cet effet, la recherche des méthodes de conservation facile à réaliser, qui n'influent pas sur la qualité nutritionnelle des dattes et donc nécessaire.

Le beurre est un aliment énergétique, fragile, et altérable par la chaleur, ou par d'autres facteurs capables de nuire à sa qualité physicochimique, microbiologie et organoleptique. Donc, il est primordial d'assurer sa conservation dans les meilleures conditions possibles.

Dans cette optique, ce travail s'intéresse l'évaluation de la qualité physicochimique du beurre des chèvres et des deux variétés de dattes locales (Feggous et Cherka), et la valorisation de deux plantes aromatiques poussant à l'état spontané dans la région de Bechar, par l'étude de leurs activités antimicrobiennes, anti-oxydantes. Ainsi que leurs influences sur la conservation de ces deux produits.

A cet effet, nous avons réalisé une enquête auprès de la population locale (200 sujets) concernant les méthodes pratiquées pour la conservation des dattes et du beurre, et nous avons recensé quelques méthodes traditionnelles à savoir le séchage naturel, l'ajout du sel, cependant, l'association du Romarin aux dattes est la méthode la plus pratiquée. Pour le beurre, la technique la plus utilisée est celle de sa conservation avec *Matricaria pubescens Desf.*

Notre travail a porté sur l'étude de la conservation de ces produits par les deux plantes sus-citées selon le processus :

- Ajout de *Rosmarinus officinalis L.* avec les dattes et *Matricaria pubescens Desf.* avec le beurre.

- Ajout des huiles essentielles extraites de ces deux plantes aux deux produits ;
- Suivi de l'évolution qualitative et quantitative de la flore microbienne et des indices chimiques durant la période d'entreposage (du 15 octobre 2009 au 15 Mai 2010) ;
- Analyses sensorielles pour voir l'impact des plantes et/ou de leurs huiles essentielles sur la qualité organoleptique des deux produits.

**I-1- Introduction :**

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Schauenberg et Paris, 2006**).

Les plantes aromatiques sont utilisées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatisation culinaire. Elles font partie de notre quotidien sans que nous le sachions. Il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action, bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les alcaloïdes des terpènes, stéroïdes et des composés polyphénoliques.

Aujourd'hui il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (**Potterat et Hostettmann, 1995**).

**I-2- Les éléments actifs des plantes médicinales:**

Les effets curatifs de certaines plantes sont bien connus. La camomille par exemple, est utilisée depuis des milliers d'années contre les troubles digestifs. Or, ce n'est que récemment que les éléments actifs à l'origine des actions thérapeutiques des plantes ont été isolés et étudiés. Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme (**Iserin et al., 2007**).

**I-2-1- Les huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro distillation (**Iserin et al., 2007**), par pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire (**Guy, 1997**). Elles sont très

utilisées dans l'industrie des produits cosmétiques, pharmaceutiques et agro-alimentaire (**Kaloustian et al ., 2008** ).

Les huiles essentielles se retrouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties de la plante aromatique : les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce et pour certaines plantes dans les racines. Plus de 2000 espèces de plante sont riches en huiles essentielles ; elles sont réparties sur 60 familles dont les principaux sont: *Lauraceae*, *Labiatae*, *Umbelliferae*, *Rutaceae*, *Compositae*, *Myrtaceae* et les *Pinaceae* (**Fouzi ,1981**)

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Amarti , 2009**).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques a été largement décrite in vitro ainsi que les activités antispasmodique, diurétique ou expectorante (**Hans, 2007**), anti-oxydante et anti-inflammatoire et elles présentent également un fort pouvoir antifongique (**Chami, 2005 ; Giordani et Kaloustian, 2006; De Billerbeck, 2007 ; Juhas, 2009**).

L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (**Mann et al., 2000**). En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (**Giordani et Kaloustian , 2006** ).

### **I-2-2- Les alcaloïdes :**

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (**Guignard, 2000**). Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amers et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques (**Dellile, 2007**). Ils

ont des structures très diverses et dérivent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétiques (Judd et al., 2002). De nombreux poisons dangereux comme l'atropine par exemple, est extraite de la belladone mortellement toxique (*Atropa belladonna*) et qui peut cependant être utilisée à faible dose dans une optique thérapeutique (Hans, 2007). Les alcaloïdes sont utilisés comme anti cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (Iserin et al., 2007).

### I-2-3- Les phénols :

Petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être également estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ayant tendance à s'isomériser et à se polymériser, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires. Ce sont surtout des antiseptiques (arbutoside de la busserole), des antalgiques (dérivés salicylés de la reine des prés et du saule) et des anti-inflammatoires (Garnero, 2000).

On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples à des substances plus complexes. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. Les acides phénoliques (comme l'acide rosmarinique), sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales (Eberhard et al., 2005).

### I-2-4- Les tanins :

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (Eberhard et al., 2005).

Les tanins ont la propriété de tanner la peau. Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène (**Schauenberg et Paris ,2006**). Les tanins représentent généralement la principale partie de l'extrait polyphénolique. Peu de choses sont connues concernant leur rôle biologique sur la plante mais leur présence confère à cette dernière des propriétés astringente, antiseptique, antioxydante et antidiarrhéique (**Vivas, 2002**).

#### **I-2-5- Les flavonoïdes :**

Les flavonoïdes constituent chez les plantes un groupe très diversifié de métabolites secondaires qui se produisent naturellement sous leurs formes conjuguées (**Macejstobiechi ,2000**). Ils sont des composés phénoliques et interviennent probablement pour protéger les plantes des herbivores et contrôler le transports des auxines (**Judd et al ., 2002**).

Les flavonoïdes hétérosidiques sont hydrosolubles et solubles dans les alcools. Les flavonoïdes lipophiliques des tissus superficiels des feuilles sont solubles dans les solvants polaires et dans les solvants moyennement polaires (comme par exemple le dichlorométhane) (**Bruneton, 1999**).

Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoire, anti-oxydante anti-enzymatique et hépatoprotectrice ; ils jouent un rôle important dans le système de défense et anti virales ((**Iserin, 2001**).

#### **I-2-6- Les coumarines :**

Pour la première fois, la coumarine fut isolée de la fève tonka (*Coumarouna odorata*) à laquelle elle confère son odeur caractéristique de foin coupé (**Garnero, 2000**). Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyles (**Igor, 2002**).

Les coumarines du mélilot (*Melilotus officinalis*) et du marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum*) contribuent à fluidifier le sang alors que les furanocoumarines comme le bergaptène, contenu dans le céleri (*Apium graveolens*), soignent les affections cutanées et que la khelline de la khella (*Amrni visaga*) est un puissant vasodilatateur coronarien (Eberhard et al., 2005).

#### I-2-7- Les anthocyanines :

Les anthocyanines sont des pigments qui confèrent leurs couleurs aux fruits et aux légumes. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines. Les anthocyanines changent de couleur en fonction de leur pH (Attia, 2007; Benbrook, 2005).

Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines (flavonoïdes proches des flavones) qui sont responsables de la coloration vive, allant du rouge au violet en passant par le bleu, des fruits et des pigments floraux (Garnero, 2000). Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux. La mûre sauvage (*Rubus Fruticosus*), la vigne rouge (*Vitis vinifera*) et l'aubépine (*Crataegus oxyacantha*) en contiennent toutes des quantités appréciables (Eberhard et al., 2005).

#### I-2-8- Les Polysaccharides :

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble que l'on trouve dans toutes les plantes. Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages «visqueux» et les gommages, présents dans les racines, les feuilles et les graines (Iserin, 2001).

Le mucilage et la gomme absorbent de grandes quantités d'eau, produisant ainsi une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés (par exemple quand la peau est sèche et irritée ou la paroi des intestins est enflammée et douloureuse). La meilleure façon de préparer les herbes mucilagineuses comme l'orme rouge (*Ulmus rubra*) et le lin (*Linum usitatissimum*) est de les gorger d'eau froide et les

faire macérer). (Iserin et al ; 2007). Certains polysaccharides, comme les glucomannanes et les pectines, sont utilisés en cosmétologie (Eberhard et al .,2005).

#### **I-2-9- Les glucosides cardiaques :**

Présents dans de nombreuses plantes médicinales, ils ont une action directe et puissante sur le cœur. Ils l'aident à maintenir le rythme cardiaque en cas d'affaiblissement. Ces glucosides sont également diurétiques. Ils contribuent à transférer les liquides des tissus et du système circulatoire vers les conduits urinaires (Djabou, 2006).

#### **I-2-10- Les saponines :**

Les saponines sont des glycosides contenus dans les plantes qui doivent leur nom au fait qu'elles moussent lorsqu'on les mélange avec l'eau (Hans, 2007). Elles sont des constituants de nombreuses plantes médicinales ; elles existent sous deux formes : les stéroïdes et les triterpénoïdes. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (oestrogène, cortisone). Elles sont souvent expectorantes et facilitent l'absorption des aliments (Eberhard et al ., 2005). Les saponines possèdent une grande variété d'activités biologiques telles que : antipyrétique, antalgique, immunomodulatrice, anti-inflammatoire, anticoagulante. Ils ont des propriétés tensioactives et biologiques importantes et sont utilisés dans des domaines variés tels que l'industrie, la pharmacie et la cosmétologie (Lautrette, 2004).

#### **I-2-11- Les vitamines**

Bien qu'elles soient souvent négligées, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines (Iserin, 2001). Le citronnier notamment (*Citrus limon*) contient des doses élevées de vitamine C et la carotte (*Daucus carota*) est riche en bêta-carotène (provitamine A). Le cresson de fontaine (*Nasturtium officinale*) par exemple, contient des doses élevées de vitamines B1, B2, C et E et de bêta-carotène tandis que l'argousier (*Hippophae rhamnoides*) peut être considéré comme un complément vitaminique et minéral en tant que tel (Eberhard et al ., 2005).

### I-2-12- Les glucosides cardiaques

Présents dans de nombreuses plantes médicinales telles que les digitales laineuses et pourprées (*Digitalis lanata* et *D. purpurea*, cultivées en Europe) et le muguet (*Convallaria majalis*), les glucosides cardiaques comme la digitoxine, la digoxine et la convallotoxine ont une action directe et puissante sur le cœur. Ils l'aident à maintenir le rythme cardiaque en cas d'affaiblissement. Ces glucosides sont également diurétiques et contribuent à transférer les liquides des tissus et du système circulatoire vers les conduits urinaires (Eberhard et al .,2005).

### I-2-13- Les glucosides cyanogéniques

Bien que ces substances soient à base de cyanure, poison très violent, elles ont, prises à petites doses, un effet sédatif et relaxant sur le cœur et les muscles. L'écorce du cerisier sauvage (*Prunus serotina*) et les feuilles du sureau noir (*Sambucus nigra*) qui en contiennent toutes les deux, permettent de supprimer ou de calmer les toux sèches et irritantes. De nombreux noyaux de fruits contiennent de fortes quantités de glucosides cyanogéniques (par exemple ceux de l'abricotier *Prunus anneniaca*) (Eberhard et al .,2005).

### I-2-14- Les glucosinolates

Présents uniquement dans les espèces de la famille des moutardes et des choux, les glucosinolates provoquent un effet irritant sur la peau, causant inflammation et ampoules. Appliqués comme cataplasme sur les articulations douloureuses, ils augmentent le flux sanguin dans la zone irritée, favorisant ainsi l'évacuation des toxines. Lorsqu'on les ingère, les glucosinolates se désagrègent et produisent un goût très prononcé. Le radis (*Raphanus sativus*) et le cresson de fontaine (*Nasturtium officinale*) sont des plantes à glucosinolates typiques. (Iserin et al ., 2007).

### I-3-Notion sur la plante étudiée:

#### I-3-1-Rosmarinus officinalis L (Lazir El hor, Yazir) :

##### I-3-1-1- Habitat et description:

Originaires des régions méditerranéennes, le romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps (Iserin et al., 2007). Il apprécie les climats chauds ou modérément secs (Paul, 1996). Dans la région de Bechar, elle est assez répandue dans les montagnes Antar et Grouz.

Le *Rosmarinus officinalis* L. (Photo 01) dont le nom rose de mer vient simplement du fait qu'il pousse spontanément au bord de la mer (Iserin et al., 2007). C'est un arbrisseau de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux, très feuillé (feuilles en forme d'épaves blanchâtres et duveteuses par dessous) (Hans, 2007). Les fleurs sont d'un bleu pâle ou blanchâtre (Schauenberg et Paris, 2006). Son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées et son odeur est extrêmement odorante et tenace (Delille, 2007).



**Photos 1:** *Rosmarinus officinalis* L. Djebel Antar, Béchar (Makhloufi, 2009)

**I-3-1-2- Noms vernaculaires :**

Iklil Al Jabal ,Klil, Hatssa louban, Hassalban, Lazir ,Azîr, Ouzbir ,Akkel, Touzala (**Lucienne, 2007**).

**I-3-1-3- Identité botanique :**

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *officinalis* L (**Delille, 2007 ;EL Rhaffari, 2008**).

**I-3-1-4 - Principaux constituants :**

Le composé majoritaire de l'huile essentielle du Romarin varie d'une région à l'autre (tableau 01). On trouve le 1-8 cinéole, le camphre, le pinène, le linalool, le limonène.

**Tableau 01 :** Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de Romarin

Composé majoritaire	%	Origine	Référence
$\alpha$ -pinène	23,1	Algérie (Tlemcen)	(Atik Bekkara et al .,2007)
Camphre	14,5		
$\beta$ -pinène	12,2		
$\alpha$ -pinène	14,9	IRAN(Tehran)	(Gachkar et al ., 2007).
Linalool	14,9		
Pipéritone	23,7		
$\alpha$ -pinène	10,2	TURQUIE(Izmir)	(Yesil Celiktas et al.,2007)
1,8-cinéole	61,4		
$\alpha$ -pinène	11,4	MAROC	(Ourâini et al ., 2005)
1,8-cinéole	50,2		
Camphre	9,1		
$\alpha$ -pinène	13,5	SERBIE(Vojvodina)	(Bozin et al ., 2007)
Limonène	21,7		
Camphre	21,6		

### I-3-1-5- Vertus médicinales :

En médecine traditionnelle, le romarin aide à la digestion, traite les céphalées et les migraines, les blanchîtes, les coliques, améliore les fonctions hépatiques et biliaires en cas de troubles digestifs. Il est utilisé en usage externe pour soigner les rhumatismes et les troubles circulatoires (Teuscher, 2005). C'est un hypoglycémique, il soigne les affections oculaires (Bnouham et al., 2002) et est utilisé comme antiseptique, cholagogue, antispasmodique, vulnéraire et diurétique (Koubissi, 2002). Dans la région de Béchar, *Rosmarinus officinalis* L. est traditionnellement destiné à la conservation des pâtes des dattes et comme un emménagogue (favorisant l'écoulement des règles).

### I-3-2- *Matricaria pubescens* (Desf.) :

#### I-3-2-1- Habitat et description:

Nombreuses familles botaniques sont incluses dans ces plantes aromatiques. On signale la famille des Compositae. Cette famille comprend plus de 13 tribus, 1 000 genres et 23 000 espèces (Guignard, 1994). En Algérie, il existe 109 genres et 408 espèces (Gaussen et Leroy, 1982). Les Compositae sont principalement des plantes herbacées, buissons ou arbres ; matières de réserve constituées d'oligosaccharides, entre autre l'inuline ; canaux résinifères souvent présents, de même que les laticifères, mais l'un des deux manquant parfois ; présence générale de polyacétylènes et d'huiles essentielles (Judd et al., 2002).

*Matricaria pubescens* (Desf.) (Photo 02) est une espèce endémique, appartenant à la famille des Compositae, très connue en Afrique du Nord et qu'on rencontre particulièrement dans tout le Sahara septentrional et central. C'est une plante à tiges nombreuses couchées puis redressées et sous forme de touffes. Les feuilles découpées et velues sont d'un vert sombre. Involucre à bractées et ayant une marge membraneuse large, les fleurs toutes en tubes, de coloration jaune, sont groupées en capitules dont le diamètre est de 6 à 7 mm. Il est commun dans tout le Sahara (Ozenda, 2004).



**Photo 02:** *Matricaria pubescens* (Desf.) Région de Béchar (Makhloufi, 2009)

### I-3-2-2- Systématique

**Noms vernaculaires:** La dénomination se diffère d'une région à l'autre: L'espèce *Matricaria pubescens* (Desf.) est appelée Guertoufa à El Goléa et Ouargla, Ainasnis à Tassili (Maiza, Brac De La Perrière et Hammiche, 1993) et à Béchar Ouazouza et Guertoufa Khadra.

La classification botanique de cette plante est décrite comme suit (Judd et al., 2002 ; Ozenda, 2004).

Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Ordre : Astéales

Famille : *Compositae*

Genre : *Matricaria*

Espèce : *pubescens* (Desf.)

### I-3-2-3-Composition chimique de *Matricaria pubescens*(Desf.)

Un grand nombre du genre de *Matricaria* ont fait à ce jour, l'objet d'études chimiques et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés, à l'exception des alcaloïdes. Les recherches phytochimiques ont permis de mettre en évidence, dans le genre *Matricaria*, tous les composés caractéristiques des Compositae. Ces derniers, lors d'études chimiosystématiques, ont montré une grande variété de métabolites secondaires et des procédés biosynthétiques différents. On a ainsi pu mettre en évidence au cours d'études chimiques

sur les compositae, différents types de composés chimiques : coumarines, flavonoïdes, amides, terpènes, hétérosides, sesquiterpènes lactones (**Guignard, Cossen, Henry, 1985**).

#### a)- Les coumarines

Ce sont des 2-H-1-benzopyran-2-ones, considérés comme étant les lactones des acides O-hydroxy-2-cinnamiques. Les composés coumariniques rencontrés chez le genre *Matricaria* sont le plus souvent des composés simples comme c'est le cas de l'herniarine et l'umbelliférone (**Gausson et Leroy ; 1982 ;Guignard, 1994**).

#### b)- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ce sont des substances naturelles très répandues dans la famille des Compositae (**Eberhard et al, 2005**) où beaucoup de travaux ont été réalisés chez le genre *Matricaria*. On trouve essentiellement des flavonoïdes glycosylés comme l'apigénine 7-glucoside et la lutéoline 7-glucoside (**Bezanger-Beauqensne et al., 1990**)

#### c)- Les amides

Les parties aériennes et les racines de l'espèce *Matricaria pubescens* (Desf.) présentent un goût piquant et poivré dû à des métabolites secondaires comportant un radical

isobutylamide. Ces amides peuvent être aromatiques « fagaramide » ou aliphatiques « sanshool » (Benkiki, 2006).

#### d)- Les terpènes

Constituant une vaste famille de composés naturels, ils sont classés chimiquement en fonction du nombre d'unités isopréniques  $(C_5 H_8)_n$  constituant leurs structures carbonées selon la règle élaborée initialement par Léopold Ruzicka (Wichtl et Anton, 1999).

#### e)-Sesquiterpènes lactones

Ce sont des molécules en  $C_{15}$  souvent présentes sous formes de lactones qui peuvent conférer notamment aux Astéracées des propriétés allergisantes. Ces substances sont fragiles et, par distillation, peuvent se transformer en carbures plus ou moins insaturés par dégradation de la lactone initiale. Elles peuvent être présentes dans les huiles essentielles (Wichtl et Anton, 1999).

#### I-3-2-4-Domains d'utilisation du *Matricaria pubescens* (Desf.)

##### ✓ Alimentation

Cette plante est utilisée pour donner une bonne saveur au thé (Martinez et al., 2007). Dans la région sud-ouest algérienne elle est aussi utilisée pour la préparation des soupes et dans la conservation du beurre transformé traditionnellement (D'han).

##### ✓ Médicinal

*Matricaria pubescens* (Desf.) est utilisée dans les affections oculaires, démangeaison, dysménorrhée, inflammations des plaies (Hammiche, Maiza, 2006), rhumatismes, toux, otites et affections oculaires, calculs biliaires et affection gastro-intestinales, (Bellakhdar, 1997; Ould el hadj, 2003).

Selon Maiza, Brac De La Perrière et Hammiche, (1993), l'usage traditionnel de cette plante varie d'une région à l'autre :

- El-Goléa : rhumatismes, courbatures, déshydratation, dentition, dysménorrhée, affections oculaires, toux, allergies.

- Béchar : toux, allergies, affections oculaires ;
- Ouargla : toux, dysménorrhée, piqûres de scorpion et allergies ;

En usage externe, la matricaire est utilisée couramment dans le domaine dermatologique (**Duraffourd et Lapraz, 2002**) :

- Retenues de l'usage : vulnérable (cicatrisant, antiseptique, antiphlogistique) ;
- Mucodermotrope : anti-inflammatoire, épithéliogène, antiulcéreux, lénitif ;
- Anti-infectieux : antifongique, antibactérien.

### II.1- Généralités sur les palmiers dattiers :

Le palmier dattier : *Phoenix dactylifera* L. provient du mot « *Phœnix* » qui signifie dattier chez les phéniciens et, *dactylifera* dérive du terme grec « *dactulos* » signifiant doigt, allusion faite à la forme du fruit (Djerbi, 1994). C'est une espèce dioïque, monocotylédone, appartenant à la famille des *Palmaceae* qui compte environ 235 genres et 4000 espèces (Munier, 1973). Comme toutes les espèces du genre *Phoenix*, il existe des arbres mâles appelés communément dokkars ou pollinisateurs et des arbres femelles nakhla (Chaibi, 2002).

#### II.1.1- Systématique du *phœnix dactylifera* :

La place du palmier dattier dans le règne végétal est rappelée ci-dessous (Djerbi, 1994) :

Groupe : Spadiciflores.

Ordre : Palmale.

Familles : *Palmaceae*.

Sous famille : Coryfoïdées.

Tribu : Phœnicées.

Genre : *Phoenix*.

Espèce : *Dactylifera* L.

#### II.1.2- Exigences écologiques du palmier dattier :

Le palmier dattier offre de larges possibilités d'adaptation, c'est une espèce thermophile qui exige un climat chaud. C'est un arbre qui s'adapte à tous les sols. Il est sensible à l'humidité pendant la période de pollinisation et au cours de la maturation (Munier, 1973 ; Ozenda, 2004).

#### II.1.3- Répartition géographique du palmier dattier :

##### II.1.3.1- Dans le monde :

Le palmier dattier est originaire du golf persique (Kwaasi, 2003). Son nombre dans le monde être estimé à 100 millions d'arbres (Ben Abdallah, 1990). Le palmier dattier fait l'objet d'une plantation intensive en Afrique méditerranéenne et au Moyen Orient. Aux Etats-Unis d'Amérique, le palmier dattier fût introduit au XVIII<sup>ème</sup> siècle. Sa culture n'a débuté réellement que vers les années 1900 avec l'importation des variétés irakiennes (Bouguedoura, 1991).

### II.1.3.2- En Algérie :

Le palmier dattier est cultivé au niveau de 17 wilayas seulement pour une superficie de 120 830 hectares (**Messaïd, 2007**). La palmeraie algérienne héberge un matériel génétique très riche et diversifié avec 940 cultivars recensés (**Hannachi et al., 1998**).

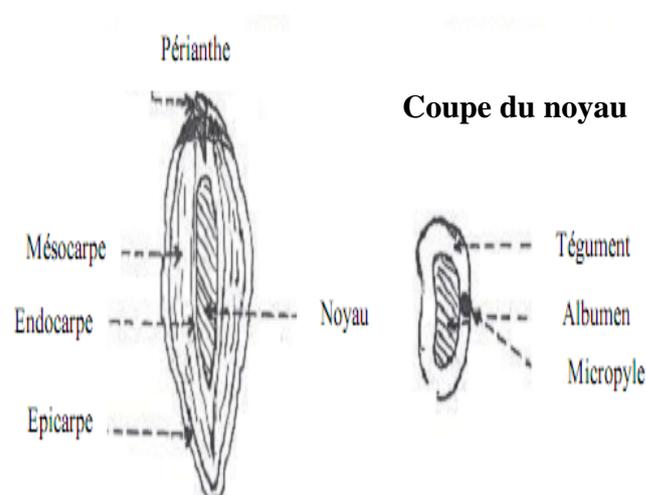
### II.2- Dattes :

#### II.2.1- Aspect botanique :

La datte (figure 01), fruit du palmier dattier, est une baie généralement de forme allongée, oblongue ou arrondie, (**Espiard, 2002**) avec des dimensions très variables, de 2 à 8 cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés (**Djerbi, 1994**). Contenant un seul grain appelé noyau, la partie comestible de la datte dite chair ou pulpe, est constituée d'un :

- Péricarpe ou enveloppe cellulosique fine dénommée peau ;
- Mésocarpe généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucre et de couleur soutenue ;
- Endocarpe de teinte plus claire et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau (**Espiard, 2002**).

#### Coupe longitudinale d'une datte



**Figure 01 :** Datte et noyau du palmier dattier (**Buelguedj , 2001**) .

### II.2.2- Stades de maturation des dattes :

Les différents stades peuvent être définis comme suit :

**Tableau 02 :** Les différents stades de maturation des dattes.

Stades	Photos
<p><b>Bounoune:</b> Ce stade commence juste après la fécondation et dure environ cinq semaines. A ce stade, le fruit est entièrement recouvert par le périgone et se caractérise par une croissance lente.</p>	 <p><b>Photo03 :</b> Datte au stade Bounoune</p>
<p><b>Blah , Khalal ou Kimri, :</b> Ce stade dure sept semaines environ et se caractérise par une croissance rapide en poids et en volume des dattes. Les fruits ont une couleur verte vive et un goût âpre à cause de la présence des tanins .</p>	 <p><b>Photo04 :</b> Datte au stade Blah</p>
<p><b>Bser ou souffar:</b> les sucres totaux atteignant un maximum en fin du stade. La couleur vire au jaune, au rouge et au brun, suivant les clones. La datte atteint son poids maximum au début de ce stade. Il dure en moyenne quatre semaines.</p>	 <p><b>Photo 05 :</b> Datte au stade souffar</p>
<p><b>Nokar, Routab ou Martouba :</b> La couleur jaune ou rouge du stade khalal passe au foncé ou au noir. Ce stade se caractérise par la perte de la turgescence du fruit suite à la diminution de la teneur en eau, l'insolubilisation des tanins et l'augmentation de la teneur des monosaccharides.</p>	 <p><b>Photo 06 :</b> Datte au stade Routab</p>
<p><b>Tamr ou Tamar :</b> C'est le stade final de la maturation de la datte. Le fruit perd beaucoup d'eau, ce qui donne un rapport sucre/eau élevé.</p>	 <p><b>Photo 07 :</b> Datte au stade tmar</p>

### II.2.3. Les variétés des dattes :

Elles sont très nombreuses et se différencient par leurs saveurs, consistances, formes, couleurs, poids et dimensions (**Buelguedj, 2002**).

En Algérie, il existe plus de 940 cultivars de dattes (**Hannachi et al., 1998**). Les principales variétés cultivées sont :

➤ **Deglet-Nour** : Variété commerciale par excellence. C'est une datte demi-molle, considérée comme étant la meilleure variété de datte du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur. A maturité la datte est d'une couleur brune ambrée avec un épicarpe lisse légèrement plissé et brillant, le mésocarpe présentant une texture fine légèrement fibreuse.

➤ **Variétés communes** : Ces variétés sont de moindre importance économique par rapport à Deglet-Nour. Les plus répandues sont : Ghars, Degla-Beïda et Mech-Degla .

### II.2.4 Production des dattes dans le monde et en Algérie :

La production mondiale de dattes se situe entre 5,5 et 6 millions de tonnes/an dans 34 pays parmi les plus importants : l'Égypte, l'Iran, l'Arabie Saoudite, les Emirats arabes, l'Irak, le Pakistan et l'Algérie. Selon les données de la FAO, l'Algérie serait le cinquième producteur mondial de dattes avec une production annuelle de 300.000 à 320.000 tonnes (**Acourène et Tama, 2001**).

### II.2.5 Composition physicochimique des dattes :

#### II.2.5.1 La teneur en eau :

La teneur en eau est fonction de la variété, du stade de maturation et du climat. Elle varie entre 8 et 30 % du poids de la chaire fraîche avec une moyenne d'environ 19 % (**Noui, 2007**).

#### II.2.5.2 Le pH :

Le pH de la datte est légèrement acide ; il varie entre 5 et 6. Ce pH est préjudiciable aux bactéries mais approprié au développement de la flore fongique (**Reynes et al ., 1994**).

#### II.2.5.3 L'acidité :

L'acidité de la datte est faible et varie entre 2,02 et 6,3 g d'acide/Kg (**Bessas, 2008**).

## II.2.6 - Composition biochimique :

### II.2.6.1 - Les sucres totaux et réducteurs :

Les sucres sont les constituants majeurs de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélé essentiellement la présence de trois types de sucres : le saccharose, le glucose et le fructose (**Acourene et Tama, 1997**). Ceci n'exclut pas la présence d'autres sucres en faible proportion tels que : le galactose, la xylose et le sorbitol (**Siboukeur, 1997**). La teneur en sucres totaux est très variable et dépend de la variété de la datte et du climat. Elle varie entre 60 et 80 % du poids de la pulpe fraîche (**Eltamzini et al ., 2008**).

### II.2.6.2 - Les acides aminés :

Les dattes sont caractérisées par une faible teneur en protéines. Elle varie entre 0,38 et 2,5 % du poids sec. Malgré cette faible teneur, les protéines de la datte sont équilibrées qualitativement (**Yahiaoui, 1998**). La composition en acides aminés des protéines de la pulpe de datte révèle la présence de 6 à 8 acides aminés indispensables pour l'homme (**Bessas et al ., 2008**).

### II.2.6.3- Les Pigments :

Les principaux pigments identifiés dans les dattes sont : les caroténoïdes , les antocyanines , les flavones, les flavonols , les lycopènes , les carotènes et les flavoxanthines (**Bousdira, 2007**).

### II.2.6.4- Les fibres :

La datte est riche en fibres (6,4 à 11,5%) du poids sec (**Al-Shahib et Richard, 2003**). Les constituants pariétaux de la datte sont : la pectine, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Ce sont des agents qui interviennent dans la modification de la fermeté de la datte (**Benchabane, 1995**).

### II.2.6.5- Les enzymes :

Les enzymes jouent un rôle important dans les processus de la conversion qui a lieu pendant la formation et la maturation du fruit. Parmi ces enzymes, on peut citer l'invertase, les polygalacturonases et pectinesterases, les polyphénoloxydases et les peroxydases (**Bousdira , 2007**).

### II.2.6.6- Les composés phénoliques :

La datte renferme des substrats dits composés phénoliques .L'analyse qualitative des composés phénoliques de la datte a révélé la présence d'acide cinnamique, des flavones, des flavanones et des flavonols (**Bousdira ,2007**).

### II.2.6.7- Les lipides :

La datte renferme une faible quantité de lipides. Leur taux varie entre 0,43 et 1,9 % du poids frais. Cette teneur est fonction de la variété et du stade de maturation (**Djouab, 2007**). Les dattes contiennent comme acides gras saturés l'acide caprique, l'acide laurique, l'acide palmitique et l'acide stéarique, et comme acides gras insaturés, l'acide fétique, l'acide oléique et l'acide linoléique (**Al-Shahib et Richard, 2003**).

### II.2.6.8- Les minéraux :

L'étude de 58 variétés de dattes cultivées dans la région des Zibans faite par (**Acourene et al., 2001**), montre que le taux de cendres est compris entre 1,10 et 3,69 % du poids sec.

### II.2.6.9- Les vitamines :

La datte n'est pas une source importante de vitamines. Les plus dominants sont la vitamine A et les vitamines B1 et B2 qui sont en proportions appréciables. Les vitamines C et D sont quasiment inexistantes (**Al-Shahib et Richard, 2003; Bousdira, 2007**).

### II.2.7- Classification des dattes :

D'après (**Espiard, 2002**), la consistance de la datte est variable. Selon cette caractéristique, les dattes sont réparties en trois catégories : dattes molles, dattes demi-molles et dattes sèches de consistance dure.

En 1973, **Munier** a défini un indice «r» de qualité ou de dureté comme étant le rapport entre la teneur en sucre sur la teneur en eau des dattes.

$$r = \frac{\text{teneur\_en\_sucre}}{\text{teneur\_en\_eau}}$$

Le calcul de cet indice permet d'estimer le degré de stabilité du fruit et conduit à la classification suivante :

- **dattes molles** :  $r < 2$
- **dattes demi - molles** :  $2 < r < 3,5$
- **dattes sèches** :  $r > 3,5$

Pour  $r = 2$  la stabilité du fruit est optimale et son aptitude à la conservation est très appréciable.

### II.2.8- Les principales altérations :

De nombreuses altérations affectant la qualité des dattes parmi elles :

### II.2.8.1- Les altérations physiques :

Elles se produisent au cours des différentes opérations de manipulation des dattes (chocs, écrasements et dessèchement). Ces opérations provoquent des lésions qui accélèrent les processus d'altérations biologiques (**Bourgeois, 1996**).

### II.2. 8.2 Les altérations microbiologiques :

Les principaux agents de ces altérations sont les levures (*Saccharomyces*, *Hanseniospora* et *Candida*) et les moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium oxysporum* f. sp(bayoud) *Alternaria*, *Rhizopus* et *Botrydiplodia theobromae*). Cette dernière est responsable de la maladie «Black Rot».

Les bactéries sont responsables de l'aigrissement des dattes par suite de la transformation des sucres en acide lactique ou en acide acétique après fermentation. Cette propriété des bactéries est utilisée pour la fabrication du vinaigre à partir de la datte. Leur importance lors de la conservation des dattes nécessite de plus amples informations sur ces agents (**Tantaoui et Boisson, 1991**).

### II.2. 8.3- Les altérations parasitaires :

Les insectes ravageurs dégradent les dattes stockées et causent une perte de poids et une dépréciation de la valeur commerciale du fruit. Elles sont dues essentiellement au *Myelois phoenicie* (ver de la datte) et à l'*Oligonychus afrisiaticus* (Bouferoua) (**Ferry, 1995**).

## II-3- conservation de la datte :

### II-3-1-Méthodes artisanales :

Ces différents systèmes de conservation demandent préalablement un triage et lavage des dattes :

#### II-3-1-1- El KhABIA :

La khabia , est une autre méthode de conservation des dattes mais cette fois ci dans de grandes jarres en poterie dans lesquelles sont empilées les dattes puis recouvert hermétiquement : la femme est chargée de ce conditionnement. Cette pratique tend à s'amenuiser.

**II-3-1-2- Bajou :**

Le Bajou est une espèce d'armoire murale construite spécialement pour la conservation des dattes à la base de laquelle se trouve un orifice pour la récupération du miel de dattes. Les dattes peuvent se conserver plusieurs années (**Ziari et al., 2003**).

**II-3-1-3- Btana :**

Le Btana (**photos 08**) est un mode de conditionnement artisanal, l'opération est basée sur un tri des dattes molles, suivi d'un procédé qui consiste à mélanger les dattes avec des plantes aromatiques. Ensuite la masse est fortement pressée dans des sacs en plastique ou en cellulose jusqu'à l'expulsion de l'air. Dans cette forme les dattes se conserve trois ans (**Benahmed,2007**).

**II-3-2-Méthodes industrielles :****II-3-2-1- le séchage :**

Durant le séchage l'eau est enlevée de l'aliment, réduisant le potentiel de croissance des microorganismes et des réactions chimiques indésirables (ex : brunissement enzymatique), donc augmentation de la durée de vie du produit (**Gowen et al. 2008 ; bonazzi&bimbenet, 2008**)

Quelque soit le mode de séchage (air chaud ou aux micro-ondes), le transfert d'eau est dû à la différence de pression de vapeur d'eau entre l'intérieur et la surface du produit, ce qui fournit une force entrainante pour l'humidité (**Maskan , 2001**).

**II-3-2-2- Traitements des dattes par micro-ondes :**

En vue d'éviter l'utilisation de produits chimiques (bromure de méthyle) pour désinfecter les dattes, une technique basée sur l'utilisation des micro-ondes a été développée. L'appareil se présente comme un tunnel dans lequel les dattes sont traitées. Les caractéristique physique (constantes diélectriques) des dattes ont permis de déterminer le couple durée /température de traitement permettant la destruction des œufs et la préservation de la qualité (**reynes&tabuna, 1999**).

Le séchage aux micro-ondes est très efficace pour les produits ayant une alternative pour améliorer la qualité des produits déshydratés (**Maskan, 2001**).

#### **II-3-2-3- la pasteurisation :**

La pasteurisation est un procédé employant un chauffage modéré et qui est souvent appliqué aux produits laitiers et autre aliments thermo-sensibles (**Jerom, 2004**).

Pasteurisation basse : 63°C durant environ 30 minutes ;

Pasteurisation haute : 73 /75°C durant quelques minutes ;

Pasteurisation flash : 95°C durant quelques secondes (**Noir, 2005**).

#### **II-3-2-4- le froid :**

La réfrigération et la congélation remplacent de plus en plus les systèmes traditionnels, surtout pour les dattes grappillées (dattes dont la maturité n'est pas complétée) (**Estanovae 1990**).

#### **II-3-2-5-le fumage :**

C'est l'action d'exposer à la fumée certaines denrées pour les conserver (**Forest, 2004**) la fumée produite par la combustion lente de bois, choisis pour leurs propriétés odoriférantes, est antioxydant, antibactérienne et antifongique. Cette fumée naturelle est remplacée, industriellement, par des solutions phénoliques (crésol) ou par des acides organiques qui sont antiseptiques et qui donnent l'illusion du «gout de fumée». Le bromure de méthyle peut être utilisé comme fumigant dans l'industrie dattier pour lutter contre les vers des fruits (**Hassouna, 1994**).

#### **II-3-2-6- Emballage sous atmosphère modifié ou sous vide :**

L'utilisation de techniques de conditionnement spécifiques permettrait donc de conserver plus longtemps la qualité initiale des dattes stockées. Le conditionnement sous vide des dattes naturelles est le mode le mieux adapté pour une meilleure protection du produit contre la prolifération des levures et moisissures et contre la déshydratation. Pour les dattes fourrées, le conditionnement sous atmosphère

modifiée avec une injection d'un mélange gazeux (20% CO<sub>2</sub> et 80% N<sub>2</sub>) à la dose de 10% s'est révélé le meilleur pour conserver la qualité initiale du produit durant le stockage (Achour et al. 2003)

### III-1- Introduction

Pendant longtemps, l'utilisation de la matière grasse butyrique est restée limitée à la fabrication de la crème, du beurre et de quelques produits dérivés. Vers le milieu du XXe siècle, sous l'évolution des besoins, des techniques et des réglementations, de nouveaux produits sont apparus : huile de beurre, beurre allégé, spécialités à tartiner additionnées ou non de matière grasse d'origine non laitière (FAO, 1995).

### III-2- Le beurre

La dénomination beurre est réservée au produit laitier de type émulsion d'eau dans la matière grasse, obtenu par des procédés physiques et dont les constituants sont d'origine laitière (décret du 30 décembre 1988). Les termes de matières grasses laitières ou butyriques sont réservés aux lipides du lait (Vierling, 2003).

### III-3- Procédé de préparation du beurre traditionnel

Il est reconnu depuis l'antiquité que les femmes des nomades jouent un rôle très important dans la transformation du lait en produits dérivés traditionnels, notamment le beurre, qui s'effectue dans un lieu traditionnel appelé «El-khaïma» (photo 09).



**Photo 09 :** El-khaïma (Région de Béchar, 2010).

El-khaïma du Maghreb a parfois été appelée « tente noire » à cause de la teinte de son vélum constitué de bandes de laine brune (en poils de chèvres et / ou de

chameaux), assemblées et montées sur une armature de bois. Mais, par extension, El-khaïma désigne aussi la famille (Le Quellec, Tréal et Ruiz, 2006).

### III-3-1- La traite de lait

Le lait est traité à partir des animaux (chèvres, brebis, vaches) sains. L'opération se fait manuellement dans des récipients propres. Le lait est versé au fur et à mesure dans des bidons qui peuvent être généralement en aluminium ou en plastique. La traite s'effectue le matin ou après le coucher du soleil. Ensuite on mélange le lait collecté lors des deux traites en le mettant dans El-chekoua.

### III-3-2- Le barattage

Une fois le lait récupéré, le barattage se fait dans un récipient appelé el – chekoua (**photo 10**), fabriqué avec la peau des caprins ; l'opération dure environ deux heures. La dénomination de ce récipient est multiple : baratte =ayasult ( **Marlière et Costa, 2007** ). Les étapes de barattage se font comme suit :

**A** - Introduction du lait fermenté dans la cavité de la chekoua à l'aide d'un entonnoir,

**B** - Gonflement ;

**C** - Fermeture de la chekoua ;

**D** - Barattage.

Le barattage du lait se fera le lendemain s'il fait froid. En cas de chaleur, le lait collecté sera battu le jour - même



**Photo 10** : El chekoua (Makhloufi, 2010)

### III-3-3- Extraction du beurre

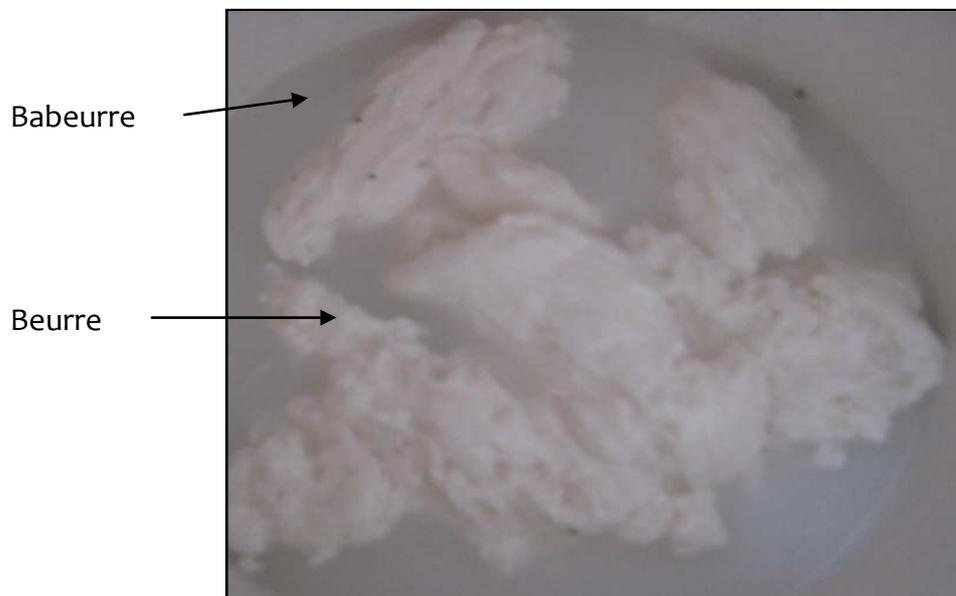
L'extraction du beurre se fait selon les étapes suivantes :

- Un ajout d'eau froide permet de refroidir et de regrouper les grains de beurre. Puis, le processus de barattage se poursuit pendant quelques minutes jusqu'à l'obtention de globules grasses.

- Une filtration permet quant à elle la séparation entre le babeurre et les grains du beurre cru obtenu (**photo 11**).

### III-3-4- Conditionnement

Le beurre traditionnel est un produit périssable ; il doit être conservé à basse température (2 à 4°C) ou consommé dès sa production. Comme les moyens de réfrigération sont pratiquement inexistantes chez les bédouins de la région de Béchar, et afin de mieux conserver ce produit, il est nécessaire de le transformer en produit dérivé .Ce dernier est connu chez les nomades sous le nom de «D'han» et est conservé traditionnellement dans un récipient appelé« O'kka » à température ambiante.



**Photo 11 : Beurre et babeurre (Makhloufi,2010 )**

## III-4- Procédé de fabrication moderne

La fabrication du beurre par procédé industriel se fait comme indiqué dans la figure suivante :

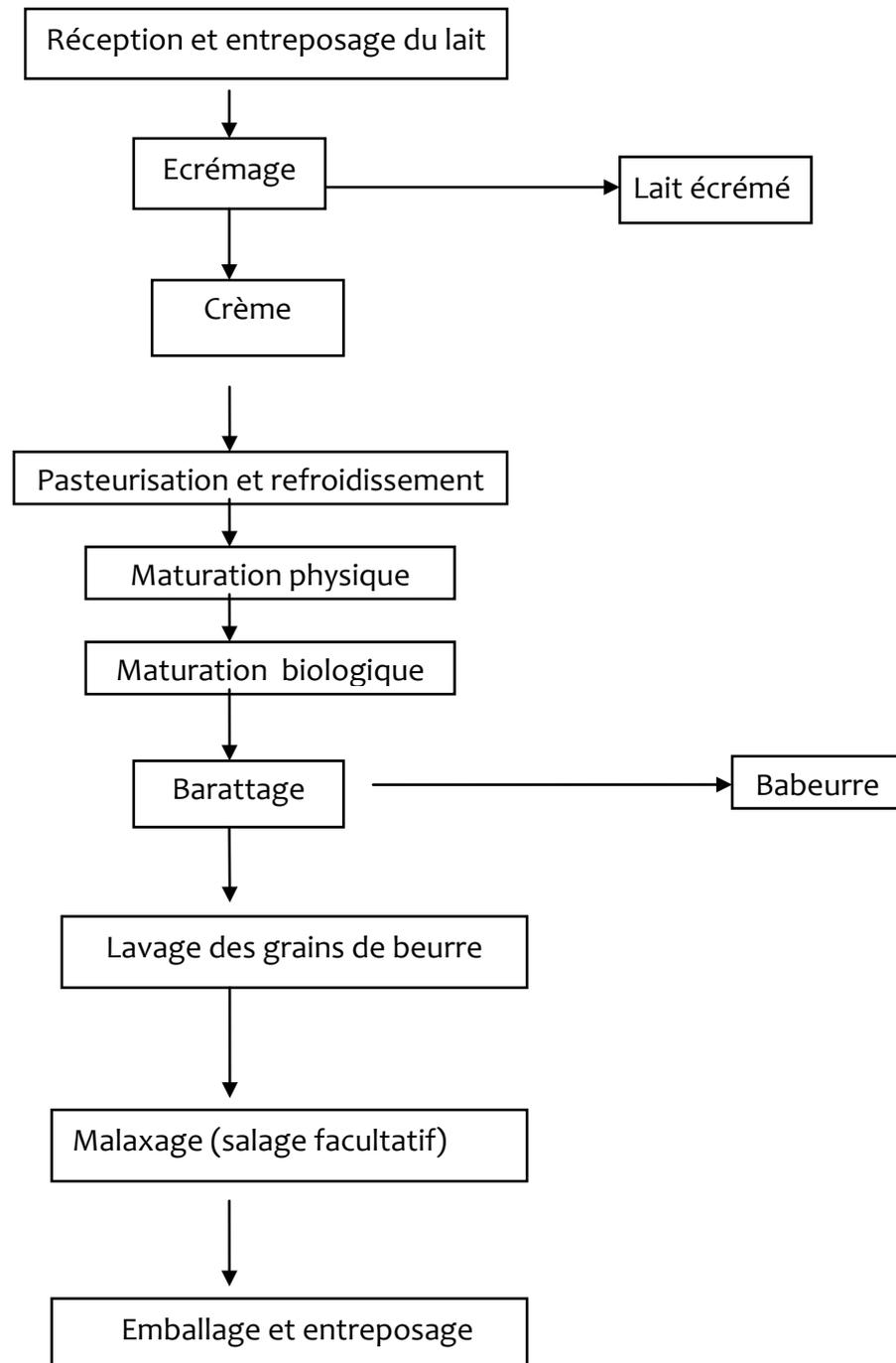


Figure 02 : Etapes de fabrication du beurre ( Angers, 2002 ).

### III-4-1- Ecrémage

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: le lait écrémé et la crème (FAO, 1995). Auparavant, le lait est chauffé à 50°C pour l'obtention d'un meilleur rendement d'écémage (Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques, 2002). L'écémage se fait par centrifugation avec des machines perfectionnées à une température de 35°C (Vierling, 2003).

### III-4-2- Pasteurisation

C'est une étape facultative. La crème est pasteurisée à température élevée (95°C - 98°C) pendant 30 secondes) dans des appareils le plus souvent à plaques. Elle permet la destruction de tous les germes pathogènes et la plupart des germes saprophytes banaux ; elle s'ensuit d'un refroidissement immédiat (Veisseryre et Lenoir, 1992).

### III-4-3- Barattage

Le barattage consiste à agglomérer par un mouvement mécanique les petits globules de matière grasse contenus dans la crème : qui permet d'obtenir du beurre et du petit-lait. Il y a un très grand nombre de barattes différentes. Une bonne baratte doit être solide, facilement accessible dans toutes ses parties pour que son entretien et son nettoyage soient faciles ; la température devant pouvoir y être maintenue à peu près constante (Kanafani Zahar, 1994).

### III-4-4-Maturation

Le principe est de la refroidir et de la maintenir à basse température assez longtemps pour obtenir une proportion optimale de gras solidifié par rapport au gras liquide (Angers, 2002). La maturation biologique permet d'acidifier la crème et d'y développer un arôme marqué et typique, de favoriser l'inversion de phase et de baisser le pH. L'ensemencement de la crème à 3 - 5 % de bactéries lactiques s'effectue à l'aide d'une pompe doseuse. Aujourd'hui, l'acidité finale recherchée est nettement plus faible qu'elle ne l'était par le passé. La tendance est donc à une modération de la maturation biologique. Lorsque le pH atteint une valeur proche de 5,5-5,8, la maturation est ralentie par un refroidissement de la crème à 8°C (Jeant et al., 2008).

### III-4-5- Lavage

Il permet de refroidir et de resserrer le grain, de diluer les gouttelettes de babeurre par de l'eau afin de limiter le développement microbien. En général, on ne peut pas descendre en - dessous de 0,5 à 1% de non- gras (Jeant **et al .,2008** ).

### III-4-6- Malaxage

Le malaxage est le traitement destiné à mélanger intimement les granules de beurre entre – elles pour obtenir un produit de consistance et de texture désirables. Il a aussi pour effet d'expulser le gras liquide et les cristaux des globules gras. Pour la fabrication de beurre salé, c'est pendant le malaxage que l'ajout de sel pur se fait. La teneur en sel est limitée à 1,5% (**Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques, 2002**).

### III-4-7- 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 (Jeant **et al., 2008** ).

## III-5- Caractéristiques générales du beurre

### III-5-1- Classification

Il existe différentes qualités du beurre selon les lieux et les processus de fabrication (**Apfelbaum, Romon, Dubus, 2009** ).

#### III-5-1-1- Beurre fermier

Appelée « zebda beldia » en dialecte, le beurre fermier est un produit laitier traditionnel largement consommé au Maroc ( **Zinedine, Faid et Benlemlih, 2007** ) . Fabriqué dans les fermes avec des crèmes crues, il s'altère rapidement ( **Apfelbaum, Romon et Dubus, 2009** ) .

#### III-5-1-2- Beurre cru

La dénomination de beurre cru ou beurre de crème crue est réservée au beurre obtenu exclusivement à partir de crème n'ayant pas subi de traitement thermique d'assainissement (décret n° 88-1204 du 30 décembre 1988) (**G.R.E T, 2002** ).

### III-5-1-3- Beurre fin

Le beurre fin est un produit pasteurisé, la crème étant un mélange de crème pasteurisée et de crème surgelée ou congelée (Vierling , 2003 ).

### III-5-1-4- Beurre extra

Il doit être fabriqué 72 heures au plus tard du lait ou de la crème. La pasteurisation et le barattage de la crème doivent se faire dans les 48 heures qui suivent l'écémage ; la crème ne devant pas avoir subi de désacidification, ni d'assainissement sauf la pasteurisation, ni avoir été congelée ou surgelée ( Vierling , 2003 ).

### III-5-1-5- Beurre allégé

Le beurre allégé a une teneur en matière grasse comprise entre 41% et 65%. La crème est préalablement pasteurisée (C.N.I. E. L, 2000).

### III-5-1-6- Le beurre aromatisé

Un beurre aromatisé est un beurre qui a subi l'adjonction, à chaud ou à froid, de divers produits comme les épices, les herbes aromatiques, les fromages, l'ail, le miel, les fruits et le cacao (C.N.I. E. L, 2000).

### III-5-2- Caractéristiques organoleptiques

Selon la saison, le goût, la texture et la couleur du beurre, les caractéristiques organoleptiques changent. Un beurre de printemps fait avec du lait de vaches nourries à l'herbe aura ainsi plus d'arôme et une texture plus tartinable. En effet, la race de vache et le fourrage influent sur la composition en acides gras et ainsi, les beurres fabriqués avec du lait produit par des vaches nourries à l'herbe contiennent une plus grande proportion d'acides gras non saturés ( notamment l'acide oléique ) qui jouent un rôle important du point de vue diététique . De même, un beurre de printemps sera jaune pâle tandis qu'un beurre d'hiver sera blanc. Aussi, la texture du beurre est fonction des rapports entre la matière grasse liquide et la matière grasse solide ( Cossut et al., 2002 ).

### III-5-3- Caractéristiques physicochimiques du beurre

#### III-5-3-1- Caractéristiques physiques

##### a) Point de fusion

En fonction de leur composition en acides gras, les corps gras ont une texture différente pour une même température. Ainsi, au réfrigérateur, le beurre est dur tandis que certaines margarines sont crémeuses et les huiles sont liquides. Le point de fusion augmente avec le nombre d'atomes de carbone (**Tableau 03**) des acides gras saturés. Le point de fusion diminue avec le nombre de doubles liaisons des acides gras insaturés. Plus le nombre de doubles liaisons est élevé, plus le point de fusion diminue (**Tableau 04**) (Cossut et al., 2002)

**Tableau 03** : Points de fusion en fonction du nombre d'atomes de carbone.

Désignation	Nombres d'atomes de carbone	Nombre de doubles liaisons	Point de fusion
Acide Butyrique	4	0	-7,9°C
Acide Stéarique	18	0	69,5°C

**Tableau 04** : Points de fusion en fonction du nombre de doubles liaisons.

Désignation	Nombre d'atomes de carbone	Nombre de doubles liaisons	Point de fusion
Acide oléique	18	1	13,4°C
Acide linoléique	18	2	-5°C
Acide linoléique	18	3	-11°C

**b) Indice de réfraction**

L'indice de réfraction croît avec le degré d'insaturation des acides gras contenus dans les matières grasses. Il permet de différencier l'apparence du corps gras aux deux groupes suivants : graisses végétales ( $R = 1,448$  à  $1,458$ ) ou animales ( $R = 1,458$  à  $1,463$ ) (Adrian et al., 1998).

**III-5-3-2- Caractéristiques chimiques du beurre****a) L'acidité**

Il s'agit de la mesure de la quantité d'acide gras libre dans une matière grasse alimentaire. Elle s'exprime par le nombre de mg d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser l'acidité grasse présente dans un 1 gramme de lipides. Suivant la nature du corps gras, trois modes d'expression sont utilisés : en quantité équivalente d'acide oléique ou palmitique ou encore laurique. Un simple artifice de calcul, prenant en compte la masse molaire de l'acide gras, permet de passer d'un mode d'expression à l'autre. L'acidité libre des lipides renseigne principalement sur l'altération des triglycérides à la suite d'une hydrolyse chimique ou enzymatique lorsqu'ils se trouvent dans des conditions propices (Adrian et al., 1998).

**b) L'indice de peroxyde**

Il s'agit de la mesure du degré d'oxydation des corps gras. L'importance de l'oxydation est évaluée par la mesure de l'indice de peroxyde et par la composition en carbonyles totaux (Al-Marrakchi et al., 1986). Selon (Pokorný, 2003), l'oxydation des lipides peut s'effectuer suivant différents mécanismes: Auto-oxydation, Oxydation enzymatique, Oxydation due à l'oxygène singulet.

**III-5-3-3- Valeur nutritionnelle:**

Le beurre est un aliment énergétique constitué principalement de glycérides (Tableau 05). Il est solide à la température ambiante (Charles et Guyl, 1997).

Tableau 05 : Composition moyenne pour 100 g de beurre ( Apfelbaum, Romon, Dubus , 2009 ).

Composants	Valeurs
Energie	3155 Kjoules, 755 Kcalories
Lipides	83 g dont :
Acide gras saturés	52.6 g
Acides mono-insaturés	23.5 g
Acide gras polyinsaturés	2 g
Protéines	1 g
Glucides	1 g
Eau	15g
Cholestérol	250 mg
Vitamine A	900 µg à 1 mg
Vitamine D2	5 µg

## **I - Introduction:**

La flore saharienne connue par sa bio-résistance au climat aride est riche en espèces qui poussent à l'état sauvage. A cette richesse naturelle s'oppose cependant une rareté des stratégies adoptées pour sa valorisation. En effet, la majorité des espèces sont encore mal connues et largement sous exploitées (**Chehema et Youcef, 2009**).

Ce travail s'intéresse à la valorisation de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Béchar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L.) par l'étude de leurs activités antimicrobienne et antioxydante et de leurs impacts sur la conservation du beurre et des dattes.

Le choix a porté sur ces deux espèces après enquête menée chez des herboristes et des guérisseurs pratiquant ce métier dans la région de Béchar. Aussi, ces plantes sont très utilisées en médecine traditionnelle par les populations locales grâce à leurs propriétés phytothérapeutiques notamment dans le cas des troubles gastro-intestinaux et respiratoires et, comme antioxydants, conservateurs et arômes.

## **II - Criblage phytochimique et activité antimicrobienne des deux plantes**

### **II - 1 Matériel végétal**

#### **II - 1 - 1 Origine géographique et période de récolte**

Au sud ouest algérien, la wilaya de Béchar s'étend sur une superficie de 161,400Km<sup>2</sup>, soit 6,7% du territoire algérien et à une altitude de 784m. Le climat est sec et chaud en été atteignant jusqu'à 50°C, froid en hiver avoisinant -5°C et l'humidité est faible (aux environs de 27%). La région est connue pour ses vents de sable fréquents. La précipitation moyenne annuelle est de 60 mm (**Mokhtari et al., 2008**). Le territoire de la ville est entouré par des reliefs dont les principaux sont :

- les montagnes : Djebel ANTAR (1953m), Djebel Grouz (1835m) et Djebel Béchar (1206m) ;
- les oueds : oued Zouzfana, oued Guir, oued Béchar... ;
- les dunes : Grand Erg Occidental ;
- la plaine : Hamada de Guir.

Les espèces *Rosmarinus officinalis* L. (**Photo 12**) et *Matricaria pubescens* (Desf.) (**Photo 13**) ont été récoltées dans leurs habitats naturels au nord de la ville de Béchar (**figure 03**). Les cueillettes sont effectuées à Djebel Antar pour *R. officinalis* L. et aux abords des oueds du nord de la ville de Béchar pour *M. pubescens* (Desf.).



**Photo 12:** *Rosmarinus officinalis* L. Béchar , Djebel Antar (Makhloufi 2009 )



**Photo 13 :** *Matricaria pubescens* (Desf.) Région de Béchar (Makhloufi, 2009)

Les plantes ont été cueillies durant la période de Février – Mai 2009. Elles sont ensuite lavées, séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant une dizaine de jours à la température de chambre. Il est à noter qu'une quantité de ces plantes a servi à la détermination de la teneur en eau avant le lavage.

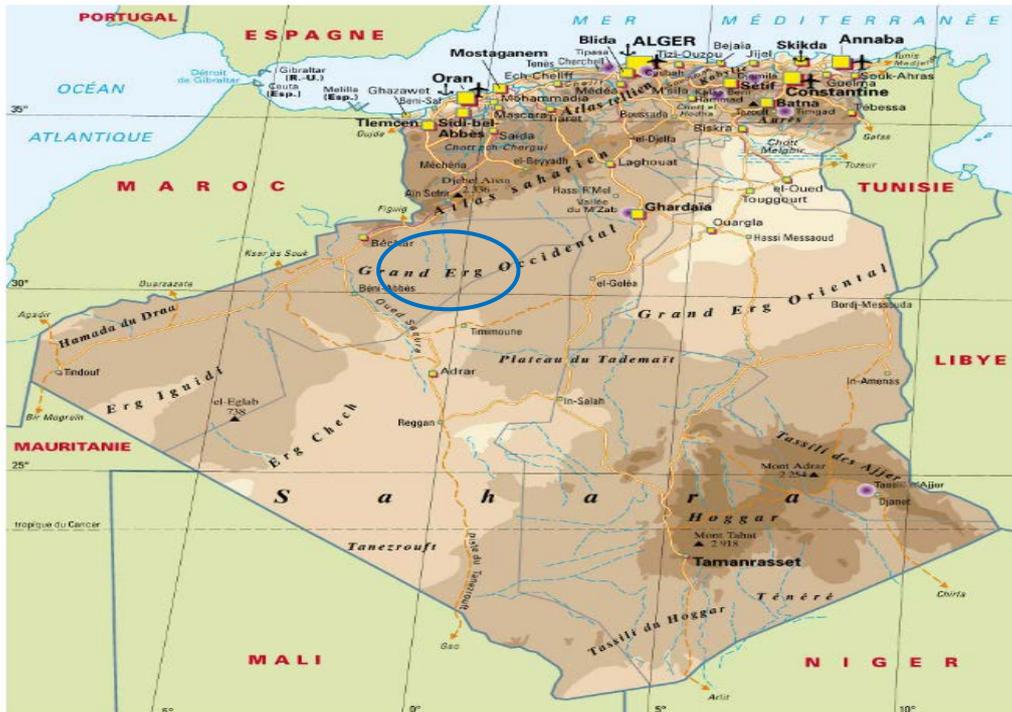


Figure 03 : Carte géographique situant la wilaya de Bécharr.

### II -1 -2 – Taux d'humidité

Le taux d'humidité a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve, à 103°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. C'est une méthode gravimétrique qui consiste en la détermination de la perte de poids par dessiccation (Lazouni et al., 2007). Considérons :

$$H\% = \frac{(\text{poids } \alpha - \text{poids } \beta)}{\text{poids } \alpha} \times 100$$

A : Poids de l'échantillon « plante fraîche » ;

B : poids de l'échantillon « plante sèche » ;

H% : taux d'humidité exprimé en pourcentage.

### II - 2 - Criblage phytochimique

Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation (Yemoa et al., 2008). Les trois parties de *Rosmarinus officinalis* L. et *Matricaria pubescens* (Desf.) concernées sont les tiges, les feuilles et les fleurs.

L'extraction des différentes familles de composés chimiques nécessite l'utilisation des solvants de polarités différentes (eau, éthanol et éther diéthylique) (Figure 04).

Les saponosides, stérols et stéroïdes, flavonoïdes, tanins, coumarines, alcaloïdes, anthracénosydes, anthocyanosides et les émодols sont identifiés grâce aux tests phytochimiques qualitatifs décrits par les méthodes de Fachmann et Kraut (1995) et Withil et Anton (1999). La méthode d'extraction consiste à porter l'échantillon de la plante au reflux dans l'un des solvants cités pendant 1h.

#### **II -2- 1 - Préparation des extraits**

On a effectué un broyage des plantes à l'aide d'un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène. Selon la technique utilisée, on réalise une extraction solide-liquide soit par macération ou par extraction à reflux (annexe).

#### **II – 2 – 2 - Réaction de caractérisation**

Il s'agit d'une analyse qualitative (annexe) basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Celle-ci est effectuée sur des drogues végétales.

#### **II – 3 - Analyses des huiles essentielles**

##### **II – 3 – 1 - Extraction des huiles essentielles**

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydro distillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (figure 05) de 300g de matériel végétal sec pendant 2 heures 30 minutes. Les vapeurs chargées d'huile, en traversant un réfrigérant se condensent et versent dans une ampoule à décanter (Amarti et al., 2008).

L'eau et l'huile se séparent par différence de densité (photo 14). L'huile séparée de l'eau aromatique est séchée par du sulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) et conservée à + 4°C dans des tubes à l'abri de la lumière jusqu'à leur usage (Chanthaphon et al., 2008 ; Ayoughi et al., 2011).

### II - 3 -2 - Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante traitée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{P_b}{P_a} \times 100$$

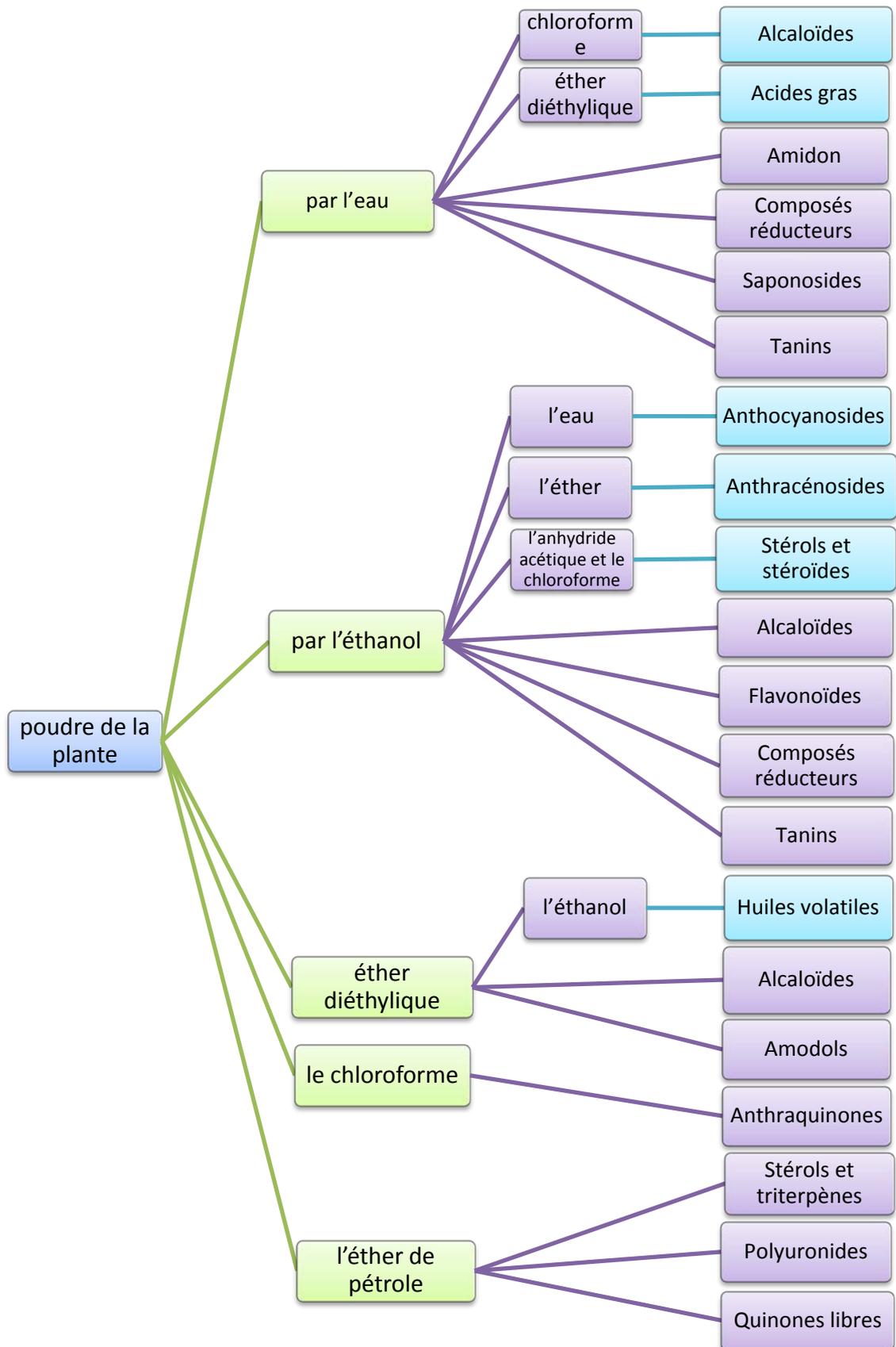
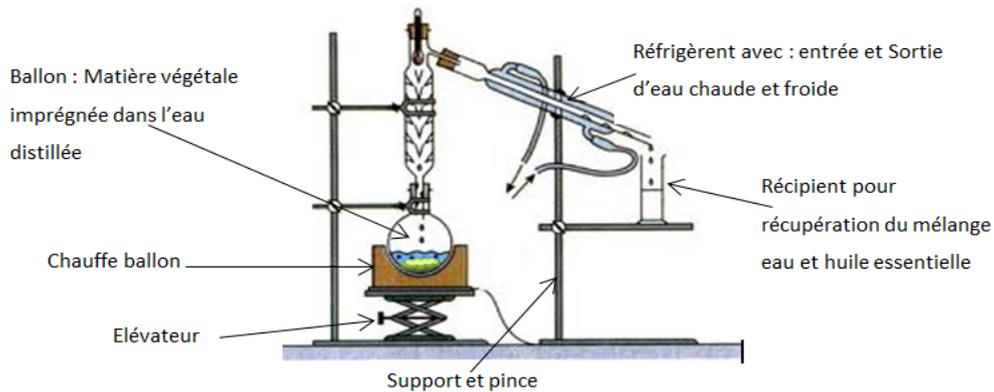
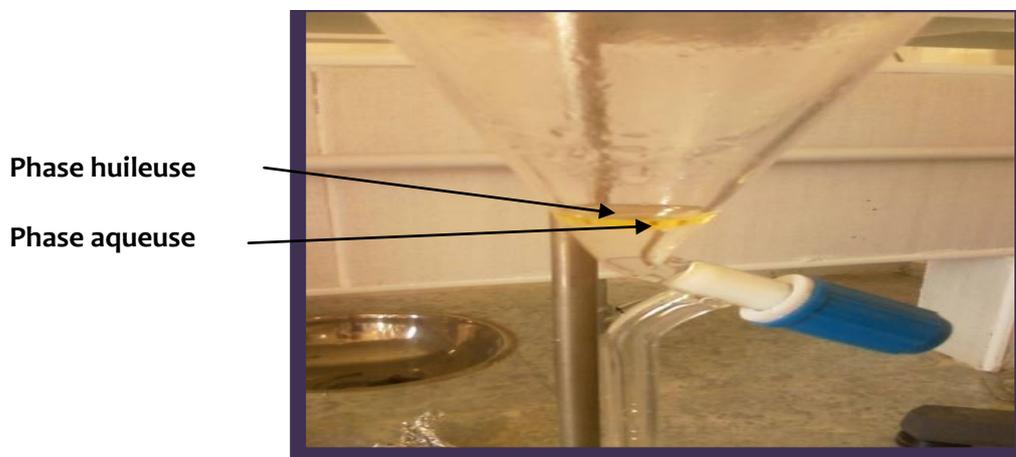


Figure 04 : Etapes du screening phytochimique.



**Figure 05 :** Dispositif utilisé pour l'extraction des H.E par hydrodistillation



**Photo 14 :** Séparation des H.E par décantation.

Où :  $R$  : rendement en % ;

$P_a$  : poids de la plante en g ;

$P_b$  : poids de l'huile en g.

Une série de mesures est nécessaire pour calculer la moyenne :

$$R = \left( \sum P_b - \sum P_a \right) \times 100$$

### II – 3 – 3 - Propriétés chimiques (Normes AFNOR, 1992)

#### II – 3 – 3 – 1 - Indice d'acide (NFT 75 103, 1982)

L'indice d'acide (I.A) est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1 g de substance.

### Mode opératoire

Peser 2 g d'H.E. Introduire la prise d'essai dans le ballon. Ajouter 5 ml d'éthanol à 95% et 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine. Titrer le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium (0,1 M) jusqu'à obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes. Noter le volume de solution d'hydroxyde de potassium utilisé. Mettre en réserve le ballon et son contenu pour la détermination de l'indice d'ester. L'indice d'acide (I.A) est donné par l'équation suivante :

$$I.A = V * 5,61/m \quad \text{où :}$$

**V** : est le volume en millilitres de solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour le titrage ;

**m** : est la masse en grammes de la prise d'essai (exprimer le résultat à une décimale près) ;

**5,61** : correspond à 0,1 mole/l de KOH ajoutée.

### II - 3 - 3 - 2 - Indice d'ester (NFT 75 104, 1982)

L'indice d'ester (I.E) est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres par l'hydrolyse des esters présents dans 1 g de substance.

### Mode opératoire

Cette détermination est effectuée sur la solution provenant de la détermination de l'indice d'acide.

Ajouter 25 ml de la solution d'hydroxyde de potassium ainsi que des fragments de pierre ponce dans le ballon provenant de la détermination de l'indice d'acide. Adapter le réfrigérant à reflux au ballon et le placer ensuite sur le manteau chauffant qui sera maintenu sur le ballon pendant une heure. Laisser ensuite refroidir le ballon et démonter le tube. Ajouter 20 ml d'eau et quelques gouttes de solution de rouge de phénol .Titrer l'excès d'hydroxyde de potassium avec la solution d'acide chlorhydrique. En parallèle, effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions mais en prenant soin d'ajouter au préalable 5 ml d'éthanol neutralisé (ce volume correspond au volume introduit lors de la détermination de l'indice d'acide).

L'indice d'ester est donné par la relation suivante :

$$I.E = 28,05 (V_0 - V_1) \quad \text{où :}$$

**V<sub>0</sub>** : est le volume en millilitres de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour l'essai à blanc ;

$V_1'$  : est le volume en millilitres de solution d'acide chlorhydrique utilisée dans la détermination de l'I.E ;

28,05 : correspondant à 0,5 M de KOH.

Exprimer le résultat avec 2 chiffres significatifs s'il est inférieur à 100 et avec 3 chiffres significatifs s'il est égal ou supérieur à 100.

### **II – 3 – 4 - Propriétés physiques (Normes AFNOR, 1992)**

#### **II – 3 – 4 – 1 - Densité relative à 20°C (NFT 75 111, 1982)**

La densité relative de l'huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C et la masse d'un égal volume d'eau distillée à 20°C.

#### **II – 3 – 4 – 2 - Pouvoir rotatoire (NFT 75 113, 1982)**

Le pouvoir rotatoire est un critère important de pureté de l'huile essentielle qui permet de savoir si elle est optiquement active (**Guenther, 1972**). Si un faisceau lumineux polarisé dans un plan traverse une solution d'une substance, le plan de polarisation est dévié selon un angle qui est fonction :

- de la longueur d'onde de la lumière utilisée ;
- de la température ;
- de la nature de la substance ;
- de la nature de la solution.

Une telle substance est dite douée d'une activité optique. On mesure la valeur de l'angle de déviation du plan de polarisation à l'aide d'un polarimètre. La lumière monochromatique utilisée est le plus souvent la raie D du sodium ; les mesures sont en général réalisées à la température de 20 C°.

### **Mode opératoire**

Calibrer l'appareil (POLAX-2L) selon les recommandations du constructeur. Allumer la source lumineuse et attendre la pleine luminosité. Remplir le tube avec l'échantillon en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposée. Placer le tube dans le polarimètre et lire la mesure de l'angle de rotation. Le pouvoir rotatoire est exprimé par la relation :

$$[\alpha]_{\omega} = \frac{R \times 100}{C \times L}$$

**R** = angle de rotation est plan de polarisation mesuré en degrés au polarimètre ;

**C** = concentration de la substance en g /100ml solution ;

**L** = longueur du tube de polarimètre contenant la solution exprimée en centimètre.

### II – 3 – 4 – 3 - Indice de réfraction (NFT 75 112, 1977)

Les indices de réfraction sont mesurés à l'aide d'un réfractomètre à la température de chambre puis ramenés à 20°C par la formule :  $I_{20} = I_t + 0,00045 (T - 20^{\circ}\text{C})$  où :

$I_{20}$  : indice à 20°C ;

$I_t$  : indice à la température de chambre ;

T : température de mesure.

L'étalon pour réflectométrie servant à ajuster le réfractomètre est l'eau distillée avec un indice de réfraction de (1,333) à 20°C.

#### Mode opératoire

Régler le réfractomètre en mesurant l'indice de réfraction de l'eau distillée qui doit être de 1,333 à 20°C. Ouvrir le prisme secondaire et déposer 2 ou 3 gouttes de l'échantillon liquide sur la partie centrale du prisme principal. Fermer ensuite doucement le prisme secondaire. L'échantillon s'étale entre le prisme principal et le prisme secondaire en un film mince. Attendre que la température soit stable et effectuer la mesure. La valeur de la mesure pour un échantillon liquide étant modifiée suivant le changement de température, lire l'indication de température pour connaître la température de mesure réelle et la joindre sans faute à la valeur mesurée.

L'indice de réfraction  $n_t$  (IR) à la température de référence t, est donné par l'équation suivante :

$$n_t(\text{IR}) = n_{t'} + 0,0004 (t-t') \quad \text{où :}$$

$n_t$  est la valeur de lecture obtenue à la température ( $t'$ ) à laquelle a été effectuée la détermination.

#### **II-4- Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits et des H.E de *Rosmarinus officinalis* L. et *Matricaria pubescens* (Desf.)**

##### **II - 4 - 1 - Préparation des extraits**

###### **II - 4 - 1 - 1 - Extrait aqueux**

Cinquante grammes de poudre de chacune des plantes ont été portés à ébullition pendant 20 minutes dans 1000 ml d'eau distillée puis filtrés. Ce filtrat a ensuite été séché jusqu'à poids constant du résidu (Loubaki, 1999 ; Sqalli et al., 2001 ; Kassi et al., 2008).

###### **II - 4 - 1 - 2 - Extrait alcoolique (méthanolique ou éthanolique)**

Quinze grammes de poudre de chacune des plantes ont été mis à macérer dans 100 ml d'alcool à 99,9 % pendant 24 h à l'ombre avec une agitation continue à la température de chambre (Abbassi et al., 2005). L'extrait est filtré et séché à 65 °C à poids constant (Iqbal & Arina, 2001 ; Kassi et al., 2008).

##### **II - 4 - 2 - Souches testées**

Notre travail consiste à étudier l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits de *Rosmarinus officinalis* L. et *Matricaria pubescens* (Desf.). Les tests sont réalisés sur sept souches bactériennes et trois souches fongiques (Tableau 06).

###### **II - 4 - 2 - 1 - Vérification de la pureté des souches**

###### **a) Les bactéries**

La vérification des puretés des souches (**annexe**) est basée sur :

- l'observation macroscopique des colonies (couleur, aspect et diamètre) et l'observation microscopique des bactéries (mobilité, forme et le mode de réarrangement) ;

- la coloration de Gram ;

- le test de la catalase et de l'oxydase.

###### **b) Les champignons**

L'identification des genres de moisissures (**annexe**) repose sur :

- des caractères culturaux (macroscopiques) : vitesse de croissance, couleur et texture des thalles...;
- des observations microscopiques : technique de micro culture;
- Technique de single spore.

**II – 4 – 2 – 2 - Conservation des souches**

Les souches pures sont conservées à 4°C dans la gélose nutritive inclinée pour les bactéries et dans le milieu PDA<sub>ac</sub> ( Potatos Dextrose Agar acidifié) incliné pour les champignons .

**II – 4 – 3 - Préparation d'inoculum**

A partir d'une culture pure des bactéries sur milieu d'isolement (milieu gélose nutritive) ayant au maximum 24h, on racle à l'aide d'une pipette pasteur scellée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Ensuite, on décharge la pipette pasteur dans 10 ml d'eau physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne ; son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O égale à 0,08 à 0,10, lue à la longueur d'onde de 625 nm qui correspond à 10<sup>8</sup> UFC/ml ( **Gachkar et al., 2007** ) .

Pour les souches fongiques, on utilise des disques de gélose de 6 mm de diamètre d'une culture de champignons d'au moins 7 jours à l'aide d'une pipette pasteur. On compte le nombre des spores à l'aide d'une cellule de Malassez sous microscope photonique, la solution doit contenir environ 10<sup>6</sup> spore/ml (**Ouraïni et al., 2007** ) .

**Tableau 06 :** Les souches microbiennes testées et leurs origines.

Les souches testées	Origine
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Laboratoire Produits Naturels. Université de Tlemcen
<i>Pseudomonas aeruginosa.</i> Gram négative ATCC 27853	Laboratoire Produits Naturels . Université de Tlemcen
<i>Bacillus cereus.</i> ATCC 11778	Laboratoire Produits Naturels. Université de Tlemcen
<i>Listeria</i>	Laboratoire Produits Naturels .

		monocytogenes	Université de Tlemcen
		ATCC 19115	
Bactéries	Gram positive	<i>Staphylococcus aureus</i> .	Laboratoire Produits Naturels . Université de Tlemcen
		ATCC 25923	
		<i>Enterococcus faecalis</i> .	Laboratoire Produits Naturels . Université de Tlemcen
		ATCC 29212	
		<i>Aspergillus niger</i> (1), isolées à partir des dattes	Laboratoire de Valorisation des Ressources Biologiques . Université de Béchar
Champignons	Filamenteux	<i>A. flavus</i> (1), isolées à partir des dattes	Laboratoire de Valorisation des Ressources Biologiques. Université de Béchar
		<i>Penicillium purpurogenum</i> . isolées à partir des dattes	Laboratoire de Valorisation des Ressources végétales. Université de Béchar
		<i>P.Jensinii</i> , isolées à partir du Blé	Laboratoire de Valorisation des Ressources végétales. Université de Béchar
		<i>P.escpansum</i> , isolées à partir du Blé	Laboratoire de Valorisation des Ressources végétales. Université de Béchar
		<i>A. flavus</i> (2), isolées à partir du Blé	Laboratoire de Valorisation des Ressources végétales. Université de Béchar

**ATCC** : American Type Culture Collection.

#### **II – 4 – 4 - Préparation des solutions de référence d'antibiotiques :**

Pour les bactéries, l'antibiotique utilisé est l'ampicilline (Société Pharmaceutique Algérienne) avec une dose de 0,2 g /l d'eau distillée stérile. Similairement, la griséofulvine est l'antifongique utilisée pour les champignons dont la dose est la même (200 mg/l).

#### II – 4 – 5 - Technique de Vincent (méthode des disques)

Afin de tester l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, nous avons utilisé la méthode de l'antibiogramme par diffusion à partir de disques imprégnés d'huile essentielle pure. Les milieux coulés en boîte de Pétri sont ensemencés avec 1 ml de suspension bactérienne de  $10^8$  UFC/ml pour les bactéries ( **Shunying et al., 2005** ) et une suspension sporale de  $10^6$  UFC/ml . L'excédent de l'inoculum est éliminé par aspiration ( **Bansod & Rai, 2008** ) . Un volume correspondant à 5  $\mu$ l d'huile essentielle est déposé sur des disques de papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre. En parallèle, des témoins sont utilisés afin de vérifier la croissance des différentes souches ( **Bekhechi , Atik-Bekkara et Abdelouahid , 2008** ) .

#### II – 4 – 6 - Méthode de contact direct

##### II – 4 – 6 - 1 Huiles essentielles

Les tests antimicrobiens sont réalisés selon la méthode rapportée par Remmal et al. (1993), Farah et al. (2001) Satrani et al. (2007). L'huile essentielle est émulsionnée par une solution d'agar à 0,2 % afin de disperser les composés et d'améliorer leur contact avec les germes testés. Des dilutions sont préparées au 1/5 , 1/10 , 1/15 , 1/20 , 1/25 , 1/30, 1/35 , 1/40 , 1/45, 1/50 ..... , 1/500 dans cette solution d'agar. Dans des tubes à essais contenant chacun 13,5 ml de milieu solide MH (Muller Hinton) pour les bactéries et de PDA<sub>ac</sub> pour les moisissures , on ajoute 1,5 ml de chacune des dilutions de façon à obtenir les concentrations finales de 1/50 , 1/100, 1/150 , 1/200 , 1/250 , 1/300 , 1/350 , 1/400 , 1/450 , 1/500 ..... , 1/5000 . Puis on agite les tubes avant de les verser dans des boîtes de Pétri. Des témoins contenant le milieu de culture et la solution d'agar à 0,2 % seule sont également préparés.

L'ensemencement se fait par étalement à l'aide d'une pipette pasteur sous forme d'un râteau. Ce dernier se présente sous forme de bouillon de culture de 24 heures pour les bactéries dilué dans de l'eau physiologique de manière à renfermer environ  $10^8$  germes/ml correspondant à une densité optique variant entre 0,08 et 0,1 à 625 nm ( **Joffin & Leyral , 2001** ) et de spores provenant d'une culture de sept jours dans le PDA pour les moisissures . L'incubation a lieu pendant 24 h à 37°C pour les bactéries et sept jours à 25°C pour les champignons. La lecture s'effectue le jour suivant pour les bactéries et après 4 à 7 jours pour les champignons ; les boîtes considérées positives sont celles qui renferment des colonies visibles. Chaque essai est répété trois fois ( **Bourkhiss et al., 2007** ) .

##### II – 4 – 6 - 2 Extraits

**a ) Concentration minimale d'inhibition des extraits aqueux**

Une solution-mère de concentration de 10 mg/ml est obtenue par dissolution de 1 g de l'extrait sec de chaque plante dans 100ml d'eau distillée stérile. Des volumes de 0,25ml, 0,5 ml, 0,75 ml, 1ml, 1,25ml, 1,5ml,..... 3,5ml sont pris et complétés jusqu'à 15 ml par le milieu MH ; la gamme des concentrations finales ainsi obtenues correspond à 0,166ml – 0,333mg/ml - 0,5mg/ml - 0,666mg/ml - 0,833mg/ml - 1mg/ml - ..... 2,33mg/ml. Après solidification, l'inoculation des géloses est effectuée par étalement en surface. Des témoins de croissance et de stérilité du milieu sont réalisés pour chaque souche et pour chaque série d'essais. Tous les essais sont réalisés trois fois (**Abdel massih et al., 2010** ).Après incubation à 37°C pendant 24 heures, la croissance est comparée à celle du témoin. La CMI est définie comme la plus petite concentration d'extrait pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin sans extrait.

**b) Concentration minimale d'inhibition des extraits éthanolique et méthanolique**

Une solution-mère de concentration de 10 mg/ml est obtenue par dissolution de 1 g de l'extrait sec de chaque plante dans 100ml d'eau distillée stérile. Des séries de dilutions sont préparées (voir II -4-6-2(a)), afin de déterminer la CMI de chaque extrait.

**III - Evaluation de l'activité antioxydante des deux plantes**

**III - 1 - Test au DPPH**

**III – 1 - 1 - Principe :**

Le composé chimique 2,2- diphényl -1-picrylhydrazyle (DPPH) possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères et restent dans leur forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue violette bien caractéristique de la solution de DPPH. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue due à une recombinaison des radicaux DPPH, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm ( **Popovici et al. ,2009** ). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2.2 diphényl- 1- picryl hydrazyle ) de couleur violette se réduit en 2,2 diphényl -1- picryl hydrazine de couleur jaune ( **Maataoui et al. , 2006** ).

**III – 1 – 2 - Mode opératoire :**

Pour les extraits et les H.E, on prépare une solution mère de concentration (1mg/ml).des dilutions sont préparées à partir de cette solution(**Tableau07**).

Dans des tubes on introduit 2,5 ml de chaque extrait ou H.E et 1 ml de la solution méthanolique au DPPH (0,3 mM). Après agitation par un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité à température de chambre pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm (Sharma et Bhat , 2009 ; Athamena et al.,2010) .

**Tableau 07 :** Concentrations des extraits pour le test antioxydant avec DPPH

	E.A <i>pubescens</i> (Desf.)	M. <i>officinalis</i> L.	E.A R. <i>officinalis</i> L.	E.E <i>pubescens</i> (Desf.)	M.	E.M R. <i>officinalis</i> L.	H.E <i>pubescens</i> (Desf.)	M.	H.E R. <i>officinalis</i> L.
Concentrations	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
En mg/ml	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

**E.A :** Extrait aqueux, **E.E :** Extrait éthanolique, **E.M :** Extrait méthanolique.

### III – 1 – 3 - Expression des résultats

L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage % RSA (Radical Scavenger Activity) ou par l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre. L'échantillon est relié à l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) à un temps t. Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou par l'inhibition des radicaux libres en pourcentage (RSA %) en utilisant la formule suivante (Obame et al. ,2007 ; Popovici et al. ,2009 ) :

$$\% \text{ RSA} = [ ( \text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}} / \text{Abs}_{\text{contrôle}} ) ] \times 100 \quad ( \text{Popovici et al. , 2009} )$$

où : % : pourcentage de l'activité anti-radicalaire ;

**Abs échantillon** : absorbance de l'échantillon ;

**Abs contrôle** : absorbance du contrôle négatif.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité anti oxydante d'un composé , les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence comme l'acide ascorbique ( vitamine C ) , à des antioxydants synthétiques comme le BHT (butyl-hydroxy-toluène) ou au Trolox (acide-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-chroman-2-carboxylique ) dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E ( **Molyneux , 2004** ).

#### **IV - Evaluation de la qualité physicochimique et microbiologique des dattes et du beurre**

##### **IV – 1 - Les dattes**

###### **IV – 1 – 1- Choix des variétés des dattes**

Afin de choisir les variétés les plus répandues des dattes au niveau de SAOURA , on a procédé à un recensement des variétés avec l'aide du personnel de l'Institut Technique de Développement de l'Agriculture Saharienne ( I.T.D.A.S ) d'Abadla et parmi les plus anciens des agriculteurs de la région (voir annexe).Les variétés retenues dans cette étude sont Cherka (**photo 15**) et Feggous (**photo 16**). Le choix de ces deux variétés se justifie par leurs qualités gustatives et leurs abondances au niveau local.

###### **IV – 1 – 2 - Echantillonnage**

Les dattes étudiées proviennent de la palmeraie de Taghit dans la wilaya de Béchar (**Figure.06**) .Taghit est une agglomération traditionnelle de 6 ksars entourant une vaste palmeraie et se situe dans le nord-est à 95 Km du chef lieu de wilaya. La commune de Taghit regroupe différents paysages typiquement sahariens tels que l'Erg, le Reg, la Hamada, le Djebel, l'Oued et la Palmeraie.

Les palmiers de cette zone sont des palmiers anciens. Le système de production est un système traditionnel avec une irrigation basée sur les nappes sous terraines et les eaux de surface.



**Photo 15:** Variété Cherka entière et en coupe.



**Photo 16 :** Variété Feggous entière et en coupe.

Les dattes étudiées ont été récoltées durant la campagne phoenicicole de 2009. La méthode d'échantillonnage suivie est celle préconisée par Acourene et Tama (1997). Le

prélèvement est réalisé sur deux à trois palmiers homogènes de chacune d'elles. Les fruits sont prélevés au hasard sur plusieurs régimes à diverses hauteurs et orientations.

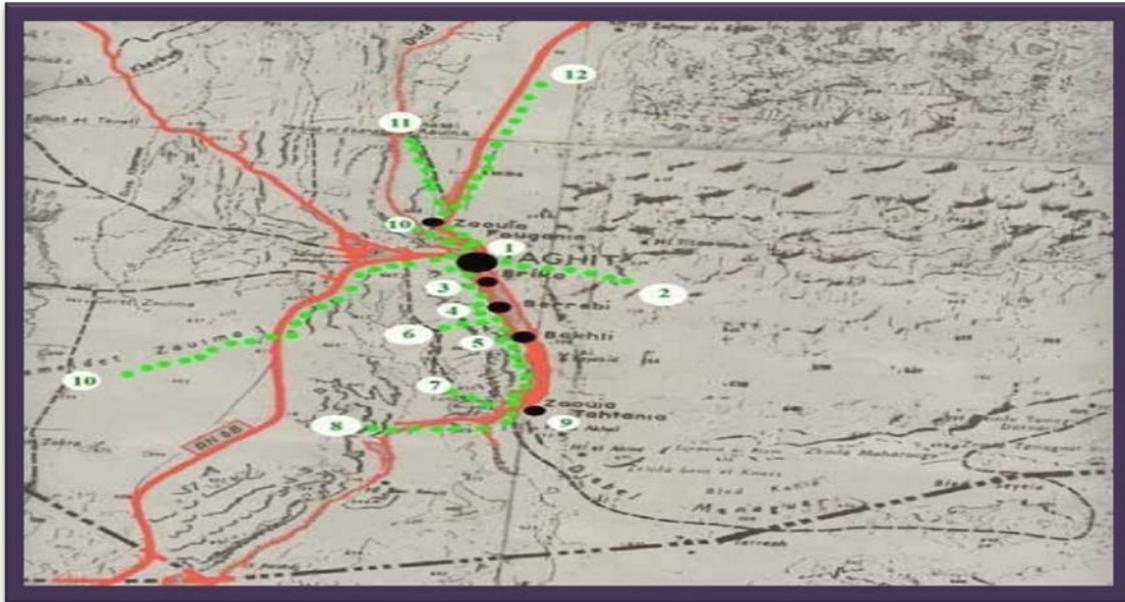


Figure 06 : Carte géographique de Taghit ( Beztout, 2005 ).

Les dattes sont récoltées à pleine maturité et afin de sauvegarder leur qualité initiale, nous avons trié les dattes infestées avant de les conditionner dans des sacs stériles en plastique et de les entreposer dans un réfrigérateur à 4°C (photo 17) jusqu'au jour de l'analyse.



**Photo 17 :** Conservation des dattes dans des sachets stérile à 4°C.

#### IV – 1 – 3 - Qualité physicochimique

##### IV – 1 – 3 – 1 - Caractérisation morphologique des dattes

Les analyses suivantes ont été réalisées sur 10 dattes ( **Antame et Tama , 1997** ) .

- la couleur a été appréciée visuellement ;
- la consistance : déterminée par le calcul de l'indice r ;
- les dimensions sont déterminées à l'aide d'un pied à coulisse et le rapport suivant a été déterminé :

$$\text{rapport longueur/largeur} = \frac{\text{Longueur de la datte (cm)}}{\text{Largeur de la datte (cm)}}$$

Le poids est déterminé à l'aide d'une balance analytique et les indices suivants ont été déterminés :

$$\text{rapport pulpe/datte (\%)} = \frac{\text{poids de la pulpe (g)}}{\text{poids de la datte entière (g)}}$$

$$\text{rapport noyau/datte (\%)} = \frac{\text{poids du noyau (g)}}{\text{poids de la datte entière (g)}}$$

$$\text{rapport pulpe/noyau} = \frac{\text{poids de la pulpe (g)}}{\text{poids du noyau (g)}}$$

##### IV – 1 – 3 – 2 -Teneur en eau (NF V 05-108, 1970)

Un très grand nombre de méthodes sont décrites. Elles sont consignées dans les normes AFNOR ( **Frénot et Vierling, 2001** ) .

#### ➤ Principe

La teneur en eau est déterminée sur une partie aliquote de 1 g broyée et étalée dans une capsule en porcelaine puis séchée dans une étuve à une température de  $103 \pm 2$  °C .

➤ **Expression des résultats**

La teneur en eau est calculée par la formule suivante :

$$TE(\%) = \frac{(M1 - M2). 100}{P}$$

TE % : Teneur en eau ;

$M_1$  : est la masse de la capsule + matière fraîche avant étuvage (g) ;

$M_2$  : est la masse de la capsule + matière fraîche après étuvage (g) ;

P ; est la masse de la prise d'essai (g) .

Matière sèche (%) = 100 - H (%)

**IV – 1 – 3 – 3 - Taux de cendres ( NF V05-113 , 1972 )**

➤ **Principe :**

La pulpe de datte broyée est calcinée à 550 °C dans un four à moufle jusqu'à obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant.

➤ **Mode opératoire :**

- ✓ Dans des capsules en porcelaine, peser 2 g de pulpe de dattes broyées ;
- ✓ Placer les capsules dans un four à moufle réglé à  $550 \pm 15$  °C pendant 5 heures jusqu'à obtention d'une couleur grise claire ou blanchâtre ;
- ✓ Retirer les capsules du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

➤ **Expression des résultats**

$$MO \% = \frac{(M1 - M2)}{P} \times 100$$

MO % : Matière organique ;

$M_1$  : Masse des capsules + prise d'essai ;

$M_2$  : Masse des capsules + cendres ;

P : Masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres (Cd) est calculée comme suit :

$$Cd = 100 - MO \%$$

#### IV – 1 – 3 – 4 - Indice r

Les dattes sont réparties en trois catégories : dattes molles, dattes demi-molles et dattes sèches de consistance dure selon l'indice «r»

$$r = \frac{\text{teneur\_en\_sucre}}{\text{teneur\_en\_eau}}$$

- **dattes molles**                      r < 2
- **dattes demi-molles**            2 < r < 3,5
- **dattes sèches**                    r > 3,5

#### IV – 1 – 3 – 5 - Le pH (NF V 05-108 , 1970 )

Le potentiel d'hydrogène (pH) est une des variables utilisées pour caractériser les propriétés des milieux. Le pH est utilisé dans de nombreux domaines comme variable opératoire, caractérisation du produit fini ou encore à des fins de contrôle de qualité . De nombreuses études se sont attachées à corrélérer sa valeur à des lois cinétiques de réactions, des qualités organoleptiques de produits ou encore des activités enzymatiques ( **Akin , 2008** ) .

##### ➤ **Principe**

Détermination en unité de pH de la différence de potentiel existant entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse de pulpe de datte broyée.

##### ➤ **Mode opératoire**

- ✓ Couper en petits morceaux une partie de l'échantillon ;
- ✓ Placer le produit dans un bécher et y ajouter trois fois son volume d'eau distillée ;
- ✓ Chauffer au bain-marie pendant 30 mn en remuant de temps en temps avec une baguette de verre ;
- ✓ Broyer ensuite le mélange obtenu dans un mortier et procéder à la détermination du pH en prenant soin que l'électrode soit complètement immergée dans la solution.

#### IV- 1 – 3 – 6 - Acidité titrable (NF V 05-101 , 1974 )

##### ➤ **Principe**

Titration de l'acidité d'une solution aqueuse de dattes avec une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphthaléine comme indicateur.

➤ **Mode opératoire**

- ✓ Peser à 0.01g près au moins 25 g de dattes broyées ;
- ✓ Placer l'échantillon dans une fiole conique avec 50 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène ;
  - ✓ Adapter un réfrigérant à reflux à la fiole conique puis chauffer le contenu au bain-marie pendant 30 mn jusqu'à l'ébullition ;
  - ✓ Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 250 ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidi. Bien mélanger puis filtrer ;
  - ✓ Prélever à la pipette 25 ml du filtrat et les verser dans un bêcher ;
  - ✓ Ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine et tout en agitant, titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

➤ **Expression des résultats**

L'acidité titrable est exprimée en grammes d'acide citrique pour 100g de produit :

$$A\% = \frac{(250 \times V_1 \times 100)}{(V_0 \times M \times 10)} \times 0.07 = 175 \frac{V_1}{V_0 \times M}$$

Soit :

A % : acidité titrable ;

M : Masse en grammes de produit prélevé ;

V<sub>0</sub> : Volume en millilitres de la prise d'essai ;

V<sub>1</sub> : Volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium à 0.1 N utilisé ;

0.07 : Facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide citrique.

**IV - 1 – 3 - 7 Teneur en matière grasse (NF EN ISO 734-1, 2000)**

➤ **Principe**

Les corps gras sont des substances organiques qui peuvent être extraites à partir des fruits par des solvants organiques non polaires au moyen de l'appareil Soxhelt.

➤ **Mode opératoire**

- ✓ On sèche le ballon de 500 ml dans une étuve à 100°C pendant 1 heure ;
- ✓ Après refroidissement dans un dessiccateur, on détermine son poids (vide) avec une précision de 0,001 g ;

- ✓ On met 25 g de l'échantillon séché et broyé dans une cartouche d'extraction ;
- ✓ On place cette dernière avec l'échantillon dans l'appareil soxhelt ;
- ✓ On verse 200 ml d'éther de pétrole dans le ballon et 50 ml dans l'extracteur ;
- ✓ On chauffe le ballon pendant 4 heures jusqu'à épuisement de la matière grasse et on élimine le solvant par évaporateur rotatif;
- ✓ On sèche le ballon à une température de 70-80 °C puis on le pèse qu'il ait refroidi dans un dessiccateur avec une précision de 0,001 g. On répète l'opération de séchage jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en matière grasse est déterminée selon la formule suivante :

$$MG(\%) = \frac{P_2 - P_1}{P_3} \cdot 100$$

MG : La teneur en matière grasse

$P_1$  : est le poids du ballon vide (g)

$P_2$  : est le poids du ballon avec l'huile extraite (g)

$P_3$  : est le poids de la prise d'essai (g).

**IV – 1 – 3 - 8 Teneur en sucres totaux (Méthode du Dubois 1956)**

➤ **Principe**

C'est une méthode qui permet la détermination des sucres (oses totaux).

➤ **Mode opératoire**

**Préparation de l'échantillon**

- ✓ On mélange 1 g des dattes séchées et broyées à 300ml d'eau distillée et 3g de  $\text{CaCO}_3$ ;
- ✓ On chauffe le mélange 30min jusqu'à l'ébullition avec le maintien d'agitation ;
- ✓ On ajoute de l'eau distillée jusqu'à 1 l et une quantité d'acétate de plomb après le refroidissement de mélange.

**1<sup>ère</sup> filtration**

Cette étape a pour but d'éliminer les protéines par l'acétate de plomb. Une petite quantité d'oxalate de potassium est ajoutée.

**2<sup>ème</sup> filtration**

L'excès du plomb précipité par l'oxalate de potassium est éliminé dans cette étape.

**Etablissement de la courbe d'étalonnage**

Préparez la gamme étalon selon le tableau suivant (tableau 08).

**Tableau 08** : Dilutions pour la courbe d'étalonnage.

Numéro de tube	Témoin	1	2	3	4
----------------	--------	---	---	---	---

Solution mère (ml) de Glucose( 1 g/l)	0	20	40	60	80
Eau permutée (ml) qsp	100	100	100	100	100
Concentration en glucose (mg/l)	0	200	400	600	800

**Dosage**

Après la filtration, on obtient un extrait à partir duquel on prend 1 ml qu'on mélange avec 1 ml de phénol (5%) et 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré avec le maintien de l'agitation. Les tubes (**photo 18**) sont maintenus pendant 5 min à 100°C et ensuite mis à l'obscurité pendant 30 minutes. La lecture de la densité optique est effectuée à 492nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (marque SHIMADZU, série 1700) tenant compte de la valeur lue de témoin.



**Photo 18** : Gamme d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux.

#### IV – 1 – 3 - 8 Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Kjeldahl (AOAC 945. 18-B )

- **Principe**

Le principe de la méthode est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur. Le sulfate d'ammonium obtenu est distillé sous forme d'ammoniac et dosé après déplacement en milieu alcalin.

❖ **Mode opératoire :**

- ✓ Introduire dans un matras de minéralisation 2 g de poudre de dattes et y ajouter une pincée de sulfate de cuivre et de potassium comme catalyseur;
- ✓ Ajouter 12 ml d'acide sulfurique pur ;
- ✓ Après une attaque à froid pendant 15 mn jusqu'à l'apparition de vapeurs blanches d'anhydride sulfurique, porter le tout dans un minéralisateur à une température de 420 °C pendant 60 mn;
- ✓ Quand la solution devient limpide, elle est refroidie puis complétée à 100 ml avec de l'eau distillée ;
- ✓ La distillation se fait dans un distillateur automatique VELP où l'ajout de 50 ml de lessive de soude à 35 % dans le matras et 30 ml d'acide borique dans une fiole de 250 ml est réalisé selon un programme établi ;
- ✓ Le dégagement d'ammoniac est capté par la solution d'acide borique contenant l'indicateur coloré (mélange de bleu de méthylène et rouge de méthyle) ;
- ✓ L'excès d'ammoniac est titré par une solution d'acide sulfurique à 0,05 N dans un titrateur automatique jusqu'à apparition du virage.

**N.B :** Un essai à blanc est effectué dans les mêmes conditions opératoires.

➤ **Expression des résultats :**

$$\text{mg N} = 14,007 \times (T-B) \times N$$

T = volume en ml de la solution titrant

B = valeur de blanc

N = normalité de la solution titrant utilisée

#### **IV - 1 - 4 - Evaluation de la qualité microbiologique des deux variétés des dattes étudiées**

##### **IV - 1 - 4 - 1 - Introduction**

L'évaluation de la qualité microbiologique d'un produit alimentaire concerne deux aspects : la qualité hygiénique qui caractérise le risque pour la santé du consommateur et la qualité commerciale qui caractérise l'existence ou le risque d'altération (Romain, 2007). Les deux échantillons prélevés ont fait l'objet d'analyses microbiologiques. Il est primordial de s'assurer de l'intégrité et de la représentativité de ces derniers.

On utilise la technique de numération à partir d'un milieu solide. Cette méthodologie est le plus fréquemment réalisée dans des boîtes de Pétri. Elle repose sur le principe que toute bactérie vivante introduite en masse ou en surface d'un milieu gélosé favorable donne naissance après incubation à des colonies macroscopiques. Le nombre total de colonies correspond alors au nombre d'UFC.

#### **IV – 1 – 4 – 2 - Préparation de la dilution mère**

Etant donné la nature solide des dattes, une mise en solution de la flore microbienne est obligatoire. Pour cela nous avons procédé à la préparation de la solution mère de dattes. ON introduit aseptiquement 5g de l'échantillon dans un sac stérile contenant au préalable 45 ml de diluant (l'eau physiologique stérile) puis on homogénéise l'ensemble.

La solution obtenue constitue la solution mère qui correspond à la dilution  $10^{-1}$ . Cela est répété pour les trois types d'échantillons de chaque variété c'est-à-dire les dattes sans ajout, les dattes avec huile essentielle et les dattes avec ajout de la poudre de la plante (partie aérienne).

#### **IV – 1 – 4 – 3 - Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT)**

Il s'agit de l'ensemble des microorganismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance comprise entre  $+20^{\circ}\text{C}$  et  $+45^{\circ}\text{C}$  (Guy, 2002).

##### **- Intérêt :**

- Cette flore indique le degré de contamination microbienne globale et est utilisée comme méthode de contrôle de la qualité hygiénique (Dennain et al., 2001) ;
- Sur le plan technologique une flore mésophile nombreuse indique que le processus d'altération microbienne est fortement engagé (Bourgeois, 1977) ;
- Le nombre des germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération) de produit ;
- au cours des essais de conservation, le dénombrement de la flore «globale» permettra de juger l'incidence de ces diverses opérations de conservation (Guiraud et Rosec, 2004).

##### **- Mode opératoire :**

Le dénombrement des F.A.M.T est réalisé sur gélose standard pour numération P.C.A (Plate Count Agar) par ensemencement en profondeur de 1 ml des dilutions dans la masse du milieu gélose de numération (15 ml de milieu en surfusion à 45-47 °C) (Lightfoot et Maier, 2002)

**- Lecture :**

Les colonies de F.A.M.T se présentent sous forme lenticulaire, seules les boîtes ayant un nombre de colonies comprises entre 30 et 300 seront prises en compte.

#### **IV – 1 – 4 – 4 - Recherche et dénombrement des coliformes**

La famille des entérobactéries regroupe de nombreuses espèces dont la plupart sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Les entérobactéries sont très répandues dans la nature en raison de la contamination de l'environnement par l'intermédiaire des matières fécales. Ce sont des contaminants très fréquents dans les produits alimentaires (Guiraud , 2003 ) .

**- Mode opératoire :**

La numération des coliformes peut être effectuée par ensemencement de 1 ml de produit (ou de la suspension mère) ou de ses dilutions dans 15 ml de milieu gélosé bilié au cristal violet et au rouge neutre (V.R.B.L). Après solidification, la boîte est incubée retournée pendant 24 h à 30°C.

**- Lecture :**

Les colonies à considérer sont violettes à rose-rouges, d'un diamètre voisin de 0,5 à 1 mm et entourées d'un halo rougeâtre de précipité de sels biliaires quand ceux-ci sont modifiés.

#### **IV – 1 – 4 – 5 - Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus***

Ce sont des germes ubiquistes que l'on rencontre aussi bien sur la peau des animaux que chez l'homme (au niveau des muqueuses, du rhino- pharynx, des plaies et des abcès...). Ce sont essentiellement des parasites et saprophytes de l'homme et de l'animal, pathogènes et opportunistes (Bourgeois et al. , 1996 ) .

**- Mode opératoire :**

Pour l'isolement et le dénombrement des staphylocoques un ensemencement en surface sur le milieu sélectif de Chapman est réalisé.

**-Incubation :**

L'incubation est de 24h à 48 h à 37°C .

**- Lecture :**

Les colonies jaunes et petites sont comptées ( **Dennain et al. , 2001** ) .

**IV – 1 – 4 – 6 - Recherche et dénombrement des levures et moisissures**

D'après les estimations, il y a environ 1,5 millions d'espèces fongiques (**Awad, 2005**). Les levures et moisissures sont des agents importants de détérioration des aliments acides ou à faible activité d'eau. Les mycotoxines qu'ils excrètent et présentes dans les aliments inspirent des préoccupations croissantes .Les levures et moisissures constituent une bonne flore indicatrice de la qualité générale essentiellement pour des produits d'origine végétale (**Guiraud et Rosec , 2004** ) .

**- Mode opératoire :**

Ces microorganismes sont souvent isolés et dénombrés sur des milieux acidifiés (gélose glucosée à la pomme de terre, gélose à l'extrait de malt) . Le pH bas pour ces milieux n'inhibe pas toutes les bactéries et il peut même inhiber certaines levures ou moisissures.

A partir de dilution on prend 0,1 ml et on le porte sur la surface de P.D.A.

**- Incubation :**

L'incubation se fait à 25°C Pendant 7 jours .

**IV – 2 - Beurre cru**

**IV – 2 - 1 - Introduction**

Le beurre cru est un aliment énergétique mais fragile et altérable par la chaleur notamment ou par d'autres facteurs capables de nuire sa qualité physicochimique, microbiologie et organoleptique. Donc il est primordial d'assurer sa conservation dans les meilleures conditions possibles.

#### IV – 2 – 2 - Echantillonnage

Le beurre sujet de cette étude, est le beurre du lait de chèvre. Le choix est justifié par sa qualité gustative et son abondance au niveau local. Le beurre étudié provient du barattage traditionnel de lait de chèvre des nomades de la région d'El-Jadida situé à 70 Km au nord-est de la ville de Béchar.

Le beurre est collecté au printemps où la production de lait est abondante et disponible pendant six à sept mois (Kanafani, 1994). L'échantillon est prélevé dans un récipient stérile et le transport est assuré dans une glacière à une température inférieure à 4°C. Enfin, le prélèvement est placé au froid dès son arrivée au laboratoire avant le début des analyses.

#### IV-2-3 - Evaluation de la qualité physicochimique et microbiologique du beurre

##### IV – 2 – 3 – 1 - Caractéristiques physiques

Les caractéristiques physiques sont réalisées sur 100 g de beurre prélevé au hasard et sur lequel on détermine :

- ✚ **La texture** : par des touches à la main ;
- ✚ **La couleur** : par appréciation visuelle ;
- ✚ **L'odeur** : par l'organe olfactif en flairant certaines substances volatiles ;
- ✚ **La teneur en eau** : par étuvage jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

##### IV – 2 – 3 – 2 - Caractéristiques chimiques

###### a ) Acidité titrable ( NA.273 , 1990 )

###### ▪ Principe

Il s'agit de titrer l'acidité du beurre en solution dans un mélange éthanol/ toluène (150 / 150, v / v) par la solution de KOH à 0,1 N en présence de quelques gouttes de phénolphaléine.

###### • Mode opératoire

- Peser à 0,001 g près au moins 2,5 g de la prise d'essai ;
- Placer chaque échantillon dans une fiole conique avec 50 ml de mélange de toluène-éthanol ( 25/25 , v/v ) fermée hermétiquement , puis agiter à l'aide d'un agitateur jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène ;

- Peser 0,56 g d'hydroxyde de potassium et les introduire dans une fiole jaugée de 100ml. Compléter ensuite jusqu'au trait de jauge avec de l'éthanol (V= 100 ml) pour préparer une solution d'hydroxyde de potassium 0,1 N ;

-Rincer la burette avec le KOH avant le titrage ;

- Ajouter 3 gouttes de phénolphaléine dans chaque fiole et, tout en agitant, titrer avec la solution d'hydroxyde de potassium (0,1 N) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 10 secondes environ.

➤ **Expression des résultats**

L'acidité titrable, exprimée en pourcentage en masse, est égale :

$$V \times c \times M / 1000 \times 100 = V \times c \times M / 10 \times m$$

Où :

- **IA** : indice d'acide ;

- **V** : volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de Potassium utilisé ;

- **c** : concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée KOH utilisé ;

- **M**: masse molaire, en grammes par mole, de l'acide oléique pour l'expression du résultat ;

- **m** : masse en grammes de la prise d'essai.

$$I.A = ( 56,1 \times v \times c ) / m$$

v : volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé,

m : masse de la prise d'essai en grammes.

**b) Indice de peroxyde ( NA.274 , 1990 )**

▪ **Principe**

Le principe de la méthode repose sur le traitement d'une prise d'essai en solution dans l'acide acétique et du chloroforme par une solution d'iodure de potassium suivi du titrage de l'iode par une solution titrée de thiosulfate de sodium. Le dosage des peroxydes formés se fait indirectement en présence d'iodure de potassium.

• **Mode opératoire**

- Peser trois prises d'essais pour chaque échantillon (beurre cru , beurre avec H.E et beurre avec plante « D'han ») de 2 g chacune dans des fioles de 150 ml ;

- Ajouter 25 ml du mélange solvant (15 ml d'acide acétique + 10 ml de chloroforme) puis 1 ml d'iodure de potassium ;

- Boucher les fioles, agiter pendant 1 min et laisser 5 min à l'abri de la lumière,

- Ajouter 75 ml d'eau distillée et titrer l'iode libéré par une solution de thiosulfate 0,01 N ou 0,1 N (récemment préparée) en agitant en présence d'empois d'amidon 0,5 à 1%.

- Effectuer parallèlement et simultanément de la même façon un essai à blanc sans la prise d'essai. Si le résultat de l'essai à blanc excède 0,1 ml de solution 0,01 N de thiosulfate de sodium, de nouveaux réactifs doivent être préparés.

**Expression des résultats**

L'indice de peroxyde, exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme d'échantillon, est égal à :

$$I.P = \frac{v_1 - v_0}{m \times T} \times 100$$

I.P : Indice de peroxyde ;

$v_1$  : Volume en millilitres de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la détermination ;

$v_0$  : Volume en millilitres de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc ;

m : Masse en grammes de la prise d'essai ;

T : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisée.

#### **IV – 2 – 3 – 3 - Caractéristiques microbiologiques**

Les risques de contaminations microbiologiques du beurre cru proviennent surtout de la phase aqueuse car la phase grasse constitue un milieu défavorable au développement microbien ; les levures et les moisissures provenant de la phase aqueuse détériorent la qualité du beurre.

On a ciblé cinq germes susceptibles de dégrader la qualité du beurre : la flore mésophile aérobique totale à 30°C, les Coliformes, les Staphylocoques, les levures et les moisissures.

##### **a) Technique de prélèvement**

Peser 5g de chaque échantillon (beurre cru, beurre avec H.E et d'han) et les introduire dans des flacons stériles contenant 45 ml de diluant (eau physiologie stérile). On prépare les dilutions suivantes :  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$ .

##### **b) Analyses microbiologiques**

La flore totale aérobique, les coliformes, les coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et la flore fongique ont été recherchés selon les protocoles précédemment décrits.

#### **V - Essais de conservation**

##### **V – 1 - Conservation des dattes avec ajout de romarin et d'huile essentielle**

Afin de tester le pouvoir conservateur du romarin nous procédons comme suit :

- a) Méthode d'enrobage où on utilise l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.
- b) Méthode d'addition de la poudre de la plante à la pâte de datte.

##### **V - 1 – 2 - Conservation par enrobage avec de l'huile essentielle**

Les tests sont réalisés dans une enceinte en verre. L'obtention d'un dispositif avec un support se fait par l'utilisation d'un dessiccateur avec un support doté de trous dans plusieurs endroits permettant le passage de la vapeur de l'huile essentielle. L'enceinte de verre est fermée hermétiquement, est stérilisée par de l'éthanol et remplie par une quantité de dattes (250 g). Ensuite on dépose 2 ml d'huile essentielle à la base de l'enceinte dans une cupule (**Photo 19**) ; l'évaporation dure deux heures.



**Photo 19:** Enrobage des dattes avec l'H.E

#### **V – 1 – 3 - Addition de la poudre de la plante à la pâte des dattes**

Elle se fait par ajout direct de la partie aérienne de la plante après broyage avec une quantité de pâte de dattes de l'ordre de 0,5% (0,5 g dans 100 g de produit).

#### **V – 1 – 4 - Evaluation des méthodes de conservation utilisées**

L'évaluation de l'efficacité des deux méthodes de conservation se fait après l'ajout de *Rosmarinus officinalis L.* ou l'enrobage par l'huile essentielle extraite de cette plante. L'efficacité de ces méthodes est évaluée par les analyses suivantes :

##### **V – 1 – 4 - 1 - Analyses physicochimiques**

Le pH, l'humidité et l'acidité ont été mesurés selon les protocoles précédemment décrits.

##### **V – 1 – 4 - 2 - Analyses microbiologiques**

Pour déterminer l'efficacité des essais de conservation on suit l'évolution de la flore originale. Ces deux types d'analyses sont réalisées avec un intervalle de 15 jours pendant une période de sept mois s'étalant du 15 Octobre 2009 jusqu'au 16 mai 2010 (**Figure 07**) .

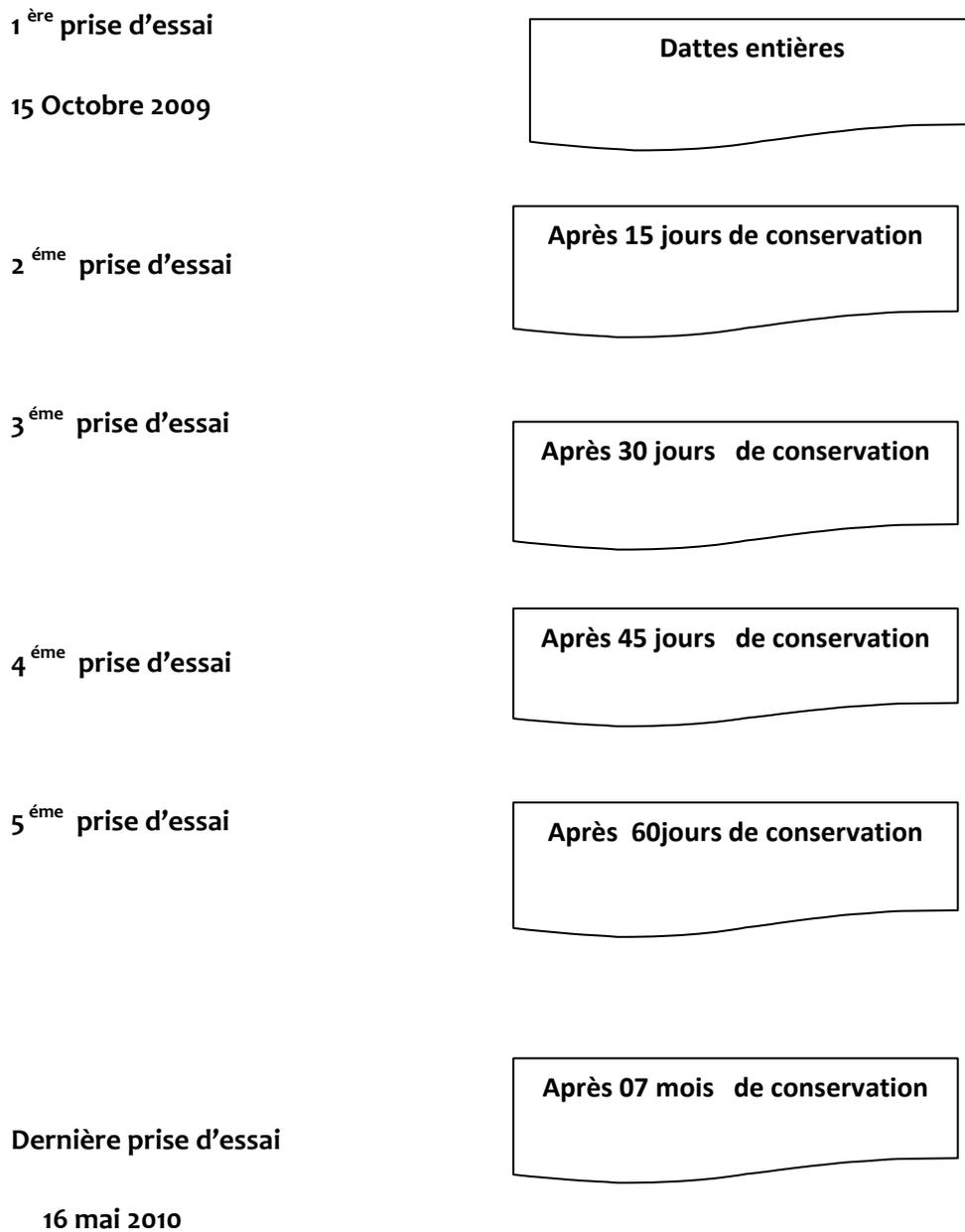


Figure 07 : Etapes d'évaluation de la conservation.

### V-2- Conservation du beurre par *Matricaria pubescens* (Desf.) et l'huile essentielle

Afin de tester le pouvoir conservateur de *M. pubescens* (Desf.) nous avons procédé de la façon suivante :

a ) Préparation du beurre additionné d'huile essentielle de *M. pubescens*(Desf.) ,

b ) Préparation du d'han .

#### **a ) Préparation du d'han**

La préparation du d'han est réalisée selon les étapes suivantes :

.Peser 100 g de beurre de chèvre dans une casserole et les faire fondre à feu doux ;

. Ajouter 1 g de la plante (séchée et broyée) au beurre fondu ;

. Faire macérer le mélange pendant 10 à 20 minutes jusqu'à la disparition de la mousse blanche ;

. Filtrer le mélange dans un récipient en verre et le fermer hermétiquement,

. Le produit fini est enfin stocké au laboratoire à une température de chambre à l'abri de la lumière et de l'humidité.

#### **b) Préparation du beurre additionné d'huile essentielle**

La préparation du mélange (beurre + huile essentielle) de *M. pubescens* (Desf.) est basée par l'ajout de cette dernière (obtenue par hydrodistillation) au beurre en homogénéisant l'ensemble. Le tout est ensuite placé dans un récipient stérile et conservé à une température de chambre à l'abri de la lumière.

#### **V – 2 - 1 - Etapes d'évaluation de la conservation**

Le dénombrement des microorganismes ainsi que les indices physicochimiques pour le beurre cru sont réalisés dès la réception de l'échantillon ; alors que pour le d'han et le beurre enrichi d'huile essentielle, les analyses sont effectuées périodiquement chaque quinzaine, à une période allant du 15 octobre 2010 jusqu'au 20 Mai 2010 (**Figure 08**).

**Remarque :** L'entreposage du beurre cru traditionnel se fait dans le réfrigérateur tandis que le beurre additionné d' H.E et de d'han est conservé à la température de chambre.

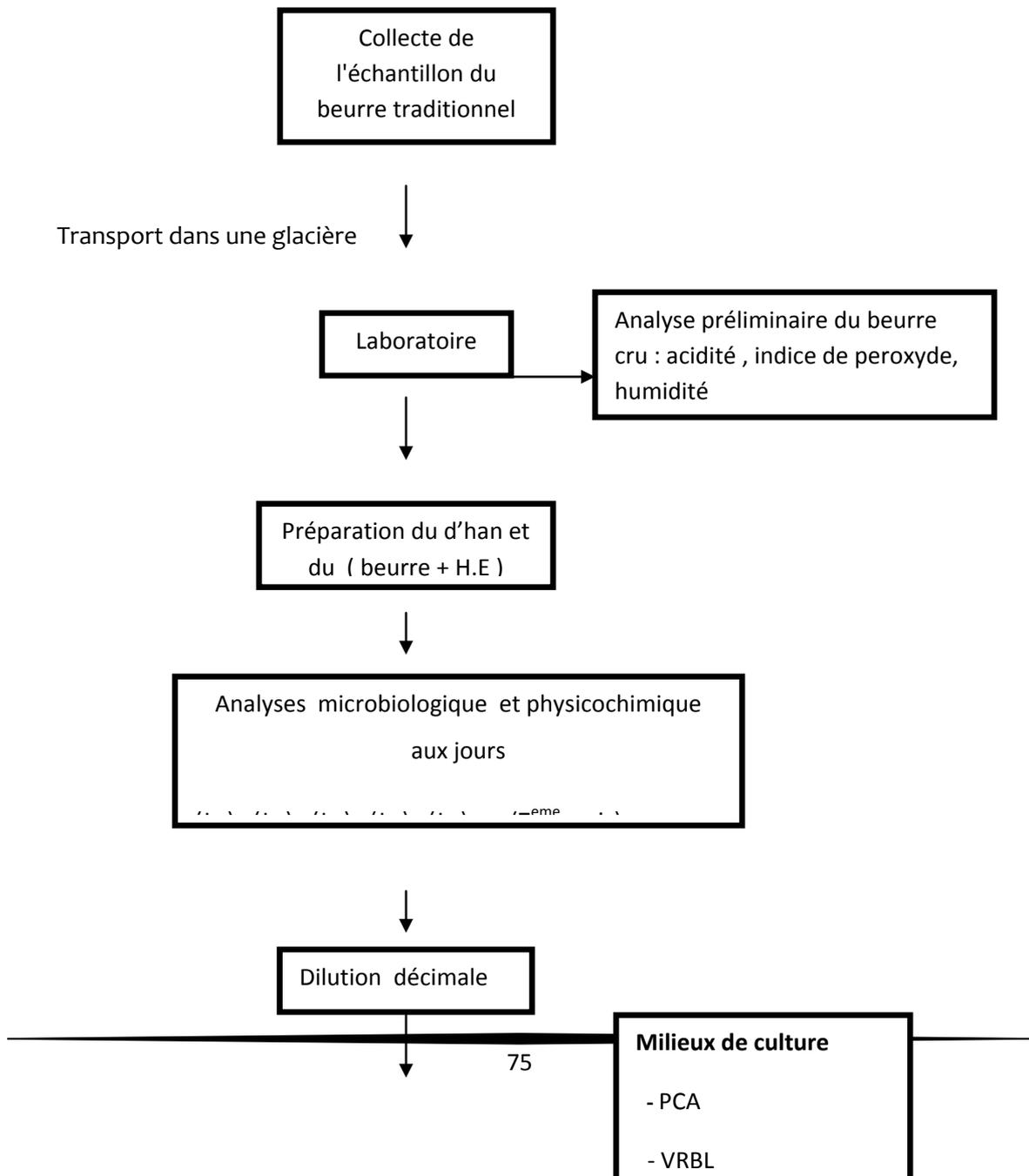
#### **V – 2 – 2 - Analyse sensorielle**

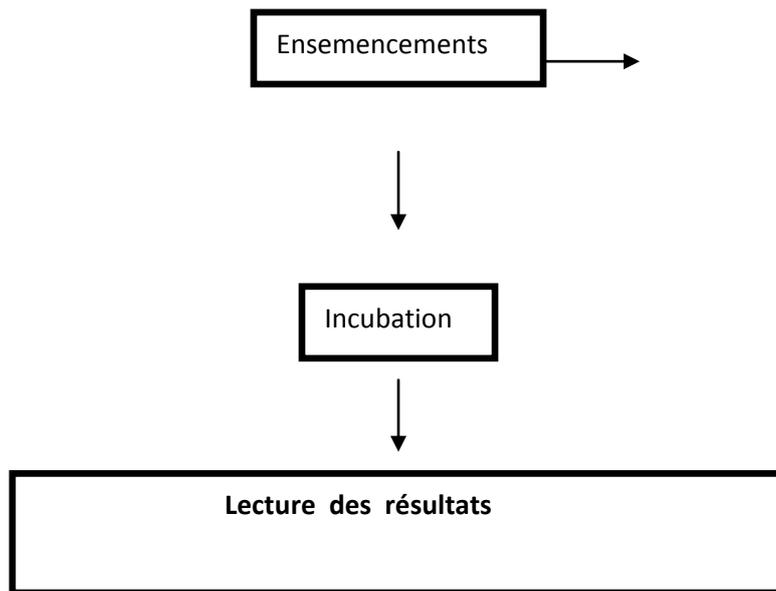
L'analyse sensorielle est un examen des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes des sens. Elle permet de définir, mesurer, analyser et interpréter les caractéristiques

d'un produit. L'homme, appelé juge ou répandant, est considéré comme instrument de mesure chaque fois qu'il n'existe pas le capteur physique capable de réaliser avec son équivalent sensorielle ( **Claustrioux , 2001 ; Totté , 2008** ).

L'analyse des caractéristiques sensorielles des produits est la clé pour répondre aux attentes des consommateurs. Elle apparaît comme un outil complémentaire aux mesures physico-chimiques couramment utilisées pour identifier les caractéristiques intrinsèques des produits ( **Lespinasse, 2004 ; Ledauphin , 2005** ).

Les résultats d'une telle analyse peuvent être utiles à la comparaison de produits en vue de leur commercialisation ou encore à la mise en place d'un standard de qualité. Mais ils peuvent également permettre d'améliorer le produit au travers de corrections gustatives, olfactives ou esthétiques ( **Birca et al. , 2005** ).





**Figure 08 :** Etapes des analyses au cours de la période de conservation.

Dans notre cas, l'objectif de faire des analyses sensorielles est pour évaluer le niveau d'acceptation des dattes après leur traitement (ajout de Romarin ou enrobage par de l'H.E) par les dégustateurs. On distingue les épreuves :

- Analytiques qui sont destinées à mettre en évidence des différences entre produits ou à décrire les propriétés sensorielles des produits.
- Hédoniques qui concernent l'étude des préférences et des acceptations des consommateurs (Watts et al., 1991).

#### **V – 2 – 2 – 1 -Mode opératoire**

- Le panel est constitué de 50 personnes (étudiants et membres du personnel du laboratoire pédagogique), recruté selon leur disponibilité et leur motivation pour participer à l'étude.

- On fait présenter à chaque dégustateur trois produits qui sont les dattes sans additif, mélange de dattes et de Romarin et les dattes enrobées d'H.E codés successivement par les lettres A, B et C ( **photo 20** ).

- Le lavage buccale ce fait avec de l'eau après chaque dégustation.



**Photo 20 :** Présentation des échantillons pour l'analyse sensorielle

Les caractéristiques à évaluer sont : la couleur, la consistance, l'arome, le goût et l'arrière goût puis on fait un classement des trois produits (voir annexe).

#### **V – 2 – 2 – 2 - Etude statistique des résultats**

##### **a) L'échelle de notation**

Il s'agit de comparer les produits les uns par rapport aux autres, puis de les classer.

Les échelles de notes ont des divisions de 5 à 10. C'est l'échelle des cinq points qui est utilisée :

1 point : Très bon

2 points : Bon

3 points : Acceptable

4 points : Médiocre

5 points : Mauvais

##### **b) L'échelle de rangs ou de classement**

Les échelles de rang permettent d'ordonner des objets à analyser ; le chiffre de cette échelle correspond au numéro que l'objet occupe dans la série mise en ordre. Les points sont par conséquent transformés en rangs et leurs sont attribués des numéros d'ordre.

**c) Transformation des notes en rangs**

- Première étape : trouver la somme des rangs horizontalement et verticalement.
- Deuxième étape : trouver la somme des sommes des rangs.
- Troisième étape : comparer la somme des rangs avec les valeurs critiques (annexe).

- si la somme obtenue pour l'échantillon est comprise entre les valeurs critiques  $[a,b]$  , la qualité de l'échantillon est acceptable ;

- si la somme est inférieure à la limite  $[a$  , l'échantillon est reconnu comme le meilleur ;

- si la somme est supérieure à la limite  $b]$  , l'échantillon est alors à rejeter .

**d) Evaluation de l'intensité d'une grandeur sensorielle simple**

Au cours des tests de notation pour les mesures d'intensité, les dégustateurs doivent noter les échantillons sur des échelles de catégories d'après l'intensité perçue d'une caractéristique sensorielle. Les tests de notation mesurent l'importance de la différence entre les échantillons et permettent de classer ceux-ci par ordre croissant ou décroissant d'intensité d'une caractéristique.

Les caractéristiques sensorielles visées sont : la consistance, l'arome et l'arrière gout. Les 50 sujets doivent exprimer leurs avis concernant ces caractéristiques sur différentes échelles.

### I-Résultat de l'enquête ethnopharmacologique

Le questionnaire nous conduit à collecter les informations suivantes :

-D'après cette enquête ,100% des sujets visés connaissent les deux plantes ;

-Traditionnellement, les deux plantes sont largement utilisées dans plusieurs domaines, le tableau 09 résume les résultats de cette enquête.

**Tableau 09 :** Résultats de l'enquête ethno-pharmacologique de *M. pubescens* (Desf.)et *R. officinalis* L. dans la région de Béchar.

Nom scientifique	<i>M. pubescens</i> (Desf.)	<i>R. officinalis</i> L.
Nom vernaculaire	Ouazouza, khadra	Guertoufa Azir, Lazir Lhlor, Yazir, Iklil El-jabel
Origine	Locale	Locale
Toxicité	Non toxique	Non toxique
Partie de la plante Commercialisé	Entière	Feuilles
Etat de Commercialisation	Sèche	Sèche
Fréquence d'achat par mois	Moyenne	Moyenne
Maladies traitées	Rougeole, (douleurs), Rhumatisme, Douleurs des Antipyrétiques, contre le complications respiratoire, Antivirale (varicelles), Allergies oculaires.	Dysménorrhée Eczéma, des dents, Anti-soif, le cholestérol, (varicelles), Affections
En alimentation	Conservation du beurre, aromatisant	Effet diurétique, traitement des plaies et les blessures, Cicatrisation et Antiseptiques, Dysménorrhée, les douleurs musculaires rhumatismales et traumatiques, contre les chutes des cheveux, traitements des maladies pneumo-phtysiologiques, traitements des signes fonctionnels de la crise hémorroïdaire et des troubles de la fragilité capillaire
Mode de préparation	Macération, Décoction,	Macération, Décoction, poudre,

poudre, Infusion

Infusion

Ces propriétés confirment les travaux d'Abdoun (2002) et MAIZA et al (1993). Basons sur le mode d'utilisation, nous avons conclu que seulement les feuilles et les fleurs à l'état sèches sont utilisées. Plusieurs modes de préparation sont appliquées :

- \* En poudre (préparation des soupes et pates de datte....)
- \* Décocté ou infusé dans l'eau chaude, macéré dans l'eau ou l'huile d'olive, comme pansement, dont la voie d'administration sa diffère ; soit par voie orale, ou cutanée.

## II- Taux d'humidité de la plante fraîche

Le taux d'humidité de nos plantes, laisse apparaitre que *M. pubescens* (Desf.) présente le taux le plus élevé (20,80%) par rapport à celui de *R. officinalis* L. qui atteint (28,17%).

## III-Criblage phytochimique

Les résultats du screening photochimique réalisé pour les parties traitées des deux plantes sont regroupés dans le tableau 10, il nous a permet de mettre en exergue ce qui suit :

Nous constatons l'absence anthocyanosides (des flavonoïdes colorés), les alcaloïdes et les polyuronides pour les deux plantes, alors qu'il y a présence des flavonoïdes incolore. Ces flavonoïdes jouent des rôles très importants dans les plantes, dont elles protègent les plantes contre le stress hydrique et génère une tolérance des plantes aux métaux lourds présente dans les sols. Hors la plante, les flavonoïdes possèdent plusieurs effets pharmacologique (El-Sakka et al., 2010). Ils sont les promoteurs dans les traitements des troubles veineux et capillaires et les agents responsables de la protection vasculaire (vierling, 2008).les flavonoïdes protègent les aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti radicaire (Benhayoun et al., 2007).

On note aussi la présence des tanins. Selon Iserin (2001), les tanins permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaine de l'auto oxydation des lipides (Cavin, 1999).En parallèle, les terpènes participent dans la protection contre les agressions des champignons (Collet et al.,2002).

**Tableau 10 :** Résultat du criblage phytochimique des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L. et *M. pubescens* (Desf.).

Les composés recherchés	<i>R.officinalis</i> L	<i>M. pubescens</i> (Desf.)
L'amidon	-	+
Composés réducteurs	+	-
Saponosides	++	++
Tanins	+	+
Alcaloïdes	-	-
Acides gras	-	+
Flavonoïdes	+	++
Anthracénosides	+	-
Anthocyanosides	-	-
Stérols	-	+
Stéroïdes	+	+
Emodols	+	-
Huiles volatiles	+	+
triterpènes	+	+
Polyuronides	-	-
(polysaccharides)		
Quinones libres	+	-

(-)Absence, (+) Présence, (++) Fortement présent.

Selon Gonzalez-Trujano et al.(2007), le criblage phytochimique de l'extrait éthanolique des parties aériennes du romarin a indiqué la présence des flavonoïdes, des tannins et des saponines.

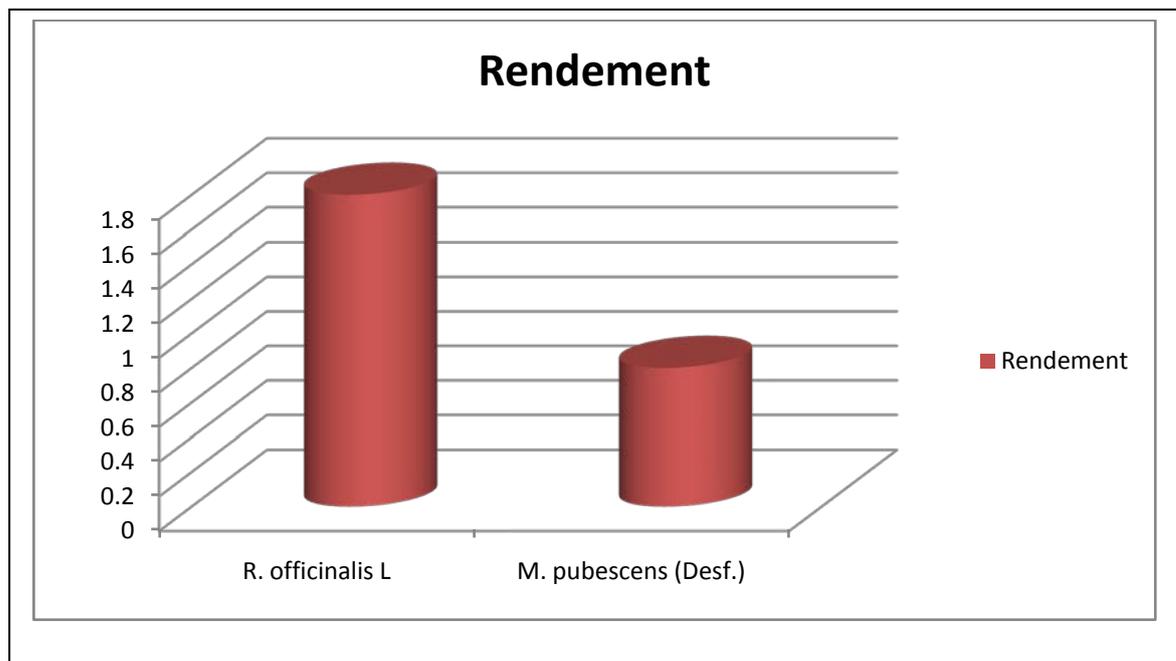
Egalement, le contenu de *R officinalis* L. en composés réducteurs peut être le raison de l'effet antioxydant élevé de romarin (Celiktas et al.,2007; El-Bastawesy et al.,2009 et Mierlici,2009).

Roux et al (2007) prouvent que les stéroïdes des plantes ont une action sur les reins par amélioration du débit sanguin. Cette action augmente la filtration glomérulaire qui aboutit à accroître la sécrétion urinaire. Ce qu'il explique l'effet diurétique du romarin (Soyal et al., 2007). D'autre part, les anthracénosides ont un effet irritant et laxatif sur le gros intestin, en provoquant des contractions des parois intestinales, simulant les évacuations et facilitant ainsi le transit intestinal, cela explique l'effet stomachique du romarin (Bellakhdar, 1997). Les plantes sont très riches en saponosides, ces molécules ont des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et anti-œdémateuse (Roux et al., 2007). Ce qui justifie leur utilisation dans les traitements traditionnels pour l'insuffisance veineuse, des signes fonctionnels de la crise hémorroïdaire et des troubles de la fragilité capillaire.

#### IV-Résultat d'extraction d'HE

##### IV-1-Rendement en huile essentielle

Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne des deux plantes. *M. pubescens* (Desf.) a fourni un taux d'environ 0,8 % relativement plus faible que celui obtenu à partir de *R. officinalis* L. (1,8 %) (figure 09). Ce dernier taux est proche à celui cité par El-Bastawesy et al (1,79%); et elle est supérieure à celui cité par karimi et al (1,5%) Hilan et al(2006) (1,52%) Biljana et al (2007) (1,18%) et Atik Bekkara et al (2007)(0,8%).



**Figure 09:** Rendement en huile essentielle extrait par hydro-distillation pour les deux plantes étudiées.

BRUNETON (1999), affirme que le rendement en huiles essentielle de l'espèce *R. officinalis* L varié de 10 à 25 ml/kg (soit : 1 à 2,5 %), ce qui confirme notre résultat, qui situer entre cette intervalle.

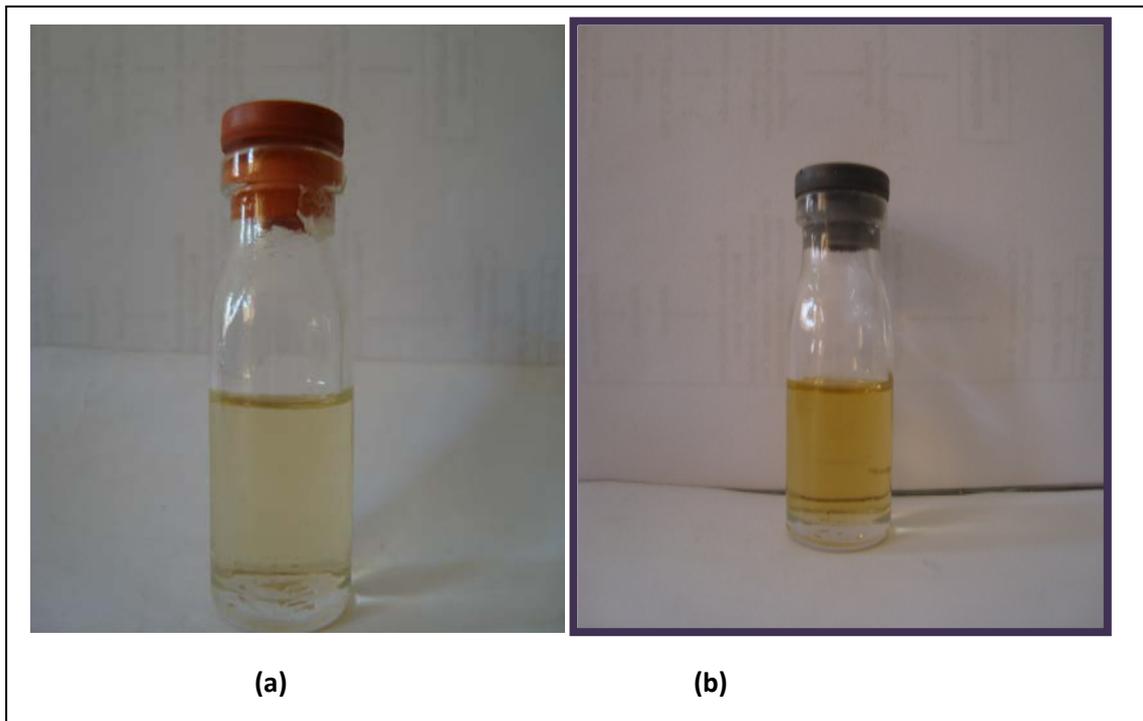
On constate que le rendement est variable malgré que la technique d'extraction est la même ; cette variabilité est due probablement à la variation des facteurs suivants : le stade de croissance, les conditions pédoclimatique, la période du récolte, le temps du récolte, séchage...

Plusieurs travaux relatifs au séchage des plantes aromatiques et médicinales indiquent des modifications considérables, particulièrement sur le plan quantitatif, au niveau des huiles essentielles. Or, une plante si elle n'est pas séchée dans de bonnes conditions, elle risque de se dégrader et par suite, la perte de la totalité de ses huiles essentielles (Aghfir, 2007). Dans ce sens, Benjilali (2005) ont trouvé que la teneur en huiles essentielle des feuilles de romarin séchée à l'ombre pendant une semaine est quatre fois plus que celle du plante fraîche. Toujours selon le même protocole, ils ont rapporté que le séchage au soleil donne un effet similaire à celui observé à l'ombre mais avec deux différences importantes. Tout d'abord, l'optimum est atteint plus rapidement. Par contre, l'augmentation du rendement est moins importante qu'à l'ombre.

L'augmentation de la teneur en huiles essentielles avec le séchage suggère la continuité et l'accélération de la biosynthèse des huiles essentielles après la récolte du matériel végétal (Silou et al., 2002 ; Bourkhiss et al., 2009 ).

#### IV-2- Caractéristiques organoleptiques des H.E de *M. pubescens* (Desf.) et *R. officinalis* L.

L'H.E de *M. pubescens* (Desf.) a une couleur jaune pâle, possédant une odeur caractéristique et piquante (photo 21,b) ; alors que L'H.E de *R. officinalis* L. est limpide , jaune foncé avec une odeur caractéristique fraîche(photo 21,a).



**Photos 21 :** H.E de *R. officinalis L.* (a) et *M. pubescens* (Desf.) (b), obtenue par hydro-distillation.

**IV-3- Caractéristiques physico-chimiques des H.E de *M. pubescens* (Desf.) et *R. officinalis L.***

Les caractéristiques physico-chimiques des H.E des deux plantes sont mentionnées dans le tableau 11.

**Tableau 11 :** Les caractéristiques physico-chimiques des H.E de *M. pubescens* (Desf.) et *R. officinalis L.*

Paramètres	Indice d'acide	Indice d'ester	Indice de réfraction	Densité relative à 20°C	Pouvoir rotatoire
Plantes					

M. pubescens	0,8	13,2	1,420	0,853	
(Desf.)					
R. officinalis	0,554	18,83	1,469	0,951	+11.75
L.					

Les propriétés physico-chimiques tels que : le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester,... etc, constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle (**Afssaps, 2008**).

Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles analysées ont été déterminées selon les normes de l'association française de normalisation (**Afnor, 1989**).

Pour les paramètres chimiques, l'indice d'acide est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'H.E. Les acides libres sont neutralisés par une solution EtOH titrée de d'hydroxyde de potassium. Alors que l'indice d'ester est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'H.E. L'hydrolyse des esters présents dans l'H.E se fait par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une solution éthanolique titrée de KOH et dosage en retour de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique.

Un indice d'acide inférieur à deux, est une preuve de bonne conservation de l'huile. En effet, une huile fraîche ne contient que très peu d'acides libres. C'est pendant la période de stockage que l'huile peut subir des dégradations telle l'hydrolyse des esters. Lazouni et al.(**2007**), constatent des variations des indices d'acide et d'ester au cours du temps et en fonction de la température.

Concernant les paramètres physiques, la densité d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C. La densité des huiles essentielles est inférieure à celle d'eau.

L'indice de réfraction (IR) est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante.

Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé (**Boukhatem et al., 2010**). Le pouvoir rotatoire (PR) est l'angle en degrés, dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde de  $589.3 \text{ nm} \pm 0,3 \text{ nm}$ , correspondant aux raies D du sodium, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100 millimètres de l'huile essentielle.

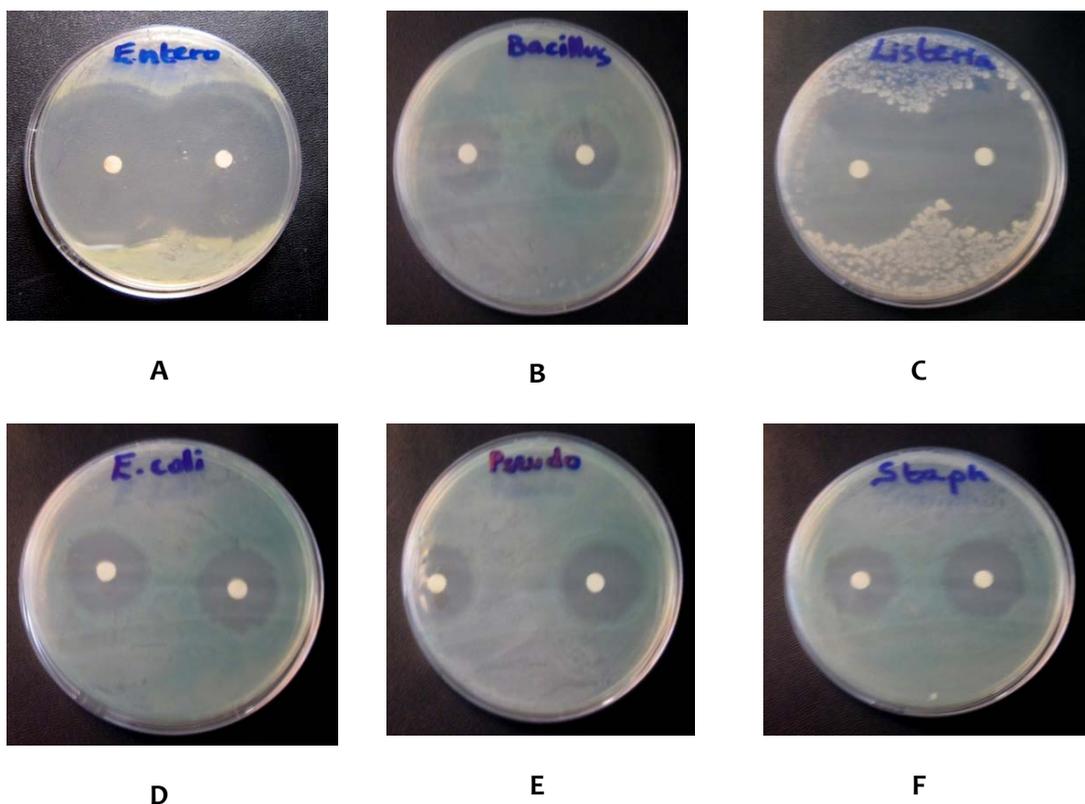
## V-Résultat d'activité antimicrobienne

### V-1 Résultat de méthode de diffusion par disques (technique de Vincent)

La méthode d'aromatogramme est la technique utilisée pour déterminer l'activité antimicrobienne de nos huiles essentielles et nos extraits. C'est la technique la plus répandue de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Elle sert à prédire la sensibilité d'un germe aux substances étudiées.

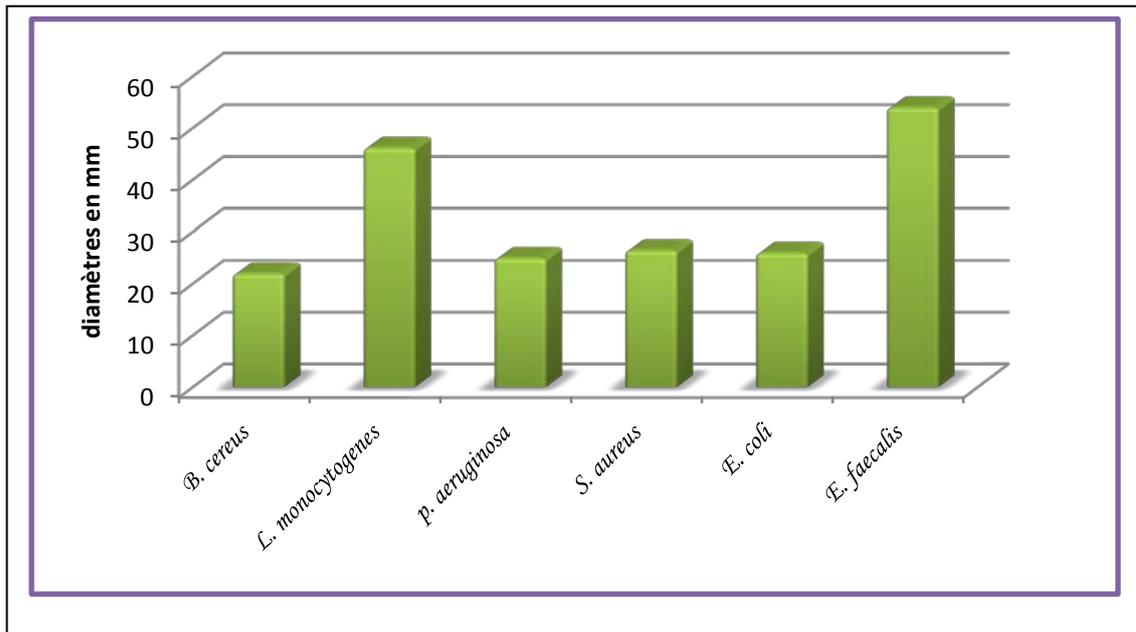
L'activité antimicrobienne a été testée sur une large gamme de micro-organisme : bactéries (*E. faecalis*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *L. monocytogenes*), moisissures (*Aspergillus flavus*, *Penicillium purpurogenum*, *P. escansum*, *P. jensinii*...).

Les résultats de la technique de Vincent (**Photo 22**) par l'utilisation de l'ampicilline sur les différentes souches bactériennes étudiées sont représentés dans La figure 10.



**Photo 22:** Les zones d'inhibition exercées par l'ampicilline sur les souches bactériennes testées.

**A:** *E. faecalis*, **B:** *B. cereus*, **C:** *L. monocytogenes*, **D:** *E. coli*, **E:** *P. aeruginosa*, **F:** *S. aureus*.



**Figure 10 :** Résultat des diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'ampicilline  
(Diamètre du disque est inclus).

On observe que les souches bactériennes réagissent différemment à l'antibiotique testé, on constate que les souches testées présentent une zone supérieures à 12mm cela explique leur sensibilité à l'ampicilline. En revanche, la griséofulvine n'exprime aucune zone d'inhibition sur les trois souches fongiques testées. Cela veut dire que les souches fongiques testées sont résistantes à cet antifongique.

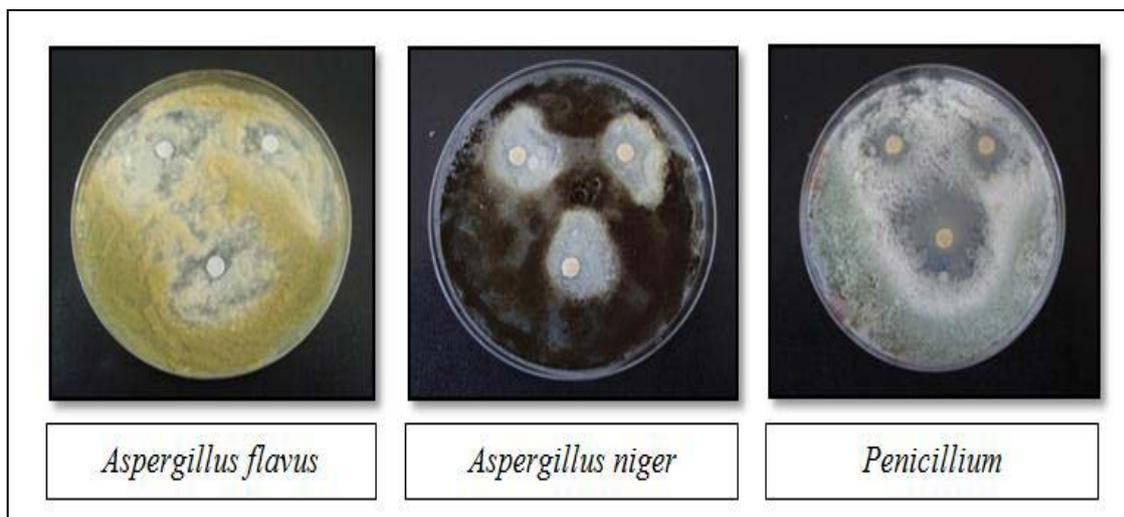
#### V-1-2- Les huiles essentielles

On remarque que les H.E sont pourvues d'un effet inhibiteur très important sur toutes les souches testées notant que l'H.E de *R. officinalis* L. exerce une activité très importante comparativement à celle de *M. pubescens* (Desf.) (**Figure 11**). Cet effet est représenté par une activité contre *E. faecalis* (**photos 23**) et *E. coli* avec des diamètres de 30,5 mm et 21mm respectivement. Par contre, l'H.E de *M. pubescens* (Desf.) est très efficace sur les moisissures que celui de *R. officinalis* L. *A. niger*, *P.purpurogenum* et *A.flavus*(1) (**photos 24**) et sont les souches les plus sensibles, avec des zones d'inhibition de 37 mm, 36mm et 30 respectivement (**Figure 12**).

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques (FAUCHERE & AVRIL, 2002).



Photos 23 : Résultat de l'activité antibactérienne des H.E des deux plantes étudiée



Photos 24 : Résultat de l'activité antifongique des H.E des deux plantes étudiée

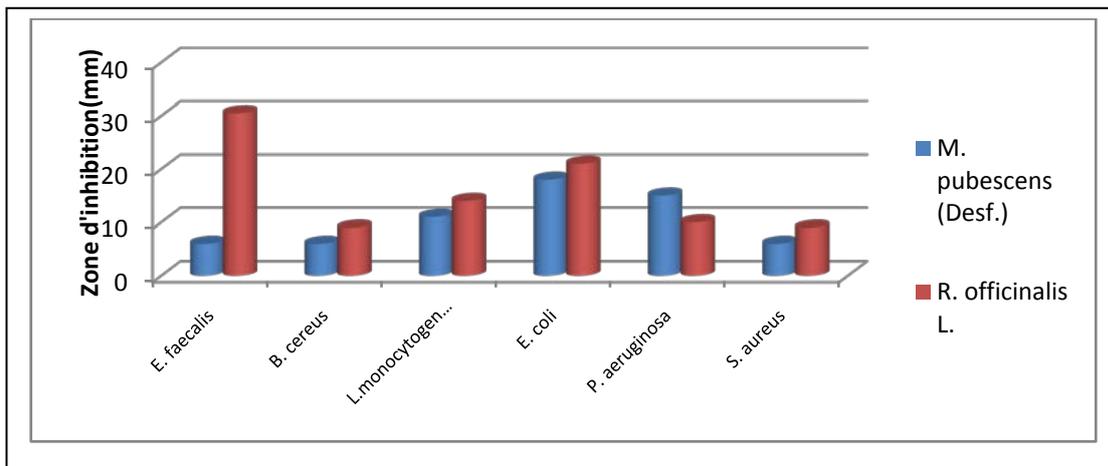
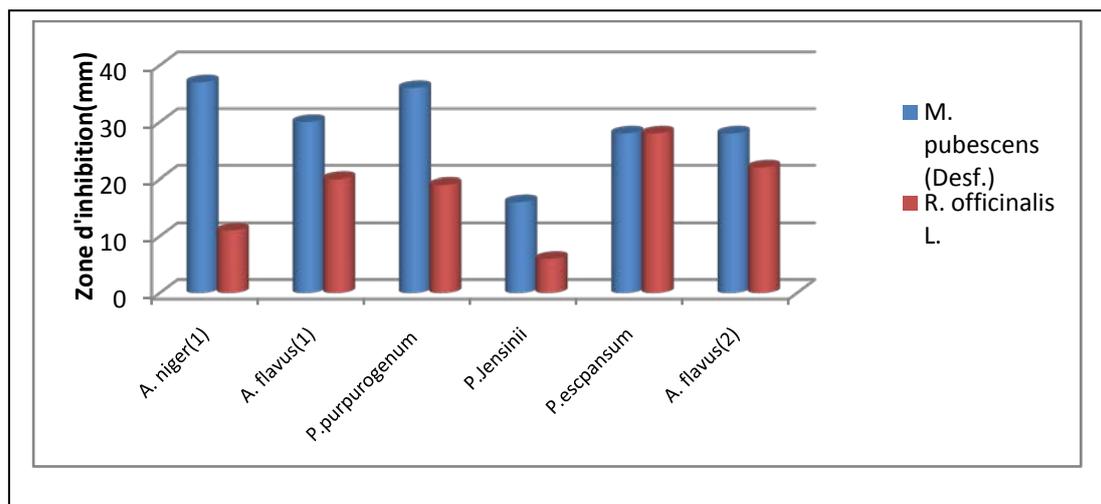


Figure 11 : Résultat de l'activité antibactérienne des H.E des deux plantes étudiée en mm (Diamètre du disque est inclus).



**Figure 12** : Résultat de l'activité antifongique des H.E des deux plantes étudiée en mm (Diamètre du disque est inclus).

L'activité antimicrobienne des HE a fait l'objet d'un grand nombre de publication à l'échelle internationale (OURAÏNI *et al.*, 2005 a et b; GIORDANI *et al.*, 2006; WARNKE *et al.*, 2007; KALOUSTIAN *et al.*, 2008; AMARTI *et al.*, 2010; BSSAIBIS *et al.*, 2009). Dont plusieurs ont spécifiquement noté la forte activité sur les champignons filamenteux, les protozoaires et les mites en comparaison de celle qui est exercée vis-à-vis des bactéries et levures (INOUYE & ABE, 2007). Ces résultats ont été confirmés dans le présent travail. Une bonne activité a été témoinnée contre les moisissures par rapport aux bactéries. D'autre part, Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (BILLERBECK *et al.*, 2002; BOUZOUTA *et al.*, 2008). Néanmoins, Certaines études révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries Gram (+) ou Gram (-) (GUESMI & BOUDABOUS, 2006).

Les résultats de l'activité antibactérienne montrent une sensibilité *E. coli*, et que *B.cereus* possède un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne des deux huiles essentielles. Cette action n'est pas Surprenante, elle est exercée sur plusieurs agents biocide.

L'essai antibactérien a été estimé aussi par la méthode de contact direct, qui consiste à additionner aseptiquement l'extrait dans le milieu de culture. Les dilutions sont réalisées dans une solution d'agar à 0,2%, car ce dernier permet d'obtenir une dispersion stable et homogène avec les H.E. De même, l'utilisation des détergents comme le tween 80, ou des solvants comme l'éthanol et le diméthylsulfoxyde (DMSO) exercerait une inhibition de l'activité antimicrobienne (REMMAL *et al.*, 1993).

Le pouvoir antimicrobien selon la méthode de contact direct révèle que l'H.E de *R. officinalis* L a montrée une activité contre la plupart des bactéries testées, et la concentration minimale inhibitrice (CMI) est située entre (1/50 et 1/100). *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ont manifesté une certaine résistance jusqu'à 1/10. Donc l'activité inhibitrice peut être exercée à une concentration plus élevé.

Pour l'H.E de *M. pubescens* (Desf.)(Tableau 13), toutes les souches fongiques sont inhibées à des concentrations supérieures à 1/1000(v/v); pour les bactéries, *E.coli* est la souche la plus

sensible avec une CMI de 1/1000 (v/v) ; alors, on a constaté la résistance de *S.aureus*, *B. cereus* et *E.feacalis*.

En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, **MATHLAUTHI**, et ses collaborateurs (**2009**) ont évalué l'activité biologique du romarin sur 13 souches bactériennes, les résultats présentent un effet antibactérien que sur les bactéries gram négatif. Cependant, une préparation de plusieurs huiles essentielle y compris celle de romarin présente un pouvoir antimicrobien contre toutes les bactéries à l'exception de *Lactobacillus rhamnosus*. D'une façon générale, l'activité antimicrobienne des HE selon leur constituant majoritaire ont été classé par plusieurs auteurs dans l'ordre décroissant suivant : phénol > alcools > aldéhydes > cétones > oxydes > hydrocarbures > esters.

L'action antimicrobienne d'H.E de romarin n'est plus à démontrer. Plusieurs travaux ont été réalisés pour l'étude de leurs activités sur les bactéries, levures et moisissure. Cependant, leur spectre d'activité est moins que celle de thym. Cette activité est liée à leur principe actif, qui porte selon plusieurs travaux soit une fonction cétone (camphre) ou oxyde (1,8-cénéole).

Alors, les composés phénoliques sont reconnus toxiques et auraient pour cible les enveloppes des micro-organismes telles que la membrane cytoplasmique et la paroi. Cet effet est lié à leur groupement hydroxyle libre qui permet une bonne solubilisation dans le milieu (**OUSSOU et al., 2010**). Plus spécifiquement, **RHAYOUR (2002)** montré que les HE ou leurs composés majoritaires phénoliques seules ou associés avec les antibiotiques attaquent directement la bactérie en se fixant sur son enveloppe cellulaire, entraînant un déséquilibre de la perméabilité membranaire et un blocage de la phosphorylation oxydative qui représente la source de la vie respiratoire.

**Tableau12** : Détermination des CMI de l'H.E de *R. officinalis* L.sur les souches testées.

concentration	1/5	1/8	1/10	1/2	1/15	1/3	1/35	1/5	1/10	1/11	1/12	1/13
bactéries	0	0	0	00	0	00	0	00	00	00	00	00
<i>P.aeruginosa</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B.cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

<i>L.monocytogenes</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E.faecalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A.niger(1)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>A.flavus(1)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>P.purpurogenum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>P.jensinii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>A.flavus(2)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>P.escpansum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

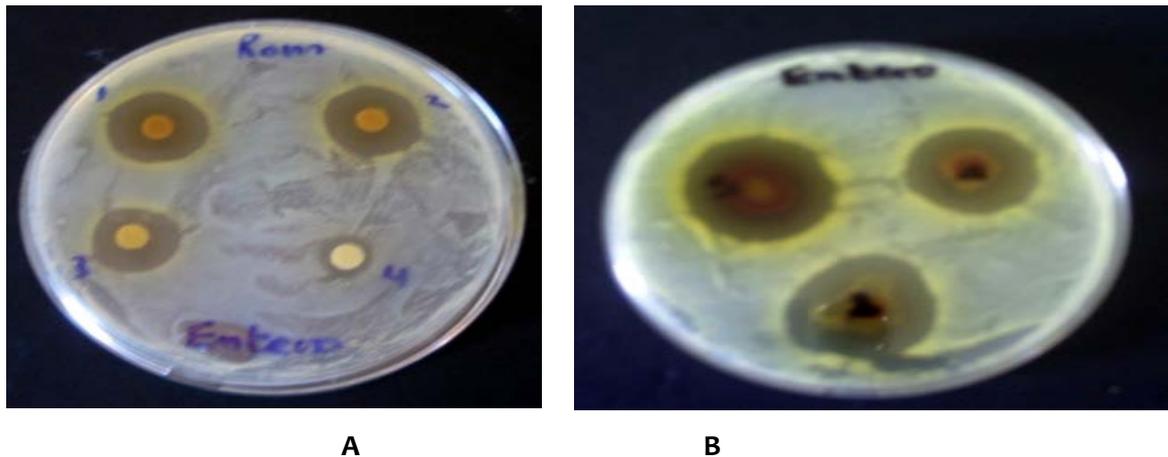
**Tableau 13 :** Détermination des CMI de l’H.E de *M.pubescens* (Desf.) sur les souches testées.

Concentration	1/5	1/8	1/10	1/2	1/15	1/3	1/35	1/5	1/10	1/11	1/12	1/13
	0	0	0	00	0	00	0	00	00	00	00	00
bactéries												
<i>P.aeruginosa</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B.cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>L.monocytogenes</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E.faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A.niger(1)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>A.flavus(1)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>P.purpurogenum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>P.jensinii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>A.flavus(2)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>P.escpansum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

V-1-3 - Les extraits

Les diamètres exploités par l'application des extraits montrent clairement que les zones d'inhibition diminuent avec la diminution de la concentration d'extrait appliquée (62.5 ,125, 250, 500 mg/l).

En revanche, l'aptitude des extraits de *R. officinalis* L. (**photo 25**) à inhiber la croissance bactérienne est tout à fait différente, cela est marqué par l'activité puissante d'extrait méthanolique par rapport à l'HE et l'extrait aqueux.

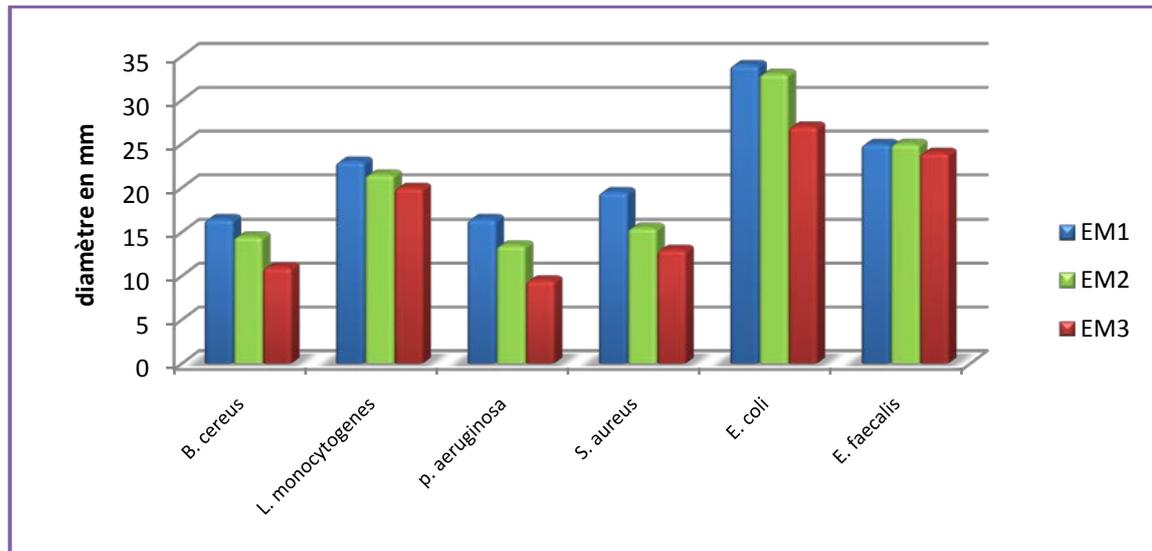


**Photo 25:** L'effet inhibiteur des extraits de *R. officinalis* L. sur *E. faecalis*, par la méthode de Vincent

(A) l'extrait aqueux, (B) l'extrait méthanolique. 1) 500 mg/l, 2) 250 mg/l, 3) 125 mg/l, 4) 62,5 mg/l.

Pour l'extrait méthanolique du romarin (**Figure 09**), l'effet le plus élevé est ceci appliqué sur *E.coli* qui est traduit par un diamètre de 34 mm avec une concentration de 500mg/ml. Un diamètre de 16,5 mm obtenue avec *P. aeruginosa* et *B. cereus* par la même concentration symbolise l'effet le plus bas.

Nos résultats sont très loin à ceux indiqués par Celiktas et al (**2005**) qui sont trouvés que l'extrait méthanolique exerce une faible activité sur les souches testées. On peut céder cette divergence aux facteurs influençant la composition des plantes (lieux et périodes de récolte).



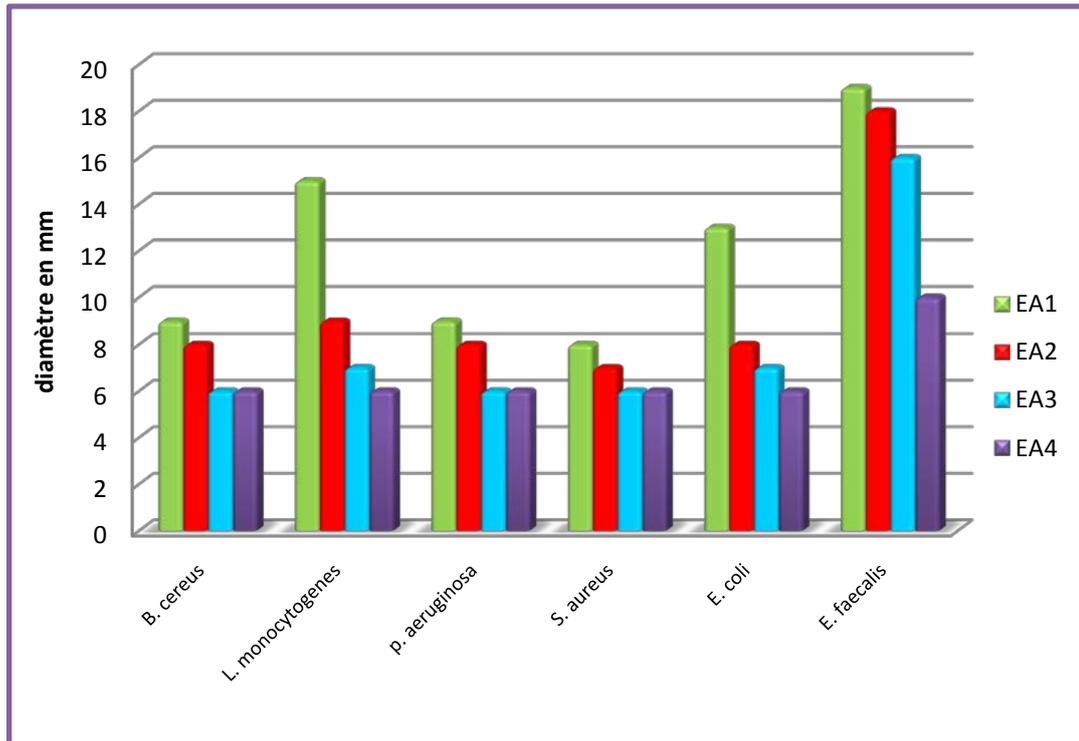
**Figure 13:** Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique du romarin en mm (le diamètre du disque est inclus).

**EM1 :** extrait méthanolique 500mg/l, **EM2 :** extrait méthanolique 250mg/l, **EM3 :** extrait méthanolique 125mg/l.

Parallèlement, l'effet le plus élevé marqué par l'extrait aqueux de la même plante (**Figure 14**) avec une concentration de 500 mg/l est exprimé par un diamètre de 19 mm (**Photo 26**) pour *E. faecalis*, autant que l'effet le plus bas est obtenu avec *S. aureus* dont le diamètre est de 7,5 mm.



**Photo 26:** L'effet inhibiteur de l'extrait aqueux de *R. officinalis* L. sur *E. faecalis*. 1) 500mg/l, 2) 250mg/l, 3) 125mg/l, 4) 62,5mg/l.

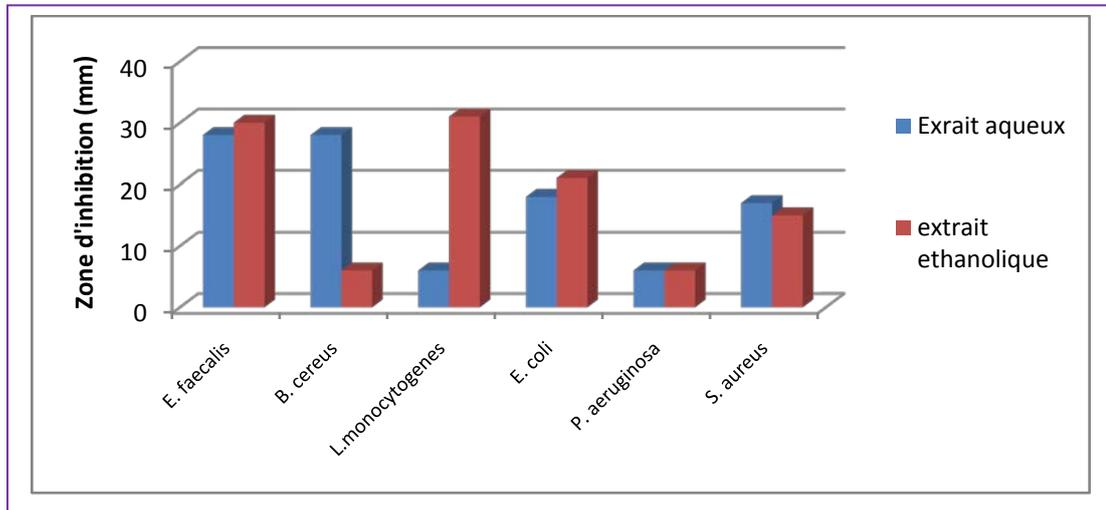


**Figure 14:** Résultat des diamètres (mm) des zones d'inhibition d'extrait aqueux de romarin (le diamètre du disque est inclus).

EA1 : extrait aqueux 500mg/l, EA2 : extrait aqueux 250mg/l, EA3 : extrait aqueux 125mg/l,  
EA4 : extrait aqueux 62,5mg/l.

D'après tous les résultats exposés au paravent et les effets inhibiteurs remarquables des produits actifs étudiés sur les bactéries, ces valeurs restent moins importantes à ceux définis avec l'ampicilline à une concentration de 200mg/ml, prenant l'exception de l'action d'extrait méthanolique de *R. officinalis* L. sur *E. coli* qui donne une zone plus importante que l'antibiotique.

Pour l'extrait aqueux et éthanolique de *M. pubescens* (Desf.) (**Figure 15**), l'effet le plus élevé est ceci appliqué sur *L. monocytogenes* qui est traduit par un diamètre de 31mm. Un diamètre de 28 mm obtenue avec *E. faecalis* et *B.cereus* par la même concentration (500 mg/l) symbolise l'effet puissant de l'extrait aqueux.



**Figure 15:** Résultat des diamètres (mm) des zones d'inhibition d'extrait aqueux et éthanolique (500mg/l) de *M. pubescens* (Desf.) (Le diamètre du disque est inclus).

Les extraits des deux plantes réagies positivement sur la majorité des souches testées (**tableau 14**). *E. faecallis* est la souche la plus sensible avec une CMI de 0,5 mg /ml ; alors que *P.aeruginosa* et *S.aureus* sont les souches les plus résistantes avec une CMI de 2,33 mg/ml.

Pour l'extrait méthanolique du romarin, nos résultats sont très loin à ceux indiquées par Celiktas et al (**2005**) qui sont trouvés que l'extrait méthanolique exerce une faible activité sur les souches testées. On peut expliquer cette divergence aux facteurs influençant la composition des plantes (lieux et périodes de récolte ...). D'après tous les résultats exposés au paravent et les effets inhibiteurs remarquable des produit actif étudiés sur les bactéries, ces valeurs restent moins importantes à ceux définis avec l'Ampicilline à une concentration de

0,20 mg / ml, prenant l'exception de l'action de l'extrait méthanolique de *R. officinalis* L. sur *E. coli* qui donne une zone plus importante que celle de l'Antibiotique.

En effet, il a été annoncé que l'extrait aqueux du romarin a une activité antibactérienne moyenne en inhibant la plupart des souche à une concentration de 40 µg / ml (**Abdel Massih et al., 2010** ). Cette divergence des résultats peut être attribuée aux constituants de la plante prenant en considération le lieu et la période de récolte. Parallèlement, l'extrait méthanolique de cette plante donne aussi des inhibitions sur les bactéries avec des concentration de 1mg / ml pour *P. aeruginosa* , *S. aureus* , *B .cereus* et *L. monocytogenes* et de 0,5 mg/ml pour *E. faecalis* et *E . coli*.

Par comparaison, on peut constater que l'extrait méthanolique est plus actif que celle de l'extrait aqueux. D'après ces résultats, on remarque que *R. officinalis* L. a des propriétés antimicrobiennes très appréciées et cela justifie son utilisation dans les traitements traditionnels comme un remède antimicrobien.

**Tableau 14:** résultat de la détermination des CMI des extraits de *M.pubescens* (Desf.) (mg/ml) et sur les souches testées.

Souche testées	<i>M.pubescens</i> (Desf.)		<i>R.officinalis</i> L.	
	Extrait Et OH CMI mg / ml	Extrait aqueux CMI mg/ ml	Extrait Met OH CMI mg/ml	Extrait aqueux CMI mg / ml
<i>S.aureus</i>	0,833	1,166	0,5	2,33
<i>B.cereus</i>	-	1	0,833	1,5
<i>E.feacalis</i>	1,333	1,83	0,5	0,5
<i>L.monocytogenes</i>	0,5	-	0,833	1
<i>E.coli</i>	1,333	1,166	0,5	0,666
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	0,666	2,33
<i>A.niger</i> (1)	0,666	0,5	0,833	0,833
<i>A.flavus</i> (1)	0,666	0,666	-	0,5
<i>p.escpansum</i> (1)	0,5	0,166	0,5	0,5
<i>p.jensinii</i>	0,333	0,333	0,666	1,333

<i>A.flavus</i> (2)	0,666	0,5	-	0,5
<i>P.escapansum</i> (2)	0,5	0,166	0,5	0,333

### VI-Activité antioxydante des deux plantes

Les antioxydants naturels sont présents dans l'alimentation; pour la plupart se sont des composés phénoliques qui possèdent au moins un noyau aromatique, contenant un ou plusieurs substituant , en effet cette propriété antioxydante est en relation directe avec la structure de ces molécules(Cosio et al.,2006).Pour tester l'activité antioxydante des H.E et des extraits, nous avons utilisé la méthode au DPPH, dont le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des composés purs ou de mélange complexe.

Pratiquement tous les extraits et les H.E ont réagi positivement aux testes anti-radicalaire avec le DPPH (Tableau 15), ceci s'explique par la présence d'un pouvoir antioxydant qui confirme les travaux de Ilhami et al(2004).

**Tableau 15:**Activité antioxydante en(%) des extraits et l'H.E de *M.pubescens* (Desf.) et *R.officinalis* L. comparativement à celui de l'acide ascorbique.

Concentrtion (1mg/ml)	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20
E. Aq(M.P)	23,2	26,6	29,68	35,74	40,8 8	42	44	55	68,26	80,12
E. Aq(R.O)										79,62
E. Eth (M.P)										81,45
E.Eth (R.O)										80,70
H.E (M.P)										85,74
H.E (R.O)										84,55
Acide ascorbique	35,2	38,15	41,24	45,64	48,6 6	50,80	53,22	68,54	73,02	90,52

Les résultats confirment que les différentes parties de *R. officinalis* L et *M. pubescens* (Desf.) présentent une aptitude à piéger le DPPH. Cette propriété a été évaluée par la technique de décoloration du DPPH qui démontre que le potentiel antioxydant de la plante est avéré.

La diminution de l'absorbance du radical DPPH est expliquée par sa réduction en présence des extraits et des H.E de *R. officinalis* L et *M. pubescens* (Desf.).

Le potentiel anti-oxydant des extraits est plus élevé que celui des H.E (fig.1). La présence de composés phénoliques (flavonoïdes,coumarines), alcaloïdes et des terpénoïdes seraient probablement à l'origine de l'AO de l'espèce. Les flavonoïdes, reconnus comme d'excellents anti-oxydants (Bruneton,1999),pourraient jouer un rôle important dans le système de défense. Ces métabolismes sont en outre connus pour d'autres propriétés biologiques diverses (Drissa et al.,2004).

L'indice relatif % RSA montre seulement la capacité de l'échantillon à une concentration fixée de réduire ou non les radicaux. Dans beaucoup de cas, l'augmentation de la concentration de l'antioxydant entraîne l'augmentation de ces indices relatifs (Popovici et al. , 2009 ).

Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la concentration effective CE50 (ou l'inverse  $1 / CE50$ ) de l'anti oxydant qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du DPPH• dans le milieu réactionnel. La capacité anti oxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa CE50 est petite. L'indice CE50 montre les concentrations de l'anti oxydant nécessaires pour faire décroître la concentration initiale du DPPH de 50% (exprimée en mol antioxydant / mol DPPH ou mg antioxydant / g DPPH) mais ne prennent pas en considération l'influence de la concentration sur le temps de la réaction (Popovici et al. ,2009 ).

## **VII-Evaluation de la qualité physicochimique et microbiologique des deux variétés des dattes au cours de conservation**

### **VII -1-Introduction**

La qualité des aliments est définie par les attentes des consommateurs et les exigences réglementaires. Les composantes de la qualité sont multiples :

- **Qualité hygiénique**

Les matières premières et les aliments qui sont issus doivent être dépourvus de microorganismes pathogènes et des toxines ...

- **Qualité nutritionnelle**

La concentration relative et la nature des différents nutriments ne doivent si possible pas être trop éloignées des recommandations des nutritionnistes.

- **Qualité sensorielle**

Les qualités organoleptiques conditionnent l'appétence et le plaisir que procure le consommateur ; elle intègre la couleur, la texture l'odeur, la saveur et l'arome (**Romain et al ., 2006**).

### VII-2- Qualité physico-chimique

Selon les normes fixées par le ministère Algérien de l'agriculture dans l'arrêté interministériel du 17 novembre 1992 cité par **Acouréne et al.( 2001)**.Une datte est dite de qualité physique et biochimique acceptable lorsque les critères suivants sont respectés :

- Aucune anomalie et non endommagée;
- Un poids supérieur ou égal à 6 g;
- Un poids en pulpe supérieur ou égale à 5 g;
- Une longueur supérieure ou égale à 3,5 cm;
- Un diamètre supérieur ou égal à 1,4 cm;
- Un pH supérieur ou égal à 5,4;
- Une humidité comprise entre 10-30%;
- Une teneur en sucres supérieure ou égal à 65%.

Ainsi Les critères d'évaluation des dattes ont été rapportés par **Meligi et Sourial (1982)** et **Mohammed et al. (1983)** sur les cultivars Irakiennes (annexe).

#### VII-2-1- Caractéristiques morphologique des dattes étudiées

Les caractéristiques morphologiques des dattes sont mentionnées dans le tableau 16.

**Tableau 16:** Caractéristiques morphologiques des deux variétés de dattes étudiées.

Caractères	CHERKA	FEGGOUS
Couleur	brun ambré	marron ambré
Consistance	Demi molle	Demi molle

longueur moyenne	3,29 cm	3,64 cm
largeur moyenne	1,30 cm	1,43 cm
poids moyen de la datte	16,13 g	14,17 g
poids moyen de la pulpe	14,90 g	11,54 g
poids moyen du noyau	1,23 g	2,63 g
noyau/datte entière (%)	7,62	18,56
pulpe/datte entière (%)	92,37	81,43
Noyau/datte	0,07	0,18
longueur/largeur	2,53	2,54

NB : la valeur moyenne porte sur 10 dattes

#### 1)- La couleur :

La couleur de la datte CHERKA (déterminée visuellement) est brune ambrée tandis que la variété FEGGOUS vire au marron ambré au stade tmar. La différence de la couleur est due à la différence de la composition biochimique et aux critères génétiques.

Il convient de rappeler ici l'importance de la couleur en tant que critère objectif de qualité, car elle varie avec le niveau de maturité des dattes et peut être un indicateur de l'état de fraîcheur ou d'altération. Pour les consommateurs, il s'agit d'un critère de choix pour l'appréciation de la qualité de produit (Romain, 2006).

#### 2)- Consistance :

Selon leur consistance, les dattes sont classées comme suit

-**Datte molle** : elles ont une chaire très aqueuse;

-**Datte demi molle** : dont la teneur en eau est moins importante que la catégorie précédente, mais qui reste de consistance molle;

-**Datte sèche** : dont la pulpe est naturellement sèche (Munier, 1973).

Selon cette classification, les deux variétés CHERKA et FEGGOUS sont des variétés demies molles. Ce qui rend leur conservation indispensable.

#### 3)- Longueurs, poids et diamètres des dattes :

La longueur des dattes FEGGOUS présente une valeur supérieure à celle mentionné dans l'arrêté interministérielle mais la datte CHERKA présente une valeur inferieur à celle-ci.

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 16, le poids moyen de la datte entière pour les deux variétés varie entre 14 et 16g, tandis que celui de la pulpe il est entre 11 et 14g.

La pulpe représente 14,90 g pour CHERKA et 11,54 g pour FEGGOUS. Elle est supérieure à plusieurs variétés Algériennes, a savoir à celle trouvé par **Amellal (2006)** (5,10g à 5,86g) et à celle trouvée par **Messaïde (2007)** (5 g de la variété Mech-Degla) cette différence peut être expliquée par la diversité génétique des dattes et de son origine géographique.

Un autre critère de qualité des dattes selon **Othman, (1995)** est le rapport noyau/datte : plus il est faible, plus la qualité du fruit est bonne.

Les valeurs de ce rapport sont trais faible (0,07 FEGGOUS et 0,18 CHERKA) ce qui explique que nos variétés sont de bonne qualité.

La détermination d'un autre rapport inversement corrélé au rapport cité précédemment permet également de caractériser les dattes. Il s'agit du rapport pulpe/ datte, étant donné que la meilleure datte est celle dont ce rapport est plus élevé.

La teneur en pulpe, exprimée en pourcentage pondéral (Poids de la pulpe/Poids de la datte) (**figure 16**), indique que la variété CHERKA, présente un pourcentage de 92.37 % cette valeur est en accord avec celle trouvée par **Acourene et Tama (1997)**, 90 % pour la variété SOKRIET-HASSANINE (datte demi molle); par contre la datte FEGGOUS (**figure 17**), présente un pourcentage un peu inferieur (81.43 %). Le tableau 16 donne l'évaluation des résultats obtenus pour ces critères.

**Tableau 17 :** Evaluation de la qualité des deux variétés des dattes par rapport aux paramètres morphologiques des dattes.

Critère qualitatif des deux variétés	Longueur de la datte	Poids de la datte	Poids de la pulpe	Diamètre de la datte
FEGGOUS	Bon caractère	Bon caractère	Bon caractère	Acceptable
CHERKA	Acceptable	Bon caractère	Bon caractère	Acceptable

Sur le plan morphologique et selon les normes fixées par l'arrêt interministériel du 17 Novembre 1992, les échantillons des deux variétés possèdent de bons caractères.

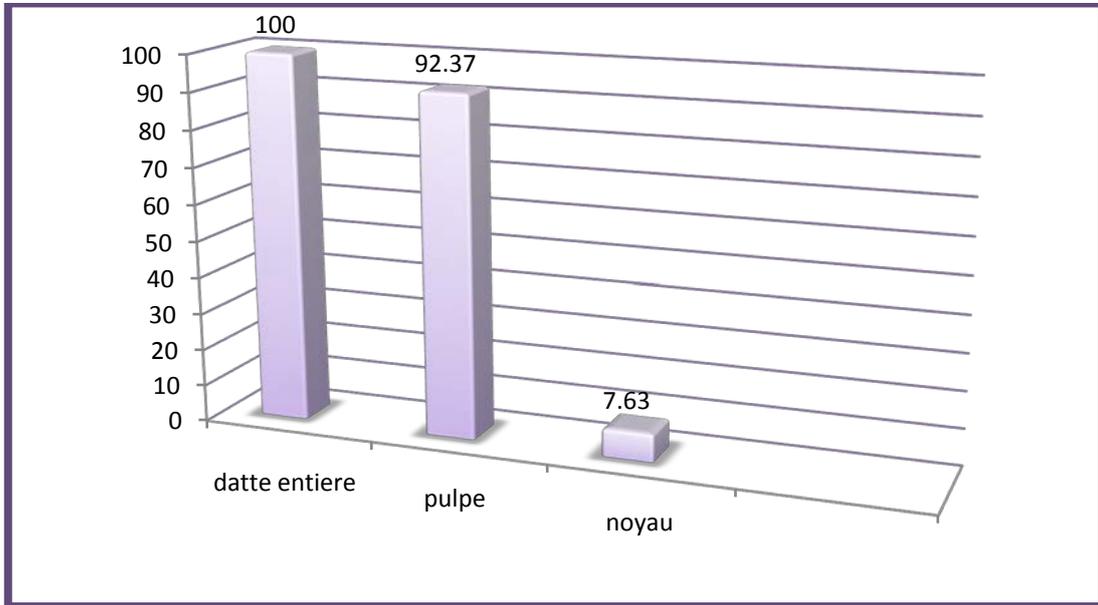


Figure 16 : Pourcentage de la pulpe et du noyau dans la datte entière (CHERKA).

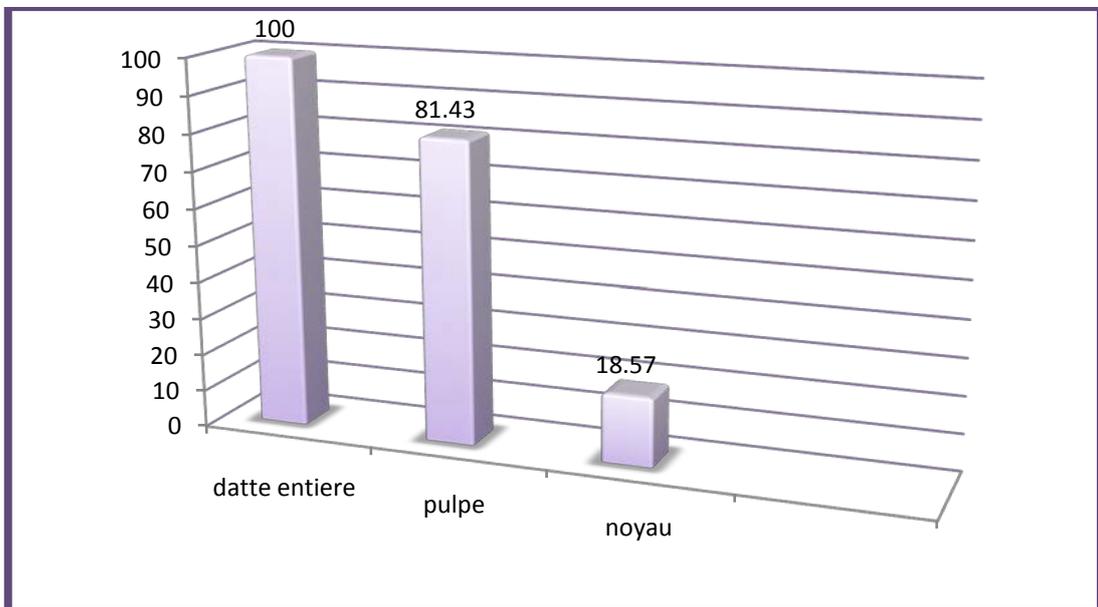


Figure 17: Pourcentage de la pulpe et du noyau dans la datte entière (FEGGOUS).

#### VII-2-2- Teneur en eau

L'eau est l'un des constituants essentiels du fruit. Elle a une importance fondamentale sur la qualité des dattes, et agit sur leurs conservations (**Ben Salah et Hellali, 2003**). La teneur en eau c'est un paramètre fondamental à des raisons capitales (**Multon, 1991**) :

**-Nécessité technologique :** pour la détermination et la conduite rationnelles des opérations de récolte, de stockage ou de conservation ; c'est un paramètre incontournable pour la maîtrise des risques d'altération pendant l'entreposage des dattes.

**-Nécessité commerciale :** les contacts d'achat et de vente stipule une limite supérieure à ne pas dépasser.

**-Nécessité réglementaire :** les services de répressions de la fraude et de contrôle de la qualité fixe la teneur en eau de 30% pour les variétés à sucres réducteurs et de 26% pour les variétés à saccharose (**Barrevele, 1993**).

Il est à noter que la teneur en eau varie beaucoup au cours de la maturation, puisqu'elle croit graduellement de la fin du stade Kimri jusqu'au milieu du stade Khalâl, où le ramollissement est déjà commencé. Par contre, cette même teneur d'eau décroît rapidement au cours des stades Routab et Tmar (**Sawaya et al., 1983**).

Selon Meligi et Sourial (**1982**) et Mohammed et al. (**1983**) une datte à une humidité comprise entre 10 et 24 % est dite de bon caractère. Les deux variétés de dattes étudiées ont une teneur en eau de 24.4 % de la variété CHERKA et 21.90 % de la variété FEGGOUS. Ce qui rend nos variétés de bon caractère.

La teneur en eau de la datte CHERKA est en accorde avec celle trouvée par Acourene et Tama (**1997**) qui est de 24,5% pour les variétés DGUELL-EDDAR et DJAOUZIA tandis que, la teneur en eau de la variété FEGGOUS est comparable à celle des variétés GUELB-ECHA et KERCHAOUA (21,0%).

Cette teneur justifie la classification des deux variétés des dattes dans la catégorie des dattes demi-molles et les rend susceptible d'être altérer, et leur stockage avec une telle teneur en eau, peut être dangereux provoquant une prolifération des micro-organismes ainsi qu'une accélération du déroulement d'autres réactions d'altérations (enzymatiques, biologiques, biochimiques).

### VII-2-3- L'indice de qualité r

L'indice de qualité r (rapport sucres totaux /teneur en eau), permet de déterminer la consistance de la datte. Il est égal à 2,86 pour la variété CHERKA et 3,37 pour la variété FEGGOUS. De ce fait on peut considérer les deux variétés comme des variétés demies molles.

#### **VII-2-4- pH**

Le pH est un indice de qualité déterminant l'aptitude à la conservation des aliments. Il constitue l'un des principaux obstacle que la flore microbienne doit franchir pour assurer sa prolifération (**Giddey, 1982 ; Gatel , 1982 ;Brissonet et al.,1990**).

Donc, il est important de mesurer le pH, afin de connaître la stabilité de l'aliment vis-à-vis les microorganismes. Il est rare que les microorganismes pathogènes pour l'homme se développent à un pH acide, inférieur à 4 (**Adamou, 2006**). La plupart des microorganismes se développent à des pH proche de la neutralité, dont les moisissures se développent à des pH acide (**Oteng-Gyang, 1984**).

Selon Meligi et Sourial (**1982**) et Mohammed et al (**1983**) on classe les dattes en trois groupes selon leur pH

- Dattes de mauvais caractère : pH inférieur à 5,4
- Dattes de caractère acceptable : pH compris entre 5,4 et 5,8
- Dattes de bon caractère : pH supérieur à 5,8

Le pH est égale 6,4 pour FEGGOUS et 5,9 pour CHERKA ces valeurs offrent à ces variétés une qualité de bon caractère.

Il est à signaler que cette valeur est favorable pour la conservation de certaines vitamines du groupe B telles que B1, B2, B5, B9 B12 (**Bourgeois, 2003**), vitamines prédominantes dans les dattes.

Le pH des deux variétés pose problème vis-à-vis au développement des moisissures.

#### **VII-2-5- Acidité titrable**

Les acides organiques sont en général des intermédiaires des processus métaboliques. Ils influencent la croissance des microorganismes et affectent la qualité de conservation des produits. Ils sont directement impliqués dans la croissance, la maturation et la sénescence de la datte (**Al-Farsi et al., 2005**).

Le taux de l'acidité de la datte est proportionnel à la teneur en eau et donc inversement proportionnel au degré de maturité.

La présence et la composition en acides organiques peuvent être affectées par divers facteurs comme la variété, les conditions de croissances, la maturité, la saison, l'origine géographique, la fertilisation, le type de sol, les conditions de stockages, le temps d'exposition au soleil et la période de récolte... (Ahmed et al., 1995)

La datte CHERKA analysée présente une acidité de 0,21%. Elle est en corrélation avec celle trouvée par Messaïde (2007) des dattes de variété MECH-DEGLA. Tandis que FEGGOUS présente une acidité de 0.19 %, ce résultat est comparable à celui trouvé par Acourene et Tama (1997) pour les deux variétés GUELB-ECHA HALOUET et LOULACH.

#### **VII-2-6- Taux de cendre**

Le taux de cendre représente la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon. La teneur en cendres est de 1.69% pour la variété CHERKA. Cette valeur est inférieure à celle citée par Acourene et Tama (1997) qui est de 2,73% pour la variété DGUELL-EDDAR (demi molle), mais elle est supérieure par rapport à la variété DJAOUZIA 1,28%.

La variété FEGGOUS possède un taux de cendre de 1,72% cette valeur est en accord avec celle trouvée par Al-Hooti et al. (2002) qui est de 1,77 % pour la variété Birhi d'Emirates.

#### **VII-2-7- Matière grasse**

La composition des fruits en lipides ne dépasse pas 0,1–0,5% (Belitz et al., 2009). Les dattes sont pauvres en lipides. La teneur en matière grasse de la variété FEGGOUS est de 0,15% tandis que celle de la variété CHERKA de l'ordre de 0,1%.

#### **VII-2-8-Taux de sucre**

Les sucres ont une place irremplaçable est importante dans notre alimentation puisqu'ils possèdent un rôle nutritionnelle par l'apport d'énergie; un rôle organoleptique par la contribution à la texture et à la couleur et un rôle technologique en tant que agent de conservation par leur capacité de réduire la teneur en eau (Romain et al., 2006).

D'après les résultats trouvés, la datte CHERKA renferme une teneur de 70 % de sucres totaux, alors que le FEGGOUS renferme une teneur de 74 %.

VII-2-9- Protéines

Parmi les constituants intéressant de la datte, on peut mentionner encore les protéines.les deux variétés sont caractérisées par une faible teneur en protéines, elle est de 5,95 pour Cherka et 5,36 pour Feggouss. Le taux des protéines diffère selon les variétés, il est de 2,5% pour la variété Deglet Nour(Yahyaoui,1998 ;Amellal,2008).Les résultats trouvés pour les caractéristiques physicochimiques sont résumés dans le tableau 18 :

**Tableau 18:** Caractéristiques physicochimiques des deux variétés des dattes.

Paramètre	CHERKA	FEGGOUSS
Humidité (%)	24,4	21,9
Cendres (%)	1,69	1,72
pH	5,9	6,4
Acidité ( g d'acide citrique)	0,21	0,19
Matière grasse(%)	0,1	0,15
Sucres totaux(%)	70	74
Protéines	5,95	5,36

VII-3-Qualité microbiologique des dattes étudiées

Les résultats de dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT), la flore fongique (FF), les coliformes totaux(CT), les coliformes fécaux(CF) et les *staphylococcus aureus* (*S.aureus*) , sont présentés dans le tableau19:

**Tableau 19 :** résultats de l'analyse microbiologique des deux variétés des dattes UFC/g.

Variété des dattes	FMAT	FF	CT.	CF	<i>S.aureus</i>

<b>FEGGOUS</b>	$2.10^3$	$2.10^2$	0	abs	abs
<b>CHERKA</b>	$7.10^2$	50	40	abs	abs

Aucune intoxication alimentaire n'est à l'origine de la consommation des dattes. C'est la raison pour laquelle la recherche des germes pathogènes pour approuver la qualité sanitaire n'est pas nécessaire (Hamad et al.,1983).

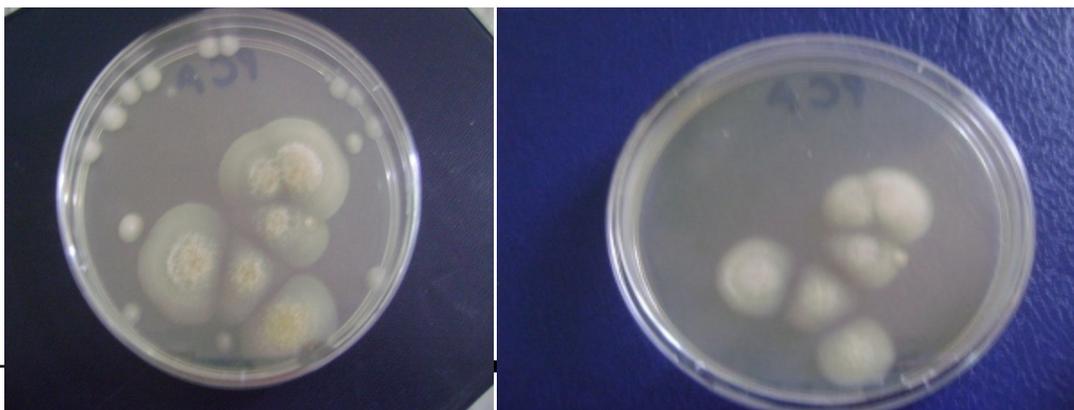
Le dénombrement de la flore totale est le meilleur outil pour évaluer la qualité microbiologique générale des aliments, donc c'est un indice de qualité. Une denrée alimentaire contenant plus de  $3.10^5$  germes /g doit être considéré comme impropre à la consommation (Guiraud, 2003).

Comme indique le tableau19. La variété CHERKA renferme une charge microbienne de  $7.10^2$  UFC/g, et la variété FEGGOUS renferme une charge microbienne de  $2.10^3$ UFC/g (photo 28), ce qui indique que les deux variétés sont propres à la consommation.

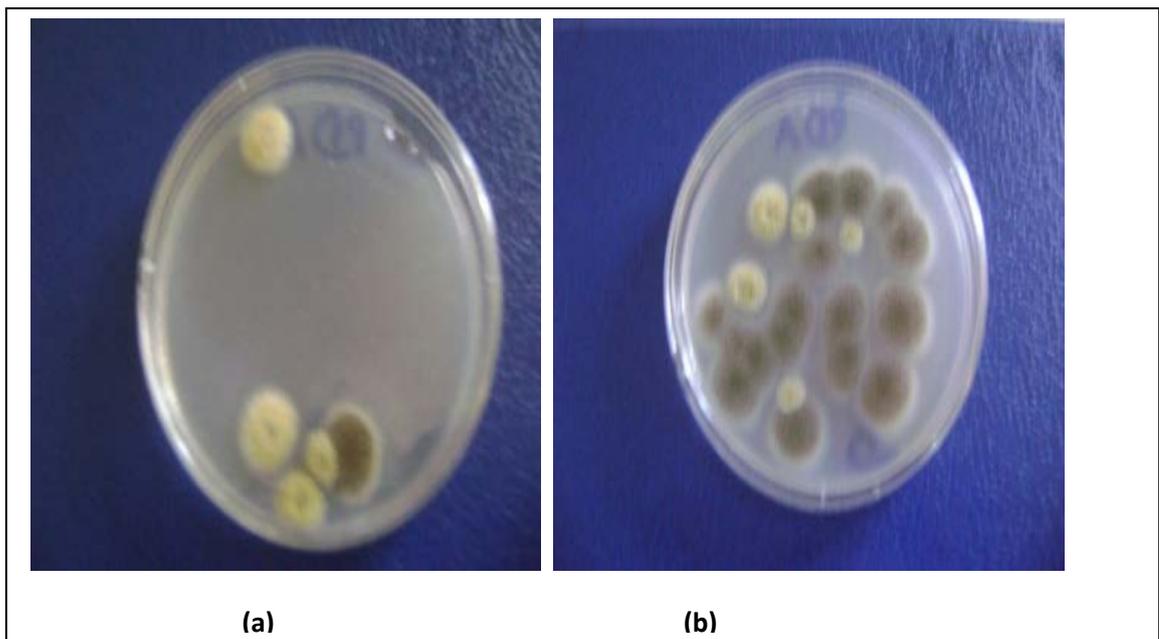
La flore existante est présentée seulement à la surface externe. Cependant, il arrive le plus souvent que les plaies et les blessures soient à l'origine de la pénétration des microorganismes. En plus, d'autres sources peuvent contaminer la surface des dattes : le sol, l'aire, les oiseaux, les insectes, l'environnement, ... etc (Oteng-Gyang ,1984).

Le dénombrement de la flore fongique est d'un grand intérêt pour évaluer la qualité des dattes. Les dattes étudiées montre une présence des levures et moisissures ( $2.10^2$  UFC/g pour FEGGOUS et de 50 UFC/g pour CHERKA) (photo 29). Ceci peut être dû aux caractéristiques physicochimiques de ces deux variétés.

Le dénombrement des coliformes totaux révèle l'existence de 40 UFC/g dans les dattes CHERKA, et leur absence pour la variété FEGGOUS (photos 30).



**Photo 27** : Résultat de dénombrement de FMAT(a FEGGOUS, b CHERKA).



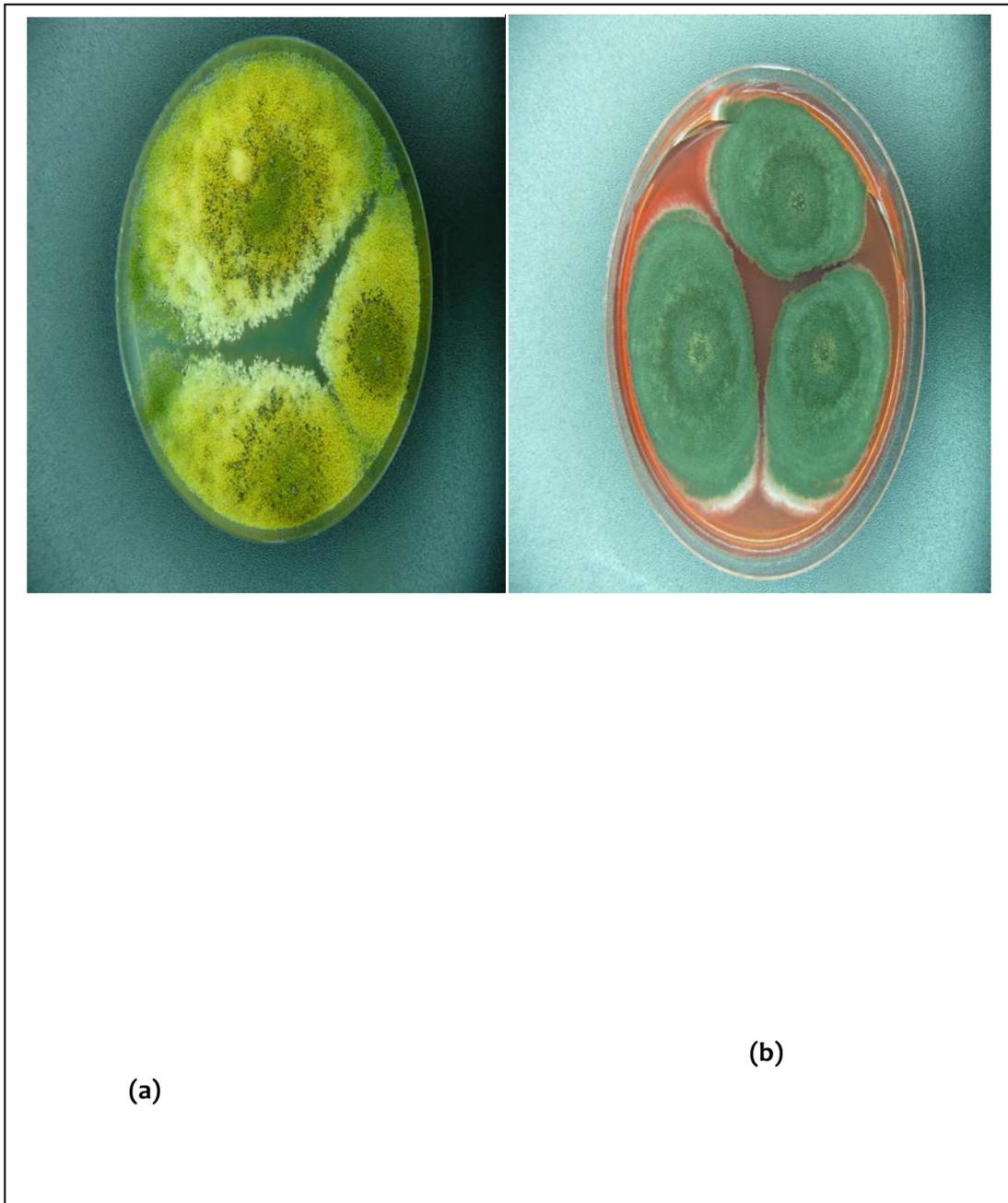
**Photo 28** : Résultat de dénombrement de FF (a FEGGOUS, b CHERKA)



**(b)**

**Photos 29** : Résultat de dénombrement de CT pour la variété CHERKA.

Nous avons, procédé à l'identification des genres de moisissures par la technique de micro-culture, et la single spore pour l'identification de l'espèce. Les résultats montrent la dominance des deux genres *Aspergillus* (*A.niger* et *A.flavus*) *Penicillium*(*P.purpurogenum*)(Photos 30).



(c)

**Photos 30 :** Résultats de l'identification des souches fongiques isolées à partir des variétés des dattes étudiées : (a) *A.flavus*,(b) *P.purpurogenum*,(c)*A.niger*

## VII-4 - Evaluation de l'efficacité de conservation des dattes par *R.officinalis L* et /ou son H.E

L'utilisation de la poudre du Romarin et son huile essentielle comme agents de conservation doivent assurer :

- La sécurité de consommateur, en inhibant le développement des microorganismes pathogènes.
- La stabilité organoleptique de l'aliment. (Romain, 2006)

### VII-4-1-Evolution des paramètres physicochimiques au cours de la conservation

#### VII-4-1-1- Teneur en eau

Il fallait mieux calculer l'activité d'eau mais faute de moyen nous sommes limités à calculer le taux d'humidité qui est en relation avec l'activité de l'eau .Nous avons interposé les dattes étudiées à l'air ambiant et on a fait un suivi de la teneur en eau chaque 15 jours pendant 7 mois pour les dattes sans ajout, les dattes avec ajout de Romarin et les dattes enrobée avec l'huile essentielle (Figure18).

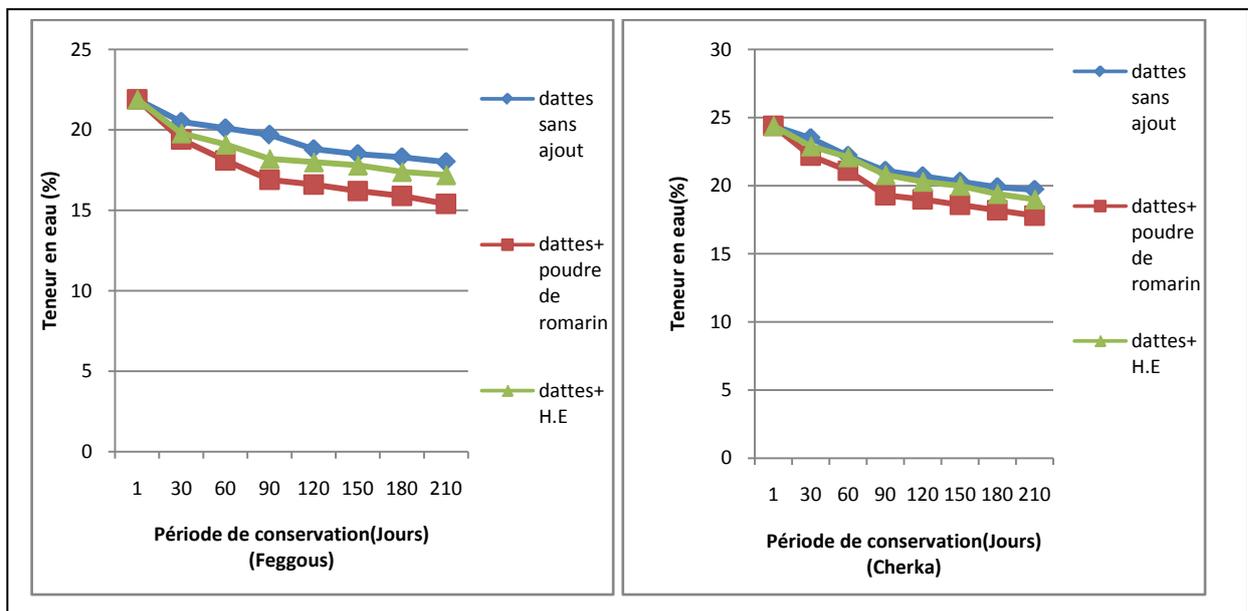


Figure 18 : Evolution de la teneur en eau en % au cours de la conservation

La réduction de teneur en eau dans les dattes sans ajout est expliquée par évaporation de l'eau (transpiration des dattes), qui est en fonction de la structure des dattes, et de l'épaisseur de l'épiderme.

Nous avons constaté ainsi une réduction des teneurs en eau dans les dattes conservés par rapport aux dattes sans ajout comme témoins. Cette réduction est de l'ordre de 5 % (FEGGOUS), 5,1% (CHERKA) pour les dattes avec ajout de la poudre de la plante.

Si on observe la structure matricielle des aliments on voit une forte dispersion des constituants de l'aliment. Pour stabiliser les éléments dispersés, on agit sur la viscosité de la phase dispersante (eau), ou on crée un réseau macromoléculaire limitant le déplacement des particules en les incluant dans ses mailles c'est le cas de l'effet d'ajout de la poudre du plante aux dattes, en se dissolvant dans l'eau contenue dans les dattes, le Romarin diminue l'eau disponible et stoppe ainsi la croissance des microorganismes.

La perte en eau représente 3,7%(FEGGOUS), 4,3% (CHERKA) pour les dattes enrobées, elle est mon importante que celle des dattes conservées par la poudre de la plante.

#### VII-4-1-2- pH et acidité

Le pH de l'aliment est une des grandeurs qui influe sur le comportement des microorganismes et les activités enzymatiques. A des pH en dessous de 4,5, l'activité et la survie d'une grande flore microbienne sont très réduites. Entre 4,5 et 6,0, seuls les acidotolérants résistent. Au pH neutre, la plupart des microorganismes se trouvent dans les conditions optimales de survie. Il est donc possible de ralentir les phénomènes d'altérations microbiennes en s'écartant des conditions optimales c'est à dire de la neutralité (pH=7). Ce qui peut se réaliser par acidification de milieu (**Tableau 20**).

**Tableau 20 :** Importance du pH pour la conservation des aliments (Nganguem, 2008).

pH	Valeurs importantes pour l'industrie alimentaire
6,0-7,5	Tous les microorganismes survivent, c'est le pH de la plupart des aliments.
4,5-6,0	Seulement les microorganismes acidotolérants survivent, c'est le pH de beaucoup de fruits.
3,2-4,5	Activité et survie des microorganismes sont très limitées : concentré de fruits

(citron).

La mesure du pH et le suivi durant une période de conservation de 7 mois (Figure 19) nous a permis d'apprécier l'impacte du procédé de conservation sur les caractéristique des dattes.

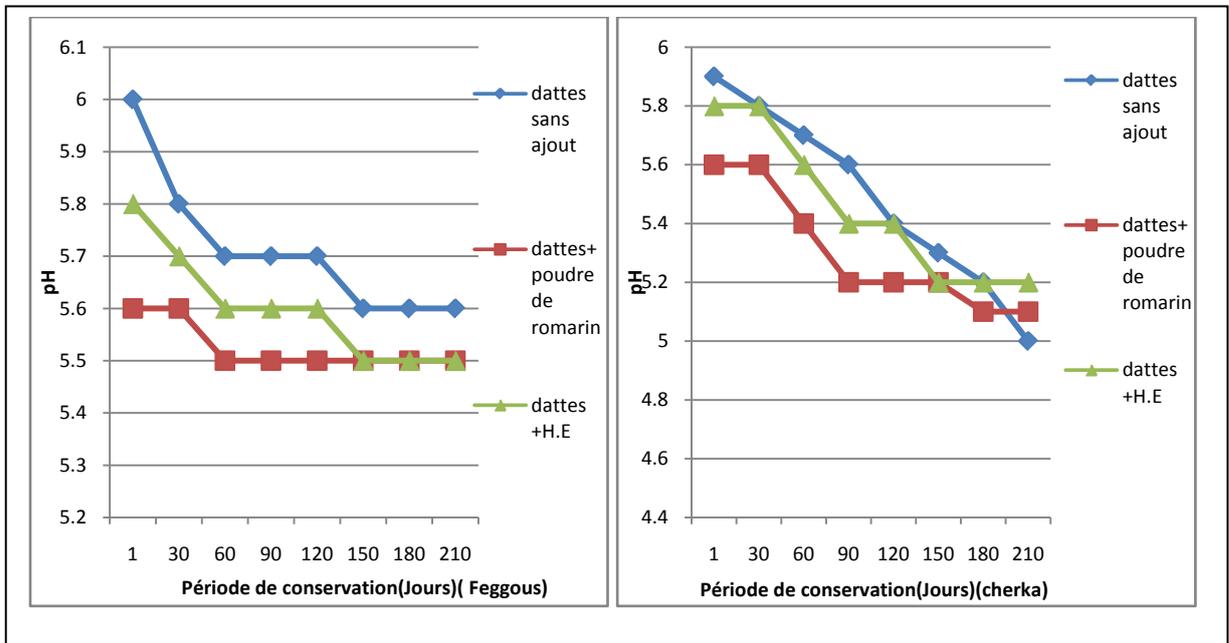
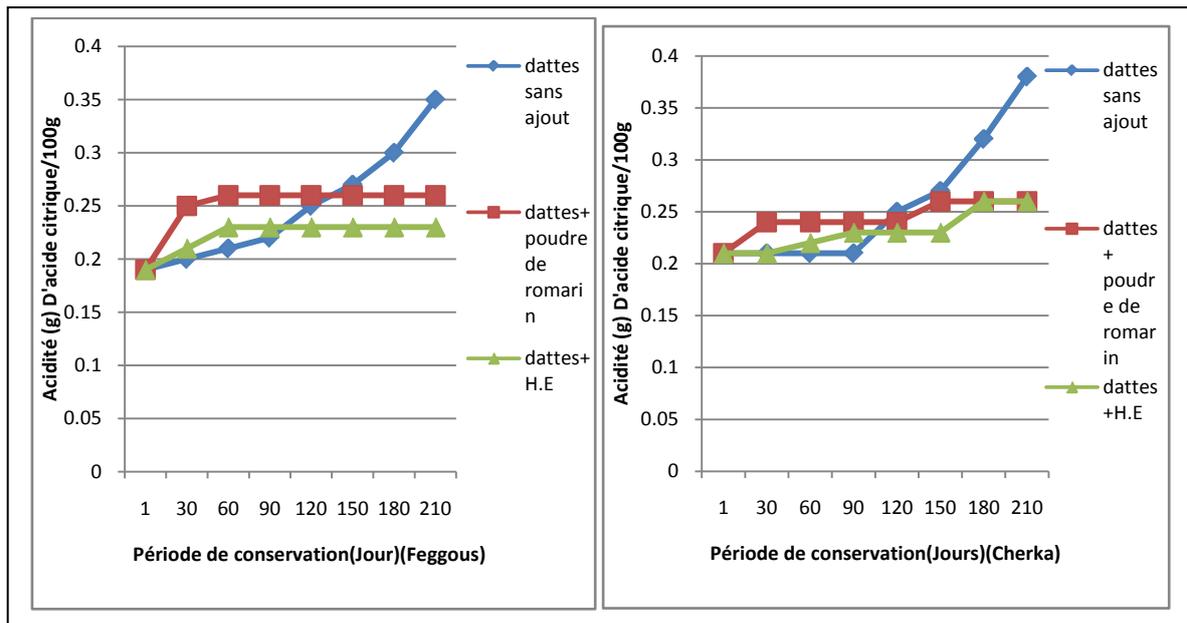


Figure 19 : Evolution de pH au cours de la conservation

Le pH des dattes à la récolte montre une valeur moyenne de 6,1 de la variété FEGGOUS et 5,9 de la variété CHERKA ces deux valeurs s'inscrivent dans la gamme des pH de dattes d'excellente valeur marchande.

Après 15 jours de conservation une légère diminution de pH est observée dans les dattes sans ajout pour les deux variétés de dattes. Le pH continue a diminuer durant les 7 mois de conservation. Cette diminution est de l'ordre de 6,1 à 5,6 pour la variété FEGGOUS et 5,9 à 5 pour la variété CHERKA. Cette diminution est expliquée par l'activité biologique des microorganismes, qui utilisent les sources de carbones disponibles dans les dattes ce qui engendre l'élimination des déchets parmi les quelles les acides organiques.

Parallèlement une augmentation de l'acidité (**Figure 20**) est marquée dans les deux variétés de 0,21 à 0,38 de la variété CHERKA et 0,19 à 0,35 de la variété FEGGOUS.



**Figure 20 :** Evolution de l'acidité au cours de la conservation

L'ajout du *R. officinalis L* et/ou son H.E c'est à l'origine de l'abaissement du pH dès les premières jours. Les valeurs d'abaissement varient de 6,1 à 5,6 pour FEGGOUS, et de 5,9 jusqu'à 5,1 pour la variété CHERKA.

L'acide rosmarinique dérivé de l'acide hydroxycinnamique est l'un des composés phénoliques de Romarin (Nutri, 2007), la présence de cet acide peut être à l'origine de cette diminution du pH. Ce qui se traduit par une acidification de 0,19 à 0,26 pour la variété FEGGOUS et 0,21 à 0,26 pour la datte CHERKA. une stabilité est remarqué après 30 jours de conservation avec une valeur d'acidité de 0,26 et 0,24 pour la variété FEGGOUS et CHERKA respectivement. Cette stabilité est observée après 150 jours de conservation.

#### VII-4-2- Evolution de la flore microbienne au cours de la conservation

Les résultats obtenus révèlent une augmentation de la flore aérobie dans les deux variétés, une augmentation de 1900 à 5400 UFC/g pour la datte FEGGOUS et de 700 à 2900 UFC/g pour la datte CHERKA, ceci est expliqué que les conditions (température ambiante, nutriment,....)

sont favorables à la croissance de ces germes (Guiraud, 2003); ainsi une augmentation est observée pour la flore fongique.

D'après les résultats obtenus lors de l'ajout du *R. officinalis* L et /ou son H.E ( Figure 21 et 22), une forte réduction de la flore aérobie mésophile totale pour le Feggous conservée par l'addition de la poudre de la plante est observée juste après 15 jours de conservation, avec un taux de 52,38 %, la diminution se poursuit au cours de la période de conservation jusqu'à 0 UFC/g après 30 jours de conservation, cette réduction est de 62.5% dans la datte CHERKA après 15 jours de conservation, la flore aérobie mésophile de cette variété continue à se diminuer au fur et à mesure jusqu'à une stabilité 100 UFC/g, puis ce nombre reste stable durant toute la période d'entreposage.

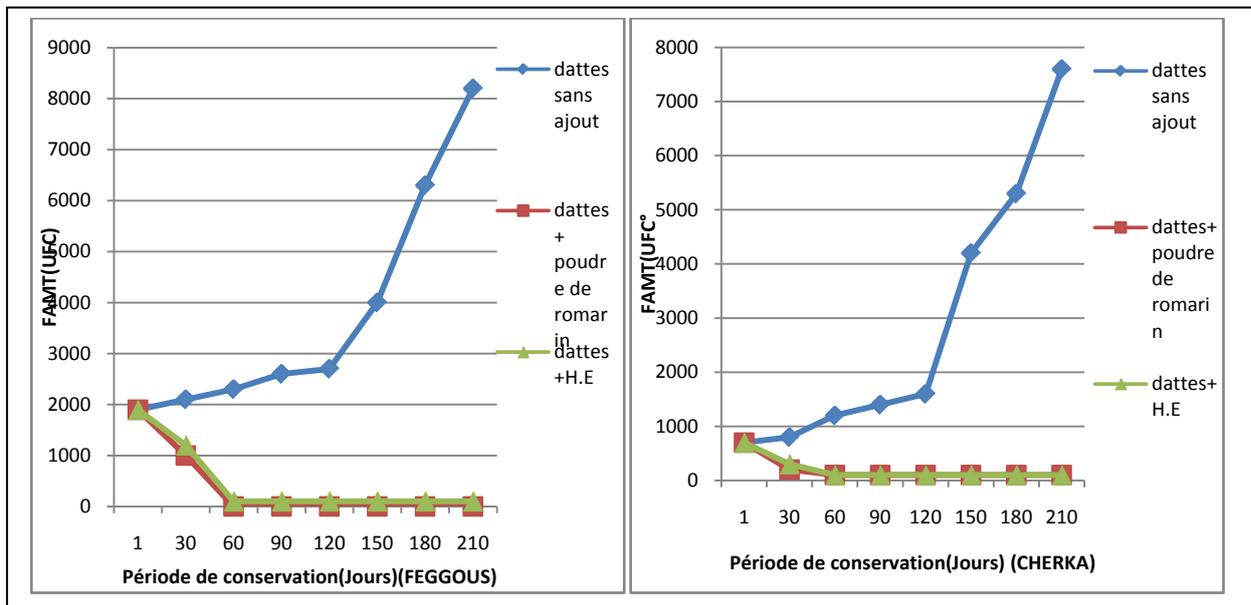
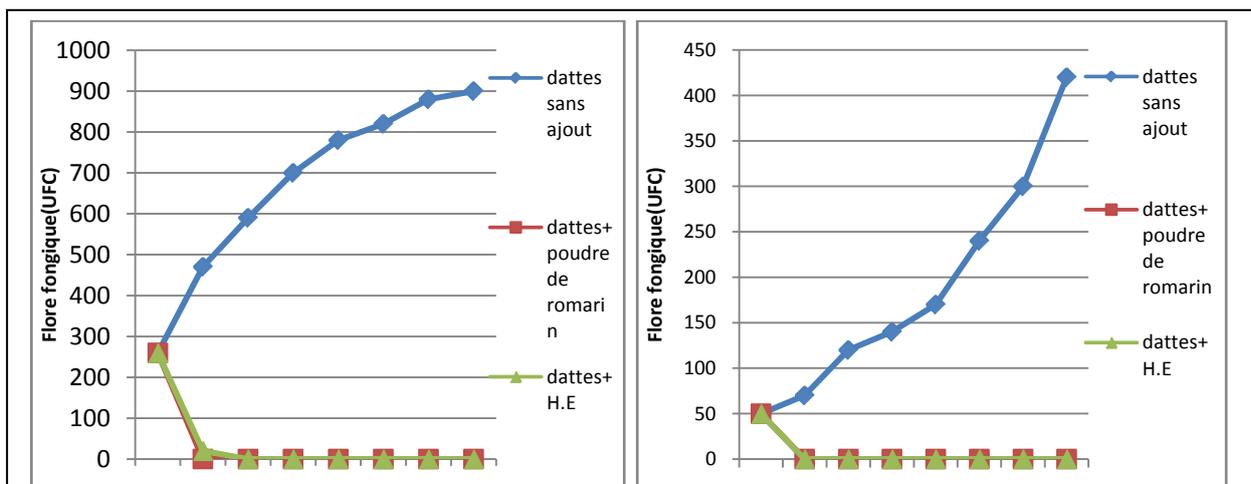


Figure 21: Evolution de la FAMT au cours de la conservation



**Figure 22:** Evolution de la flore fongique au cours de la conservation

La stabilité observée pour la variété CHERKA peut être expliquée par la présence d'une flore résistante. On observe aussi une réduction de la flore fongique pour les deux variétés, elle atteint 100% après 30 jours de conservation. On note aussi la disparition totale des coliformes pour la variété CHERKA après 15 jours de conservation est remarquée.

La diminution du taux de microorganismes observés dans les deux variétés de dattes démontre l'efficacité de cette méthode de conservation, il nous reste à expliquer les facteurs en coordination qui influent sur la croissance microbienne.

Il vient en premier lieu l'activité antimicrobienne des composants actifs du Romarin (*Rosmarinus officinalis L.*), Moreno et al. (2006) démontrent que la plante Romarin est riche en composants phénoliques avec une activité antimicrobienne contre les bactéries et contre les levures et les moisissures.

Une partie de cette activité est due à la présence de l'acide carnosique, l'acide rosmarenique et le carnosol. Rappelons que Les acides ont un double effet antimicrobien via l'acidification qu'ils engendrent, et un effet spécifique à l'acide utilisé. Il est reconnu que les acides organiques, ont une capacité antibactérienne importante (Russell et al., 1998; Partanen

et al., 1999 ; Canibe et al .,2001), ils bloquent la prolifération des microorganismes et influent beaucoup sur les qualités sensorielles des fruits (Jadhav et Andrew, 1997 ; Siebert , 1999).

En plus de leur activité antimicrobienne directe, les composants du Romarin agissent sur l'humidité. Dans ce contexte la plupart des microorganismes se développent à une  $A_w$  entre 0,95 et 1, les moisissures et la plupart des bactéries sont incapable de s'accroître à un taux d'humidité au dessous de 24 où l' $A_w$  est égal à 0,7. La diminution de la teneur en eau observé dans les dattes conservées avec l'addition de la poudre de la plante peut défavoriser donc la croissance des microorganismes.

Donc une corrélation des facteurs (composants actifs de la plante, facteurs intrinsèques) peut expliquer la réduction de la flore existante dans les deux variétés.

Les résultats obtenus (**figure21**) après un mois de conservation montrent une réduction de la flore aérobie mésophile totale avec un taux de réduction qui atteint 42,8% pour la variété FEGGOUS et 50% dans la variété CHERKA.

Pour la datte FEGGOUS la réduction se poursuit jusqu'à une stabilité 100 UFC/g après 75 jours de conservation.

Après 60 jours une inhibition est observée pour CHERKA, avec un taux de 94.11% où le nombre de germes se stabilise après ca.

Dans le cas de la flore fongique une réduction de 30,3 % pour FEGGOUS et de 57,14 pour CHERKA est marquée après un mois de conservation, l'élimination totale est observée après 45 jours de conservation pour les deux variétés. Les coliformes totaux sont éliminés totalement dans la variété CHERKA après 15 jours de conservation.

La réduction de la flore originale est due à l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du Romarin avec ses composants actifs tel que le cinéole, le camphre et l' $\alpha$ -pinène (Mathlouthi et al., 2009). En effet grâce à sa composition qui est très diversifiée L'huile du Romarin peut être agir à plusieurs niveaux sur la cellule bactérienne (Rozman et Jersek , 2009).D'une manière générale leur action se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

○ Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**Caillet et Lacroix, 2007**)

De plus, des études différentes ont démontré l'efficacité des huiles essentielles (HE) et leurs composés actifs pour contrôler ou interdire la croissance des microorganismes pathogènes dans les fruits, Cette efficacité dépend de :

- types et concentration d'HE et ses composés actifs ;
- type des microorganismes dans l'aliment ;
- pH du produit de fruit (**Burt, 2004**).

Le mécanisme d'action des huiles essentielles sur la flore fongique n'est pas clair, mais la majorité des rapports indiquent que leur activité se fait par :

- Des modifications morphologiques des hyphes (**Bergkvist, 2007**) ;
- Perturbation directe de la membrane cellulaire fongique (**Cavanagh, 2007**).

La sensibilité microbienne à l'HE est augmentée avec une réduction du pH des aliments or au pH bas l'hydrophobicité des HE augmente, qui lui permet de se dissoudre facilement dans les lipides de membrane cellulaire des bactéries (**Rosa et al., 2009**).

Si on compare les résultats d'enrobage avec ceux obtenus dans le cas des dattes conservées par l'ajout du Romarin on observe qu'il y a une différence du taux de réduction dans les mêmes périodes de conservation. Ce taux est plus élevé dans les dattes conservées par ajout de la poudre de la plante que celui observé pour celles qui sont conservées par enrobage.

Cette différence est due au premier lieu que l'huile essentielle ne peut agir qu'à des pH relativement bas (**Rosa et al., 2009**). En plus l'augmentation de l'activité antimicrobienne de la partie aérienne de la plante résulte aux composés actifs par rapport à l'huile essentielle seule, ainsi que l'instabilité de ce dernier.

#### **VII-4-3- Analyses sensorielles**

Les résultats des analyses sensorielles sont mentionnés dans Le tableau16.

##### **VII-4-3-1- Évaluation descriptif des dattes**

D'après les résultats obtenus on peut dire que :

Les dattes sans ajout présentent une consistance ni dure, ni tendre (44% des dégustateurs) ce qui est confirmé par les analyses physicochimiques qui montrent que les variétés étudiées sont des dattes demi molles. 36% des dégustateurs se disent qu'il n'y ait pas d'arrière goût.

En ce qui concerne l'arôme, la plus part des dégustateurs (42%) détectent un arôme faible présenté par l'arôme naturel des dattes sans ajout.

D'autre part les résultats montre que les dattes avec ajout de la poudre de la plante aromatique sont des dattes ni dures ni tendres (40% des dégustateurs). 38% des dégustateurs détectent un arôme très intense ; ce dernier est dû aux composés volatiles ; composants essentiels du Romarin. L'arrière goût est présenté sous forme d'une échelle d'intervalle (dans un ordre croissant) ; 40% des dégustateurs déclarent la présence d'un arrière goût entre faible et fort.

**Tableau 21 :** les résultats d'analyse sensorielle (exprimé en % des dégustateurs).

Produit	Consistance (%)				
	Très dure	dure	Ni dure –ni tendre	tendre	Très tendre
<b>A</b>		38	44	16	2
<b>B</b>	2	28	40	26	4
<b>C</b>	2	4	32	34	28
	Arome (%)				
	Très intense	intense	faible	nulle	
<b>A</b>	4	30	42	24	
<b>B</b>	38	36	20	6	

C	22	46	18	14			
	Arrière gout (%)						
	0	1	2	3	4	5	6
A	36	20	24	12	8	0	0
B	10	20	12	14	12	14	20
C	18	14	10	12	20	10	16
	Très bon	Bon	Acceptabl e	Médiocre	mauvais		
A	12	34	36	12	6		
B	12	44	34	6	4		
C	48	32	20	0	0		

En fin, 34% des sujets mentionnent la tendreté de la datte C, et 32 % marquent que les dattes C sont ni dures ni tendres. 46 % des dégustateurs détectent la présence d'un arôme intense. Cet arôme est dû aux composés volatiles de l'huile essentielle du Romarin. Une intensité considérable d'arrière goût est déclarée par 20 % des dégustateurs.

#### VII-4-3-2- Évaluation hédonique des dattes

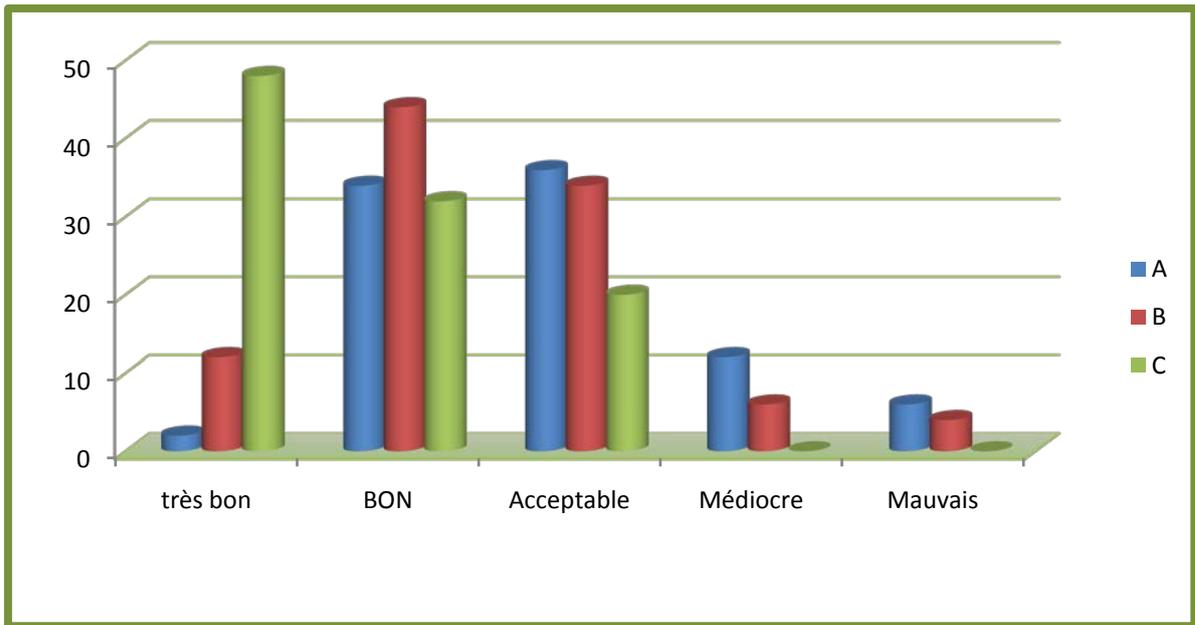


Figure 23 : Evaluation hédonique des trois formes de dattes.

D’après les résultats mentionnés sur l’histogramme on peut dire que les dattes C sont jugés très bonnes, les dattes B bonnes tandis que les dattes A acceptables. On procède à des analyses statistiques pour bien confirmer ces résultats .On fait participer 10 sujets. Les résultats sont présentés dans le tableau (22)

Tableau 22: les notes de dégustation.

produit	Notes de dégustateurs										Somme des rangs
	Dégustateurs										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<b>A</b>	3	2	3	3	2	2	3	3	2	3	26
<b>B</b>	1	3	2	1	3	3	2	2	3	2	22
<b>C</b>	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	12
<b>ΣR</b>	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	60

Vérification :

La somme des rangs  $R = \frac{n(n+1)}{2}$

$$n=3 \text{ (nombre d'échantillon)}; R = \frac{3(3+1)}{2}=6$$

$$\text{La somme des sommes des rangs } \sum R = \frac{M.n.(n+1)}{2}$$

Où M : nombre des dégustateurs.

$$\sum R = \frac{10.3.(3+1)}{2} = 60$$

Dans le tableau statistique, les valeurs critiques des rangs pour n=3, M=10 sont entre [15-25] (annexe)

Puisque 12 < 15 l'échantillon C est le meilleur parmi les autres, l'échantillon B est classé le deuxième puisque sa somme des rangs est de 22 elle se situe dans l'intervalle [15-25].

La somme des rangs pour A est égale à 26 qui sont supérieur à 25 donc l'échantillon A est classé en dernier lieu.

### VIII- Evaluation de l'efficacité de la conservation du beurre par *M.pubescens*(Desf.)

#### VIII-1- Caractéristiques physiques

Les caractéristiques physiques du beurre cru étudié sont données dans le tableau ci-dessous:

**Tableau 23:** Caractéristiques physique du beurre cru, beurre à H.E et D'han

	Couleur	L'odeur	Texture
Beurre	Blanc, brillant et lisse.	Odeur caractéristique du beurre des chèvres, pure et fraîche	<b>Homogène, idéal à tartiner</b>
Beurre + H.E	Jaunâtre	Odeur piquante de <i>M.pubescens</i> (Desf.)	<b>Visqueuse</b>
D'han	<b>Verdâtre</b>	<b>Odeur caractéristique</b>	<b>Granuleux</b>

La couleur blanche du beurre de chèvre est due au taux faible en carotène, L'odeur et la texture indique le degré de fraîcheur du beurre. (Avalos, 2007).

La couleur jaunâtre du beurre à H.E est due à la couleur d'huile essentielle. L'huile essentielle influe sur la texture du beurre cru, en augmentant la viscosité de ce dernier.

La coloration verdâtre du D'han est due à la composition chimique du *M. pubescens* (Desf.) et surtout les flavonoïdes. Les amides trouvés dans la plante aromatique sont responsable de l'odeur piquante (Benkiki, 2006). L'ajout de la plante provoque une texture granuleux du D'han.

Le Taux d'humidité du beurre cru, beurre à huile essentielle et D'han (figure 24) sont respectivement de l'ordre 21,22%, 18,40%, 1,89%. La teneur en eau obtenue est légèrement plus faible par rapport à celle du beurre fermier du Maroc, qui est de l'ordre de 23,3% (El-Marrakchi A et al., 1986). On remarque qu'il ya une diminution considérable de l'humidité dans le D'han, ce résultats explique que la préparation de ce dernier, provoque l'évaporation de l'eau à partir de la matière première (beurre cru).

La teneur en matière sèche des échantillons analysés est égale à 78,78% pour le beurre cru ; 81,6% pour le beurre à huile essentielle et 98,11%pour le d'han.

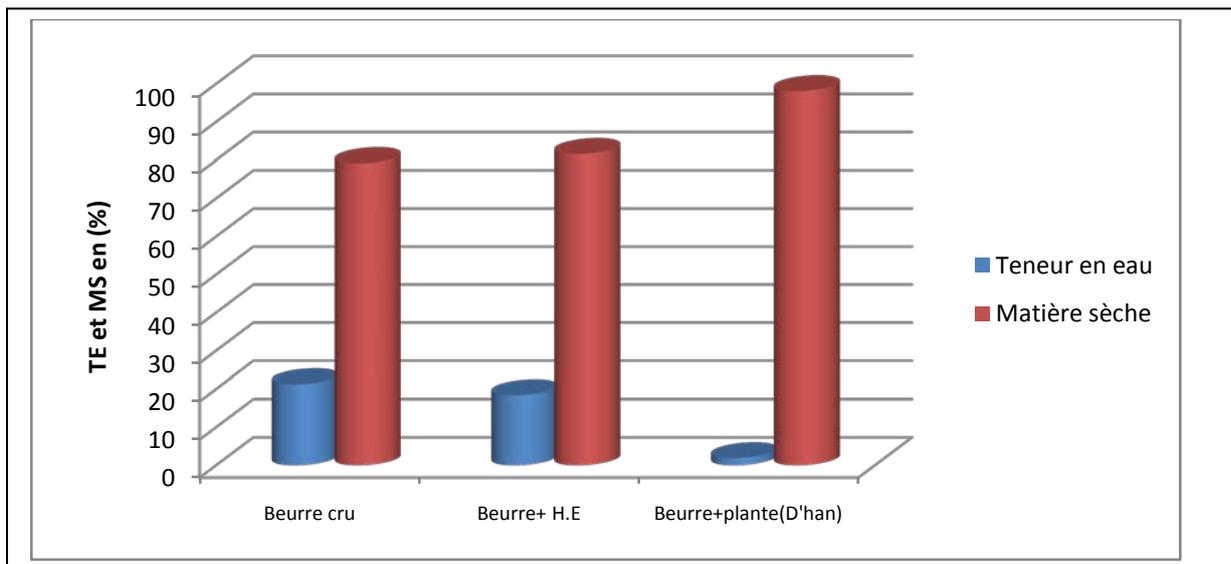


Figure 24: Taux d'humidité et de la matière sèche

### VIII-2- Résultats des Caractéristiques chimiques

Les résultats des paramètres chimique pour les différent type du beurre sont représenté dans le tableau 24.

**Tableau 24:** Caractéristiques chimique du beurre cru, beurre à H.E et D'han

Produits	beurre	Beurre + H.E	D'han
Paramètres			
L'acidité en % au 1 <sup>ier</sup> jours	0,4 %	0,3 %	0,3%
L'indice de peroxyde en meq/kg au 1 <sup>ier</sup> jours	0,8	0,50	0,44

### VIII-3-Résultats des Critères microbiologiques

La flore microbienne initiale du beurre traditionnel et ces produits dérivés sont mentionnées dans le tableau 25.

**Tableau 25:** Dénombrement de germes au premier jour.

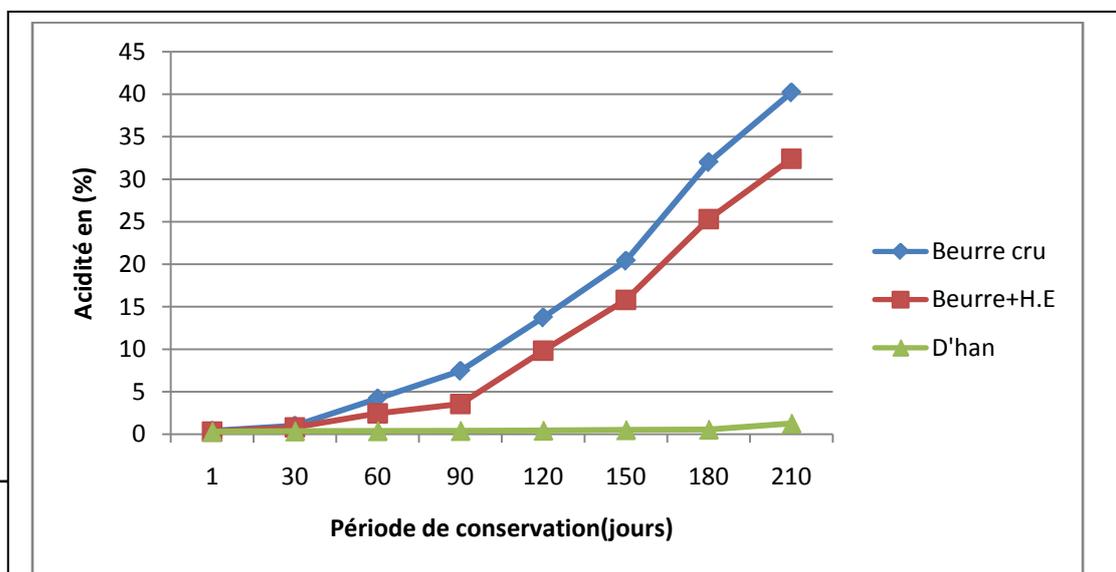
Produits	Beurre cru	Beurre + H.E	D'han
Germes recherchées			
Flore Aérobie Mésophile Totale	1,2. 10 <sup>2</sup>	80	20
Coliformes	20	10	00
Staphylocoques	0	0	0
Levures et moisissures	27	12	2

Les résultats obtenus montrent que le taux des coliformes dépasse la norme, Alors que, le nombre des Staphylocoques, levures et des moisissures est conforme aux normes préconisées.

### VIII-4- Evaluation de l'efficacité de la conservation par *Matricaria pubescens*(Desf.)

#### VIII-4-1-Acidité titrable

Les résultats montrent qu'au cours de la conservation, l'acidité augmente de ( 0,4 % à J<sub>1</sub>, pour le beurre cru, et 0,3% pour le beurre avec H.E, et d'han ) à 1 %, 0,8 %, et 0,35 % respectivement,. L'acidité augmente progressivement pour le beurre cru et beurre à H.E, et elle reste légèrement stable pour le d'han (**Figure 25**).L'acidité renseigne sur le niveau de la lipolyse dans le produit et l'activité microbienne, elle constitue un critère de qualité pour le beurre.

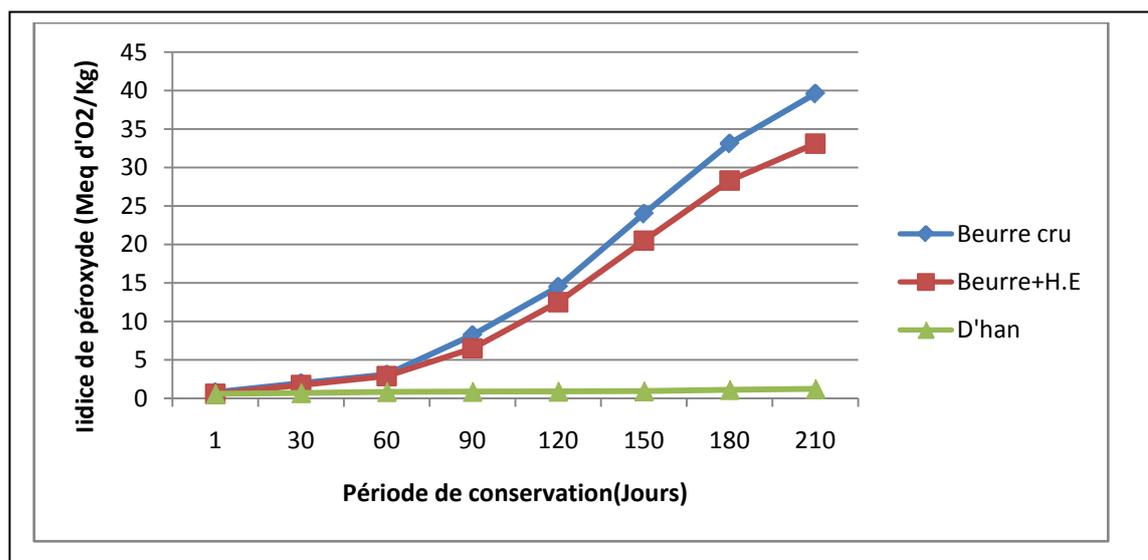


**Figure 25:** Evolution de l'acidité titrable en fonction du temps

L'intensité de l'hydrolyse de la matière grasse, exprimée en indice d'acide, est plus élevée d'un échantillon à l'autre. Cette augmentation est le témoin d'une forte lipolyse. En effet, au cours de l'évolution de la matière grasse en fonction de la durée de conservation, les acides gras à courte chaîne sont plus facilement libérés et l'acide butyrique est préférentiellement hydrolysé (El-Marrakchi A et al., 1986).

#### VIII-4-2-indice de peroxyde

L'indice de peroxyde varie de 0,6 à 0,8 meq/kg de matière grasse au 1<sup>ier</sup> jour pour les trois produits, il augmente légèrement après un mois de conservation (0,71 à 1,98 meq/kg ), puis il atteint la phase exponentiel après deux mois pour le beurre cru et le beurre à HE ;L'augmentation de cette indice pour le D'han reste moins intense comparativement aux deux produits précédents, elle est de 0,85 meq/kg au J<sub>60</sub>, et elle atteint la valeur maximale de 1,24 meq/kg à J<sub>210</sub>.



**Figure 26:** Evolution de l'indice de peroxyde en fonction du temps

Ces valeurs montrent que le d'han est un produit peu oxydé. En comparant les deux échantillons, nous remarquons, cependant, que le beurre est plus oxydé que le beurre avec H.E. Cette faible oxydation s'explique par les conditions de conservation du produit : entreposage à l'abri de l'air et de la lumière, aussi on indique que *Matricaria pubescens* a un effet d'antioxydant plus fort que son huile essentielle. Puisque l'autoxydation des acides gras insaturés (RH) procède une ensemble de réactions en chaîne aux quelles participent surtout les radicaux libres dans la matière gras fraîche :

-la période d'incubation ou il ya formation d'hydroxydes stables, le gout de la matière n'est pas altéré

-la période de l'oxydation active ou la formation des hydroperoxydes est accélérée.

-la période d'accélération des réactions secondaires, l'absorption de l'oxygène est rapide sans qu'il y ait augmentation de l'indice de peroxyde, le gout de la matière gras est fortement altéré et les trois périodes influencées les facteurs proxygènes (lumière, température) Cette faible oxydation s'explique par les conditions de conservation du produit : entreposage à l'abri de l'air et de la lumière, aussi on indique que *M. pubescens* a un effet d'antioxydant plus fort que son huile essentiel (Bornarel et al.,2005).

#### VIII-4-3-Flore aérobie mésophile totale

Les résultats de dénombrement de la flore aérobie mésophile totale sont présentés dans la figure 27, pour le beurre et ses dérivés. L'étude de l'activité microbienne montre que le taux en microorganismes est plus élevé pour le beurre traditionnel (nombres extrêmes des germes sont de  $2 \cdot 10^3$  à  $3 \cdot 10^7$  UFC / ml, de jour 1 jusqu'au 75 jours) que pour le beurre à HE ( $1,2 \cdot 10^3$  à  $1,1 \cdot 10^7$  UFC / ml, de jour 15 jusqu'au 90 jours) avec une stabilisation pour d'han ( $10^3$  à  $2,83 \cdot 10^3$  UFC / ml, de jour 15 jusqu'au 90 jours). Il est fréquemment admis que l'huile essentielle pourrait détruire les germes. Alors l'ajout de cette huile au beurre assurer une conservation acceptable, et l'ajout de la plante aromatique *M. pubescens*(Desf.) assure une meilleure conservation allongé la date limite de celui-ci (Bornarel, et al.,2005).

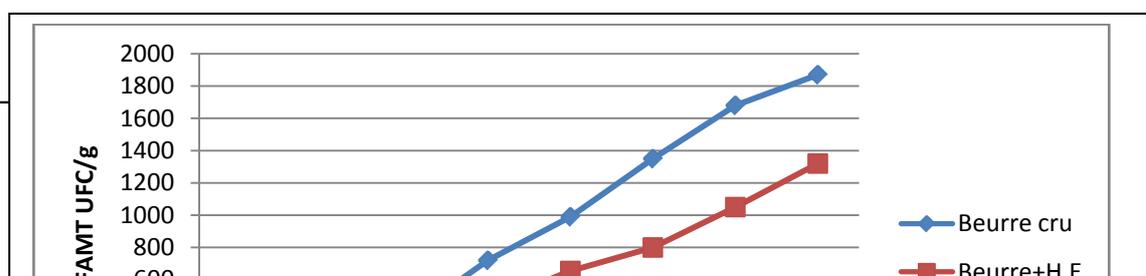
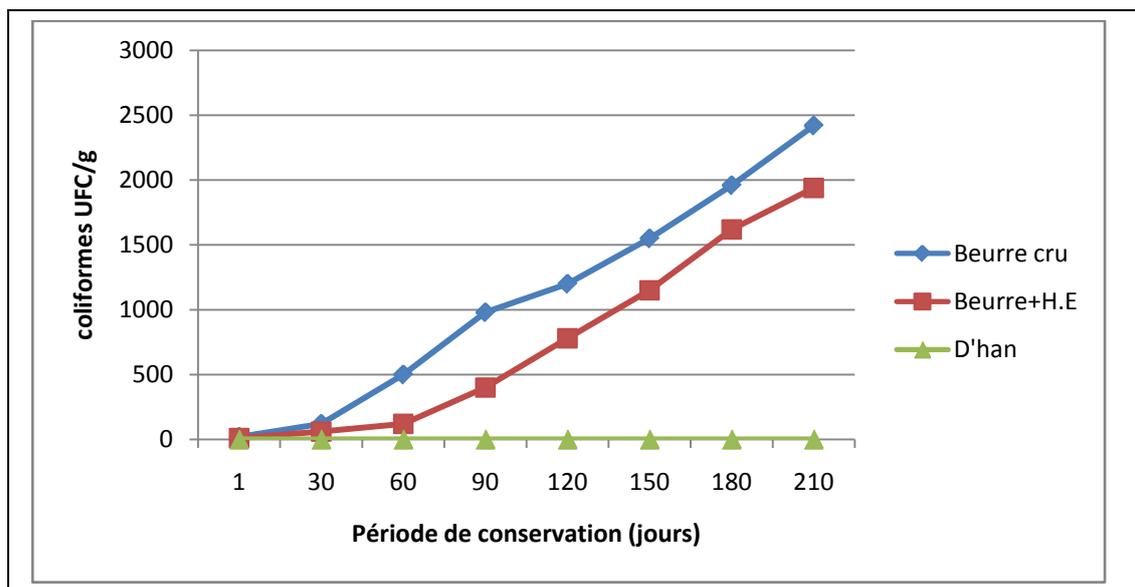


Figure 27: Evolution quantitative de FAMT au cours de conservation.

#### VIII-4-4-Coliformes

Les résultats de dénombrement des coliformes sont présentés dans la figure 28, pour le beurre et ses dérivés. Les coliformes ne peuvent survivre dans le d'han et la flore résiduelle trouvée n'est pas significative sur le plan hygiénique. La disparition des coliformes du d'han à la fin de la maturation et le nombre trop faible au cours de la conservation ( $10$  à  $60$  UFC / ml) , fait penser a un environnement défavorable à toute croissance microbienne et/ou même à une survie de la flore initiale du beurre ( $9. 10^2$  à  $2.10^7$  UFC / ml) avant sa transformation en d'han. Le nombre de ces germes pour beurre à HE est plus ou moins intermédiaire ( $2,3. 10^2$  à  $5,2.10^4$  UFC / ml).

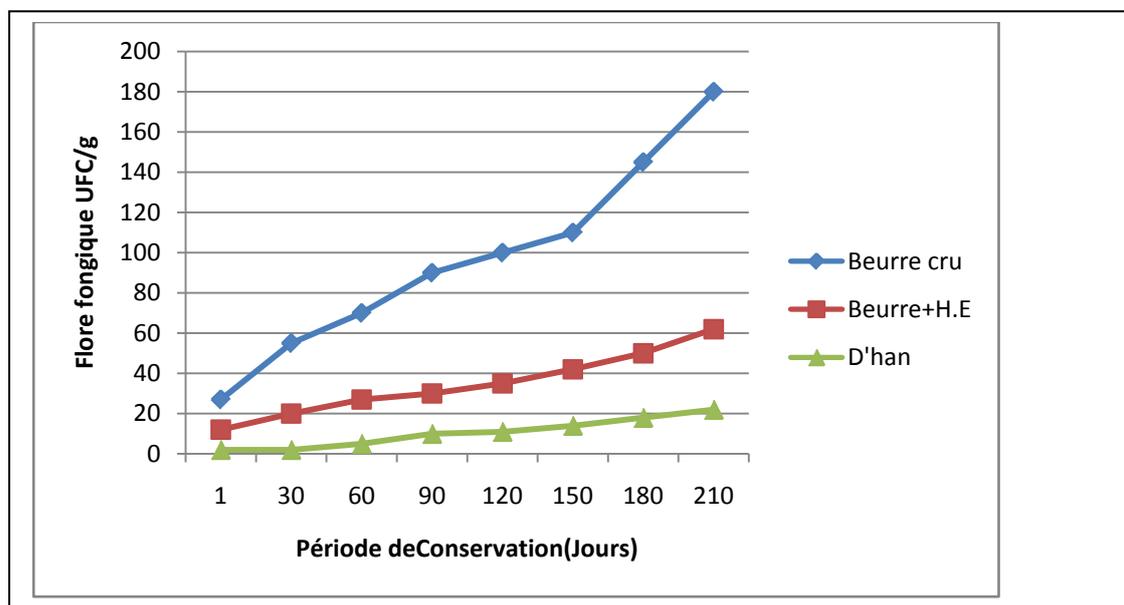


**Figure 28:** Evolution quantitative des coliformes au cours de conservation.

Au cours de la conservation, certains facteurs antimicrobiens s'établissent et agissent amplement sur l'évolution des coliformes qui sont été étudiés, une relation entre les facteurs physico-chimiques et le nombre faibles ou parfois négligeables de nombre des coliformes du d'han est démontrée. En effet, l'humidité, l'acidité, et la teneur en acides gras libres et la présence des peroxyde et la plante aromatique *M.pubescens* (Desf.) .Ce dernier contient des substances inhibitrices des microorganismes .ce environnement défavorable à la croissance et/ou à la survie de la flore initiale du d'han.

#### VIII-4-5-Les levures et moisissures

Les résultats de dénombrement la flore fongique sont présentés dans la figure 29, pour le beurre et ses dérivés. Les moisissures et les levures n'ont pas fait l'objet d'une numération mais leur présence est assez constante dans l'ensemble des prélèvements (Vanbreuseghem, 1966).



**Figure 29:** Evolution quantitative de la flore fongique au cours de conservation.

**VIII-5-Résultats des analyses sensorielles**

Afin de déterminer l'effet de l'addition du *M.pubescens* (Desf.) et/ou son H.E sur les paramètres organoleptiques, une analyse sensorielle est effectuée pour évaluer le niveau d'acceptation du Beurre après leur traitement (utilisation du *M.pubescens* (Desf.) et/ou son H.E) par les dégustateurs

**VIII-5-1-Résultat d'épreuve de notation sur la saveur**

Cette analyse est réalisée selon une échelle de notation de la saveur la plus intense vers la moins intense. D'après les résultats mentionnés dans le tableau 26, il semble que la saveur du beurre témoins est moins intense avec une notation de 2,15, suivi de l'échantillon B puis C. la saveur le plus intense est du à la dose 1% de la plante aromatique.

**Tableau 26 :** Résultat d'épreuve de notation sur la saveur

produit	Notes de dégustateurs										Somme des rangs
	Dégustateurs										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<b>A</b>	3	1	1	3	3	1	3	3	3	1	22
<b>B</b>	3	3	3	3	1	1	3	5	1	3	26
<b>C</b>	5	5	3	5	3	5	3	3	3	3	38
<b>ΣR</b>	11	9	7	11	7	7	9	11	7	7	86

0 pt= aucun.

1 pt= faiblement intense.

3 pt= moyennement intense.

5 pt= fortement intense.

**VIII-5-2-Résultat d'épreuve de notation sur l'odeur**

On se qui concerne l'odeur, en observant la valeur qui montrent la présence des composés volatiles, ces derniers ont permis déterminer l'odeur du beurre. D'après les résultats mentionnés dans le tableau 27, il semble que l'odeur du beurre témoins est moins intense avec une notation de 3,05, suivi de l'échantillon B puis C.

**Tableau 27 :** Résultat d'épreuve de notation sur l'odeur

produit	Notes de dégustateurs										Somme des rangs
	Dégustateurs										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<b>A</b>	3	1	0	3	3	3	3	3	3	1	23
<b>B</b>	5	3	5	1	3	3	3	5	3	3	33
<b>C</b>	5	5	3	5	3	3	3	5	5	5	42
<b>ΣR</b>	13	9	8	9	9	9	9	13	11	9	98

0 pt= aucun.

1 pt= faiblement intense.

3 pt= moyennement intense.

5 pt= fortement intense.

**VIII-5-3-Résultat d'épreuve de notation sur l'arome**

Pour l'arôme, en observant les chiffres qui montrent la présence des composés aromatiques. D'après les résultats mentionnés dans le tableau 28, il semble que l'arôme du beurre témoins est moins intense avec une notation de 2,05, suivi de l'échantillon B de 2,6 puis C de 4,2.

**Tableau 28 :** Résultat d'épreuve de notation sur l'arome

produit	Notes de dégustateurs	Somme des rangs
---------	-----------------------	-----------------

	Dégustateurs										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<b>A</b>	1	1	1	3	3	1	0	3	0	1	22
<b>B</b>	3	3	0	3	3	1	1	3	1	1	26
<b>C</b>	5	3	3	5	5	3	3	3	3	3	38
<b>ΣR</b>	11	9	7	11	7	7	9	11	7	7	86

0 pt= aucun.

1 pt= faiblement intense.

3 pt= moyennement intense.

5 pt= fortement intense.

Cette analyse est réalisée selon une échelle de classement du couleur de 1<sup>ère</sup> classe vers la 3<sup>ème</sup>. D'après les résultats mentionnés dans le tableau 29, il semble que la couleur du beurre à H.E est classé en premier lieu avec un moyen de rang de 11, suivi de l'échantillon C, puis A.

**Tableau 29 :** Résultat d'épreuve de classement sur la couleur.

Echantillons	Classement			Somme des Rangs	Moyenne des Rangs
	1 <sup>ère</sup>	2 <sup>ème</sup>	3 <sup>ème</sup>		
<b>A</b>	1	9	10	49	16,66
<b>B</b>	10	7	3	33	11
<b>C</b>	5	10	5	40	13,33

A : beurre témoin

B : beurre à huile essentielle

C : D'han.

VIII-5-4-Résultat d'épreuve de l'impression globale

Cette analyse est réalisée selon une échelle de notes ont des devisions de 5 à 10. On utilise l'échelle de cinq points de notation de l'impression globale de l'échantillon, le très bon vers le mauvais. D'après les résultats mentionnés dans le tableau 30, il semble que l'impression globale de l'échantillon A est très bon, suivie de l'impression bonne pour l'échantillon B, et enfin on constate une acceptabilité concernant l'échantillon C.

Tableau 30 : Résultat d'épreuve de notation sur l'impression globale

Echantillons	Notation					Somme des Rangs	Moyenne des Rangs
	5 pt	4 pt	3 pt	2 pt	1 pt		
<b>A</b>	15	4	1	0	0	94	18,8
<b>B</b>	6	12	2	0	0	84	16,8
<b>C</b>	1	1	18	0	0	63	12,6

5 point: Très bon

A : beurre

4 point: Bon.

B : beurre à huile essentielle

3 point: Acceptable.

C : D'han.

2 point: Médiocre.

1 point: Mauvais



ans le cadre de la valorisation des ressources végétales et animales dans les zones arides et plus particulièrement dans la région de Béchar. Ce travail s'intéresse à la valorisation de deux produits alimentaires ((deux variétés de dattes et beurre des chèvres) et deux plantes médicinales (*Romarinus officinalis* L. et *Matricaria pubescens* Desf.), par l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique des ces deux produits ; ainsi que l'activité antimicrobienne et antioxydante de ces deux plantes.

Parallèlement à cette étude, un criblage phytochimique a été effectué pour ces deux espèces, et un essai de conserver ces deux produits par ces deux plantes a montré la présence des flavonoïdes, tannins, saponosides, stéroïdes et terpènes ; absence des alcaloïdes, polyuronides et les anthocyanosides.

La caractérisation d'une huile essentielle est une opération indispensable lorsqu'on souhaite la contrôler, la commercialiser, ou mettre en évidence son éventuelle spécificité. En effet, l'étude des caractéristiques physicochimiques de *Romarinus officinalis* L. a présenté une activité contre la majorité des souches bactériennes testées, sauf *Pseudomonas aeruginosa*, la bonne activité a été enregistrée contre *Enterococcus faecalis* (29,5 mm). En plus, *Matricaria pubescens* Desf. a témoigné une bonne activité antifongique comparativement au Romarin. *Penicillium escpansum* est la souche la plus sensible avec diamètre d'inhibition de 43,3 mm avec l'H.E de *Matricaria pubescens* Desf.

L'activité antibactérienne d'H.E de *R. officinalis* L. est meilleure comparativement à celle de *Matricaria pubescens* Desf, avec une zone d'inhibition maximale de 51 mm pour *E. faecalis* avec l'H.E de *R.officinalis* L et 18 mm pour *E. coli* avec l'H.E de *M. pubescens* Desf.

En outre, l'H.E de *M. pubescens* Desf. exerce une activité antifongique remarquable. Cette activité est plus importante que celle de *R. officinalis* L. *p. escpansum* (1) est la souche la plus sensible avec diamètre d'inhibition de 43,3mm.

La méthode de contact directe montre que ces huiles essentielles affectent la croissance de la majorité des souches testées, les souches fongiques sont les plus sensibles avec des CMI supérieurs à 1/500 ; alors que les bactéries sont moins sensibles avec la résistance de *S. aureus* et *B. cereus* pour les deux H.E.

Pour les extraits : méthanolique éthanolique et aqueux des deux plantes, l'activité antimicrobienne est variable d'une souche à une autre, cela est dû à la variabilité de la composition chimique de chaque extrait.

L'extrait méthanolique de *R.officinalis* L a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis les souches testées. Ainsi, *E. coli* s'est montré le plus sensible, avec un diamètre de 34 mm, il a été inhibé à partir de la concentration minimale de 0,5 mg/ml.

Pour *M. pubescens* Desf., une efficacité de l'extrait éthanolique est observée contre *E. feacalis* et *L.monocytogenes* avec des zones d'inhibitions variant entre 31 mm et 33 mm respectivement. Les deux souches ont été inhibées à partir de la même concentration (CMI=1,33 mg/ml), à l'exception de *P.aeruginosa* qui a manifesté une résistance jusqu'à la concentration de 2,33 mg/ml.

Pour l'activité antioxydante, les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti)radicalaire, révèlent que l'HE et tous les extraits testés ainsi que l'acide ascorbique pris comme référence sont des anti-radicalaires. L'extrait éthanolique du *matricaria* a présenté l'activité anti-radicalaire, la plus élevée (94,55%), suivie par l'extrait méthanolique du romarin (92,11%) et en dernier l'H.E de *M. pubescens* Desf (74,06%) et du romarin (73,98). Ces deux derniers ne présentent pas une différence significative dans leur activité.

En outre, nous apportons notre contribution à la caractérisation physicochimique et microbiologique des deux variétés des dattes (Feggous et Cherka), et le beurre des chèvres de la région de Bechar, avec un essai de conserver le beurre par *M. pubescens* Desf et son H.E, et les dattes avec le Romarin et/ou son H.E.

Pour les dattes, selon les résultats des paramètres physicochimiques, on peut classer les deux variétés comme étant des dattes de bonne qualité ; avec une teneur

en eau qui varie entre 21,9% et 24,4%; un pH de 5,9 et 6,4; un taux de cendre de 1,69% et 1,72%. En plus, les deux variétés sont riches en sucres totaux 74%, 70%; par contre elles sont pauvres en protéines (5,36% et 5,95%) et en lipides (0,1%, 0,15%).

Les analyses microbiologiques montrent l'existence d'une FAMT: (1900 UFC/g pour Feggous et 700UFC/g pour Cherka), une flore fongique (260 UFC/g pour Feggous) et (50UFC/g pour Cherka) ainsi que les coliformes (40UFC/g pour Cherka).

L'addition de *R. officinalis* L et son H.E améliore la qualité organoleptique des dattes, en sauvegardant leur qualité nutritionnelle et physicochimique. Ces résultats laissent prévoir un avenir prometteur de l'utilisation de *R. officinalis* L. dans l'industrie alimentaire.

Pour le beurre, les analyses physico-chimiques ont montré que ce produit renferme une teneur en eau de 21,22%; une acidité 2,48%; un indice de peroxyde de 1,05 méq/kg. En plus, le beurre riches en MG 97%; par contre il est pauvre en protéines (1.2%) et en sucres (0.90%).

Les analyses microbiologiques montrent la présence de la FAMT (2. 10<sup>3</sup> UFC/g), les coliformes (10<sup>2</sup> UFC/g), une flore fongique de 30 UFC/g et l'absence de germes pathogènes.

L'ajout de *M. pubescens* Desf ou sont H. E influe considérablement sur la diminution de la charge microbienne, cela est dû à leur activité antimicrobienne, ainsi que la stabilité des paramètres physicochimique est due au propriété antioxydante de cette plante. L'efficacité de la conservation du beurre cru par *M. pubescens* Desf est meilleur comparativement à son H.E.

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. Ainsi, leurs utilisation à très faibles doses est envisageable, en raison de leurs grande efficacité. L'utilisation des plantes aromatiques est donc le compromis entre le goût, fraîcheur, équilibre nutritionnel et prix.

Il serait souhaitable de :

- Mettre en valeur d'autres variétés des dattes locales par d'autres études, et la recherche de performance de cette méthode de conservation en introduisant d'autres paramètres ;
- Analyse de la composition chimique des huiles essentielles étudiées, par CPG/SM ;
- Faire un fractionnement de ces huiles pour savoir les molécules responsables de cette activité ;
- Elargir la gamme des souches microbiennes.

---

## BIBLIOGRAPHIE

- Abdelfettah M., (2003).** Rapport National sur les Ressources Génétiques Animales: Algérie, commission nationale anGR. Octobre (2003), 46 pages.
- Aboutayeb, R., 2009.**Technologie de fabrication du beurre. En ligne:
- Acourene S et Tama M, (1997).** Caractérisation physicochimiques des principaux cultivars de dattes de la région de Ziban. Revue Recherche Agronomique. INRAA Algérie .Vol 1.P 59-66
- Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A., Dauvillier, P.,( 1998).** Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaire. Ed .Tec& Doc Lavoisier, Paris, p.50, 51,254.
- AFNOR ,( 1992).** Recueil des normes françaises ; huiles essentielles :
- AFNOR, (1984)** Recueil de normes françaises d'agro-alimentaire, analyse sensorielle. 1<sup>ère</sup> édition, Paris,: pp 159.
- AGORAL, 1997.** La conservation des aliments Neuvièmes rencontres scientifiques et technologiques des industries alimentaires, Nancy. Éd. Tec& Doc Lavoisier, Paris,p.268, 269.
- AL-SEREITIA M. R., ABU-AMERB K. M., SENA P, (1999).** Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. Indian Journal of Experimental Biology; 37 : 124-131.
- Amarti, F. (2009).**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
- Amellal, H., (2007).** Aptitudes Technologiques de quelques variétés communes de dattes : Formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse de Doctorat, Université M'Hamed Bougara, Boumerdes, p.64.
- Angers, P., 2002.**Chapitre 5: beurre et fractions de matière grasse laitière. In: Vignola Carole-L., Science et technologie du lait: Transformation du lait, Ed. Presse internationales polytechnique, Montréal, p. 325,327.

- Atik bekkara F, Bousmaha L, Taleb bendiab S.A., Boti J.B., Casanova J, (2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *J Biologie & Santé* vol. 7, n° 1,
- Avalos De La Cruz, D. A., (2007).**Faisabilité de la production au Mexique de fromages des chèvres additionnés de piment: aspects technologiques, sensorielles, sanitaires et économiques. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, p. 23.
- BENHOUBOU S., SAADOUN N(1986).** Contribution à l'étude de la flore de la région de Beni-Abbes. Mémoire D.E.S. en Biologie végétale. Président de jury : Mme **N. BOUNAGA.** Université Houari Boumediene, Alger, (1986) : 240 pp + annexes.
- BENINCA J. P., DALMARCO J. B., PIZZOLATTI M. G., FRÖDE T. S.** Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice. *Food Chemistry* (2010) ; 124 : 468-475.
- Benkiki, N., 2006.** Etude phytochimique des plantes médicinales algérienne. *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse de Doctorat, Université Al-Hadj Lakhdar Batena, p. 112, 116, 117, 119, 123, 124, 133.
- Bourgeois C,M, Mescle J ,F,Zucca J,(1996).** Microbiologie alimentaire, tome 1.Aspect microbiologique de la sécurité et la qualité alimentaire. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France.
- BOURGOIS C. F(2003).** Utilisation technologique des vitamines comme antioxygènes. In : **BOURGOIS C. F.** Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Collection Sciences et techniques agroalimentaires. Tec & Doc, Paris, (2003) : 411-417.
- BOURKHISS M., HNACH M., BOURKHISS B., OUHSSINE M., CHAOUCH A., SATRANI B(2009).** Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Productions végétales. Agrosolutions* (2009) ; 20 (1) : 44-48.
- Bouzouita, N et al. (2008).** Composition chimique et activités antioxydants, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phœnicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10, 119-125.
- Bruneton J, (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition. Édition Tec et Doc .Paris, France, 3

- Bruneton J, (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – Techniques et documentations, 3ème Edition, Lavoisier, (1999), 1120 pages.
- Buelguedj M, (2001).** Caractéristiques des cultivars de dattes dans les palmeraies du sud-Est
- Caillet, S., Lacroix, M., (2007).** Les Huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leur applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de recherche en sciences appliquées à l'Alimentation (RESALA). INRS-Institut Armand-Frappier, p.6-8.
- Centre for Mediterranean Cooperation, International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, 2005.** A Guide to Medicinal Plants in North Africa. Ed. IUCN. Malaga, p .7.
- Chaibi N,(2002).** Potentialités androgénétiques du palmier dattier *Phoenix dactylifera L* et culture in vitro d'anthères. Biotechnol Agron Soc Environ.6(4).201-207
- CHIBANE H.** Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes : formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse de Doctorat en Génie Alimentaire. Université de Boumerdes, (2008) : 154 pp + annexes.
- COSSUT J., DEFRENNE B., DESMEDT C., FERROUL S., GARNET S., ROELSTRAETE L., VANUXEEM M., VIDAL D., HUMBERT S. (2002).** Les Corps Gras : Entre Tradition et Modernité. Projet réalisé dans le cadre du DESS QUALIMAPA (Gestion de la Qualité Nutritionnelle et Marketing des Produits Alimentaires). Institut Agro-Alimentaire de Lille, Université des Sciences et Technologies de Lille, Institut d'Administration des Entreprises de Lille (2002) :11, 12, 14, 64,110.
- De Billerbeck, G.(2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Springer .Phytothérapie ,5: 249–253.
- Delille L , (2007).** les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger,122
- Diallo A., ,(2005).** Etude de La phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* WILLD.(Myrtaceae), Thèse pour obtenir le grade de Docteur en pharmacie (Diplôme d'état) Université De Bamako,,92pp+annexes.
- Djerbi, M. (1994).** Précis de phoéniculture. FAO, pp 192.

- Eberhard T, Robert A, Annelise L,(2005.)** Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France.
- EL RHAFFARI L., ZAID A,(2002).** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. In : Cabalion P. Des sources du savoir aux médicaments du future : actes du 4<sup>ème</sup> congrès européen d'ethnopharmacologie, Paris, (2002) : 293-318.
- ELMarrakchi, A., Berrada, M., Chahboun, M., Benbouhou, M.,( 1986).** Etude chimique du smen marocain. Département d'Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale (HIDA OA), Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, B.P. 6202-Rabat-Instituts, Maroc. Section de Technologie alimentaire du même Institut. Le Lait, 66 (2) 117-120.
- Eva de Rijke,Frans de Kanter, Freek Ariese, Udo A et Cees Gooijer,2004.**Liquid chromatography coupled to nuclear magnetic resonance spectroscopy for identification of isoflavone glycoside malonate in *T.pratense* L leaves. *J.sep.sci*,1061-1070.
- Forgac P. Jacquemin H, Moretti C, Provos J et Touche A, 1983.** Études phytochimiques et activité biologiques de 18 plantes de la Guyane française. *Plantes médicinales et phytothérapie, Tome XVII, n I, 22-32*
- FRENOT M., VIERLING E.** Biochimie des aliments, Diététique du sujet bien portant. 2<sup>ème</sup> édition, Sciences des aliments, DOIN, Aquitaine, (2001) : pp 301.
- Garnero J., (1991)** les huiles essentielles, leurs obtention, leurs composition, leur analyse et leur normalisation. Editions techniques-encyclopidie des médecines naturelles.(paris, France), Phytothérapie, Aromathérapie, (1991), C-2,pp, 2-20.
- Giordani R. Kaloustian J,2006.** Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques *J Phytotherapie* (2006) Numéro 3,121-124
- GOWEN A.A., ABU-GHANNAM N., FRIAS J., OLIVEIRA J.** Modeling dehydration and rehydration of cooked soybeans subjected to combined microwave-hot-air drying. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* (2008) ; 9 : 129-137.

- Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques, 2002.** Transformer les produits laitiers frais à la ferme, éd. Educargri, p. 103, 104, 105,109.
- Guenther E.,(1972), in Bekhechi B.C. ,** Analyse de l'huile essentielle d'*ammoïdes verticullata* (Nûnkha) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien, Mémoire de Magistère en biologie moléculaire et cellulaire, universitaire de Tlemcen(UT),(2002),98pp+annexes.
- GUERREIRO M., AMARAL M. T., PROENÇA da CUNHA A.** Effects of rosemary extracts on lipid oxidation. In: Polyphenols 94, 17<sup>th</sup> International Conference on Polyphenols, Palma de Mallorca (Spain), May 23-27, 1994. INRA, Paris, (1995) (Les Colloques, n°69) : 393-394.
- Guignard J L, (1994).** Abrégé botanique, 9<sup>eme</sup> édition. Édition Masson, Paris.204
- Guignard J L, Cossen L, Henry M,(1985).** Abrégé de phytochimie, édition Masson, Paris
- Guiraud J.P, (2003).** Microbiologie alimentaire. Édition DUNOD Paris France. pp 431,652.
- Guy G, (1997).** Les plantes à parfum et huiles essentielles à Grasse. Édition L'Harmattan paris
- Hammiche V, Maiza K ,2006.** Traditional medicine in Central Sahara : Pharmacopoeia of tassili N'ajjer. *J Ethnopharmacology* 105.358-367
- HOPKINS W.G.** Physiologie végétale. De Boeck, (2003) : pp 532.
- Inouye S., Abe S, 2007.** Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse. Phytothérapie Numéro 1: 2-4
- Iqbal A., Farrukh A. et Mohammad O.,** Modern Phytomedicine, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim,(2006), pp 384.
- Iserin P, Masson M et Restellini J P,2007.** Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed Larousse, pp14
- Iserin, P, 2001 .** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse, pp10,335.
- JEANTET R., CROGUENNEC T., SCHUCK P., BRULE G.** Science des aliments, *Biochimie, Microbiologie, Procédés, produits*. Vol 2, Technologie des produits alimentaires, TEC & DOC, Paris, (2007) : pp 456.

- Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., Mahaut, M., Brulé, G., 2008.** Les produits laitiers. 2 éditions, Éd. Tec& Doc Lavoisier, Paris, p. 75.
- Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., Brulé, G., 2007.** Science des aliments: tome 2, technologie des produits alimentaires. Ed. Tec& Doc Lavoisier. Paris, p.58, 59.
- Judd Walter S, Campbell Christopher S, Kellogg Elizabeth A, Stevens Peter, 2002.** Botanique Systématique, une perspective phylogénétique. Edition De Boeck Université ,84-87 ,396-399
- Juhas, S; Bukovska, A; Cikos, S et al. (2009).** Anti-inflammatory effects of *Rosmarinus officinalis* essential oil in Mice. Acta. vet 78: 121–127.
- Kanafani-Zahar, A., 1994.** Mûne: La conservation alimentaire traditionnelle au Liban, éd. Maisons des sciences de l'homme, Paris, p. 32, 45.
- Koba K, Sanda K , Raynaud C, Nenonene Y. A, Millet J , Chaumont J.P, 2004.** Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp africains vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie. Ann. Méd. Vét, 148, 202-206
- Koubissi H; 2002.** Dictionnaire des herbes et des plantes médicinales. Édition Daar el kooub el Elmia Bierut, Liban, 82
- Lachowicz K.J., Jones G.P., Briggs D.R., Bienvenu F.E., Wan J., Wilcock A.**
- LACROIX M.** (2005). Utilisation d'extraits d'épices et d'enrobages naturels pour préserver la qualité des aliments transformés. Laboratoires de recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation, INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec. [Online]. Available from URL : [http://www.laborresala.com/ateliers/070420\\_Lacroix\\_Monique.ppt](http://www.laborresala.com/ateliers/070420_Lacroix_Monique.ppt). (Accessed in September 2010).
- LAROUSSE.** Encyclopédie des Plantes Médicinales- *Identification, préparations, soins.* LAROUSSE, Paris, (2001) : pp 335.
- Latif Gachkar a, Davood Yadegari a, Mohammad Bagher Rezaei b, Masood Taghizadeh c, Shakiba Alipour Astaneh c, Iraj Rasooli , 2007.** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chemistry 102 898–904

- Le Quellec, J. L., Tréal, C., Ruiz, J. M., 2006.** Maisons du Sahara: habiter le désert, éd. Hazan, Paris, p.180.
- Maceij Stobiecki, 2000.** Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides, *Phytochemistry*. 237-256
- MAIZA K., BRAC DE LA PERRIERE R.A., HAMMICHE V(1993).** Pharmacopée traditionnelle saharienne: Sahara septentrional. Médicaments et aliments: l'approche ethnopharmacologique. Actes du 2<sup>ème</sup> Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11<sup>ème</sup> Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg, 24-27 mars 1993, 169-171.
- Mokhtari A, Brahimi K, Benziada R,2008.** Architecture et confort thermique dans les zones arides.Application au cas de la ville de Bechar; *Revue des énergies renouvelables* .Vol 11,N°2 ,307-315
- Munier, P. (1973).** Le palmier dattier. Ed. Maisonneuve, Paris, pp221.
- Norme Algérienne.273, 1990.** Corps gras d'origines animales et végétale: détermination de l'acidité titrable.
- Norme Algérienne.274, 1990.** Corps gras d'origines animales et végétales: détermination de l'indice de peroxyde.
- Orth G., Sansonetti P.,** la maîtrise des maladies infectieuses un défi de santé publique,une ambition médicocientifique EDP Académie des Sciences Editions , France, (2006),440 pages.
- Ould el hadj M. D, Hadj-Mahammed M., Zabeirou H, 2003.** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla. *Courrier du Savoir – N°03*, Janvier 2003, 47-51
- Ouraini D, Agoumi A , Ismaïli-Alaoui M , Alaoui K, Cherrah Y, Amrani M, Belabbas M A,2005.** Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes, *J Phytothérapie* Numéro 4: 147-157
- Ozenda P, 2004.** Flore et végétation du Sahara. Troisième édition. CNRS édition.750005 Paris, 92,438,662.

**PRIOR E.** Usage des corps gras alimentaires dans les différents secteurs de la technologie alimentaire. In : **GRAILLE J.** Lipides et corps gras alimentaires. (Collection Sciences & Techniques Agroalimentaires), Editions TEC & DOC, LAVOISIER, Paris, (2003) : 146-187.

qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des Zibans. Revue Recherche Agronomique, N° 8. Ed. INRAA, 19-39.

**QUEZEL P., SANTA S(1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, CNRS, Paris, (1963) : pp 600.

**ROUX D., CATIER O(2007).** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3<sup>ème</sup> édition, Wolters Kluwer, (2007) : pp 141.

**Vergne, E., Perrier-Robert A., Burgaud, D., 2002.** Recettes originales du marché. Ed. Artémis, p.383.

**Vierling, E., 2003.** 3<sup>è</sup> édition .Chapitre X les corps gras. In: Aliments et boissons : Filières et produits, ed.Doin, p.191, 192.

**Vierling, E., 2004.** 2<sup>è</sup> édition. Chapitre VII: la conservation des aliments. In: Aliments et boissons: Technologies et aspects réglementaires. Éd. Doin, p.95, 98.

**Watts, B.M., Ylimaki, G.L., Jeffery, L.E., Elias, L.G., 1991.** Méthodes de base pour l'évaluation sensorielle des aliments. Centre de recherches pour le développement international, p.83.

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

**YESIL CELIKTAS O., BEDIR E., VARDAR SUKAN F.** In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. Food Chemistry (2007 a); 101 : 1457-1464.

## Tests phytochimiques :

(Karumi *et al.*, 2004 ; Benmehdi, 2000 ; Edeoga *et al.*, 2005 ; Haddouchi, 2007)

### I. Extraction par l'eau :

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigèrent, On met 50 g de poudre de la plante dans un volume de 300 ml d'eau distillée; et on porte l'ensemble à reflux pendant 1h. Après refroidissement, on filtre le mélange et le soumettre aux différents tests suivants.

**Réactif d'Amidon** : 1,2 g d'I<sub>2</sub> et 2,5 g de KI solubilisés dans 500 ml d'eau distillée.

#### a) **Caractérisation d'amidon** :

On ajout 10 ml de solution d'NaCl saturée avec 5 ml d'extrait aqueux, on traite la solution avec le réactif d'Amidon. L'apparition d'une coloration bleue-violacée indique la présence d'amidon.

#### b) **Caractérisation des composés réducteurs** :

**Test 1** : on traite 2 ml de la solution aqueuse avec 5 à 8 gouttes de liqueur de Fehling, après un chauffage, l'apparition d'un précipité rouge brique marque la présence des hydrates de carbones.

**Test 2** : Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani. A 1 ml de chaque extrait on ajoute 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl<sub>3</sub> et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de FeCl<sub>3</sub>. La présence des composés réducteurs est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique).

#### c) **Caractérisation des saponosides** :

5 ml d'extraits aqueux est agité vigoureusement dans le sens de la longueur avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 mn. La formation d'une mousse persistante après 15 minutes confirme la présence des saponosides.

#### ➤ **Calcul d'indice de mousse** :

Dans une série de 6 tubes à essai (1,3 cm de diamètre interne), on introduit successivement 1 à 6 ml de solution testée et on complète les volumes jusqu'à 10 ml avec de l'eau distillée ; après on agite dans le sens de longueur pendant 15 secondes.

Après un repos de 15 minutes, la hauteur de la mousse est mesurée. Dans les tubes ayant une hauteur de mousse plus de 1 cm, l'indice de mousse est calculé par la formule suivante :

$$I_{\text{mousse}} = \text{hauteur de mousse} \times 5 / 0,0x.$$

**d) Caractérisation des tanins :**

À 1 ml de la solution testée, on ajoute 1 ml d'eau distillée et on traite la solution avec 1 à 2 gouttes de solution de  $\text{FeCl}_3$  (1%).

Après quelques minutes l'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-verte avec un précipité indique la présence des tanins.

**e) Caractérisation des alcaloïdes :**

On neutralise 15 ml d'extrait aqueux avec le  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%) jusqu'à pH=9, ensuite on extrait la solution avec 3x10 ml de chloroforme et on lave la solution chloroformique avec 3x2 ml d'HCl (10%);

Après, la solution aqueuse est traitée avec le réactif de Mayer et de Wagner, dont lequel : La formation d'un précipité jaune avec le réactif de Mayer ou la formation d'un précipité brun avec le réactif de Wagner indique la présence des alcalo.

**f) Caractérisation des acides gras :**

On acidifie la solution aqueuse alcaline, puis on l'extrait avec l'éther diéthylique, après on concentre la solution étherique à sec. Le test positif est révélé par l'obtention d'un résidu gras.

**II. Extraction par l'éthanol :**

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigèrent, On met 50 g de poudre de la plante dans un volume de 300 ml l'éthanol (95%); et on porte l'ensemble à reflux pendant 1h. Après refroidissement, on filtre le mélange et le soumette aux différents tests suivants.

**a) Caractérisation des alcaloïdes :**

On évapore 20 ml de solution éthanolique à sec jusqu'à l'obtention d'un résidu, on le dissout ensuite avec 5 ml d'HCl (2N) et on le chauffe dans un bain marie, puis on filtre le mélange et le divise en trois parties égaux, on traite un avec le réactif de Wagner et l'autre avec le réactif de Mayer et laisser le troisième comme témoin. La présence des alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité jaune avec le réactif de Mayer et par la formation d'un précipité brun avec le réactif de Wagner.

**b) Caractérisation des flavonoïdes :**

On traite 5 ml d'extrait alcoolique avec quelques gouttes d'HCl concentré et 0.5 g de tournure de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge après trois minutes indique la présence des flavonoïdes.

**c) Caractérisation des tanins :**

On prend 1 ml de la solution alcoolique et on ajoute 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de  $\text{FeCl}_3$  diluée. Un test positif est marqué par l'apparition d'une coloration bleu-noire, verte ou bleu-verte et un précipité.

**d) Caractérisation des composés réducteurs :**

On traite 1 ml de l'extrait alcoolique avec 2 ml d'eau distillée, puis on ajoute 20 gouttes de liqueur de Fehling et on chauffe le mélange. Un test positif se traduit par la formation d'un précipité rouge-brique.

**e) Caractérisation des anthracénosides :**

On prend 25 ml de l'extrait éthanolique et on ajoute 15 ml d'HCl 10%, puis on le porte à reflux pendant 30 mn. Après refroidissement, on extrait la solution 3 fois avec 15 ml d'éther diéthylique afin d'obtenir deux phases, aqueuse et étherique.

Le test de la présence des anthracénosides est basé sur la réaction de Borntrager. Dans le quel on évapore 8 ml de la phase étherique et récupérer le résidu avec 2 ml d'eau chaude, on ajoute quelques gouttes d' $\text{NH}_4\text{OH}$  à 10%. Le test considéré positif par l'apparition d'une coloration rouge orangée.

**f) Caractérisation des anthocyanosides :**

On extrait la solution alcoolique avec l'eau et on dose la phase aqueuse obtenu avec le NaOH. Un virage de couleur à pH différent indique la présence des anthocyanosides

(l'apparition d'une couleur rouge à  $\text{pH} < 3$  et bleu entre 4 et 6, caractérise les anthocyanosides).

**g) Caractérisation des terpènes et stéroïdes :**

**Test 1 :** On évaporer 10 ml d'extrait éthanolique et traite le résidu obtenu avec 10 ml de chloroforme anhydride. Ensuite, on mélange 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydride acétique. Après l'ajout de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, on l'agite puis la laisse reposer. L'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert confirme la présence des hétérosides stéroïdiques.

**Test 2 :** 5 ml d'extrait est mélangé avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpène hétérosidique.

**III. Extraction par l'éther diéthylique:**

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigèrent, On met 50 g de poudre de la plante dans un volume de 300 ml d'éther diéthylique; et on porte l'ensemble à reflux pendant 1h. Après refroidissement, on filtre le mélange et le soumettre aux différents tests suivants.

**a) Caractérisation des alcaloïdes :**

On évapore 10 ml de la solution étherique et dissout le résidu obtenu dans 1.5 ml de HCl (2%), la formation d'un précipité blanc jaunâtre après l'ajout de 1 à 2 gouttes de réactif de Mayer à la solution aqueuse indique la présence des alcaloïdes bases.

**b) Caractérisation des emodols :**

On évapore 3 ml de l'extrait étherique et on ajoute 1 ml d' $\text{NH}_4\text{OH}$  concentré. L'apparition d'une teinte vive variant de l'orangé rouge au violet pourpre, indique la présence des emodols.

**c) Caractérisation des huiles volatiles :**

On évapore 20 ml de solution étherique et dissout le résidu obtenu dans l'éthanol, puis on concentre la solution éthanolique à sec. Le test est positif lorsqu'on obtenir un résidu aromatique.

#### **IV. Extraction par l'éther de pétrole:**

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigèrent, On met 5 g de poudre de la plante dans un volume de 30 ml d'éther de pétrole; et on porte l'ensemble à reflux pendant 1h. Après refroidissement, on filtre le mélange et le soumettre aux différents tests suivants.

##### **a) Caractérisation des stérols et triterpènes :**

On évapore 10 ml de l'extrait étherique et dissout le résidu dans 0.5 ml d'anhydride acétique et 0.5 ml de chloroforme, puis on ajoute 2 ml d'acide sulfurique concentré. Un anneau rouge brun ou violet dans la zone de contact avec le surnageant ou une coloration violette indique la présence des stérols et triterpènes.

##### **b) Caractérisation des polyuronides :**

Dans un tube à essai on met 10 ml d'éthanol et on ajoute goutte à goutte 2 ml d'extrait étherique. L'apparition d'un précipité violet ou bleu indique la présence d'un mucilage.

#### **V. Macération par l'éther de pétrole :**

Dans un tube, on met 1 g de matériel végétal broyé avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. On agite le mélange et le laisse reposer pendant 24 h. on filtre le mélange et le soumettre au test suivant.

##### **a) Caractérisation des quinones libres :**

On concentre l'extrait à sec et on ajoute quelques gouttes de NaOH (1/10). La présence des quinones libres est confirmée par un virage de couleur de la phase aqueuse au jaune, rouge ou violet.

#### **VI. Extraction par le chloroforme:**

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigèrent, On met 5 g de poudre de la plante dans un volume de 30 ml de chloroforme et on porte l'ensemble à reflux pendant 1h. Après refroidissement, on filtre le mélange et le soumettre au test suivant.

##### **a) Caractérisation des anthraquinones :**

On ajoute le KOH aqueux (10%) à l'extrait et on agite le mélange. Un virage de couleur de la phase aqueuse au rouge confirme la présence des anthraquinones.