

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES



### EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

*KACIMI Ibtissem & SEKIMI Imane*

Thème :

*Essai de fabrication de quelques produits laitiers à base  
d'extraits et de poudre des épines de pin d'Alep (Pinus  
halepensis Mill)*

Soutenu le : 04/07/2023

Devant le jury composé de :

*Nom et Prénom*

*Grade*

*MAHDJOUR Mohamed Malik*

*MCB*

*Président*

*CHERGUI Achour*

*MCB*

*Examineur*

*KADRI Nabil*

*Professeur*

*Promoteur*

*MAMERI Amal*

*Docteur*


*Co-promotrice*

*Année Universitaire : 2022/2023*



# *Remerciements*





*Au terme de ce travail, nous tenons à remercier en premier le bon Dieu le seul miséricordieux, qui nous a donné le courage, la force et la volonté pour l'accomplir.*

*Nous remercions vivement notre promoteur Mr KADRI d'avoir accepté de nous guider et de nous aider pour réaliser ce modeste travail et notre co-promotrice, Mme MAMERI pour son aide précieuse et pour notre orientation tout au long de la période de réalisation de ce travail.*

*Nos sincères remerciements sont également destinés aux membres de jury Mr MAHDJOUR et Mr CHERGUI qui ont accepté d'examiner notre travail et rehausser sa qualité.*

*Nous remercions l'équipe qualité de l'unité FAIZ lait spécialement Mr ZERIFI Mahfoud et Mme AISSISouhila pour leur encadrement durant notre Stage au sein de l'unité.*


*Nous exprimons de même notre gratitude à tous ceux qui nous ont accordé leur Soutien Tant par leur gentillesse que par dévouement*

*A tous les enseignants qui nous ont aidé pendant les cinq ans passés.*

*A toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'avancement de notre projet*

*A nos très chers familles et amis pour leur aides.*

*Nous ne pourrions pas nommer ici toutes les personnes qui nous ont aidé et encouragé.*





# *DEDICACES*





*Tout d'abord, je remercie mon **DIEU** qui par sa grâce,  
fait les bonnes œuvres*

*Qui m'a inspiré*

*Qui m'a guidé vers le bon chemin*

*Je dédie ce travail à la mère la plus merveilleuse du monde, source de  
tendresse et de sécurité, qui m'aime réussis, à celle qui a veillé à me  
rendre heureuse pour toujours, elle reprise ma joie pendant toute ma  
vie .Merci pour ta confiance aveugle en moi.*

*À mon cher père qui ne me refuse aucune demande, source d'espoir et  
de motivation.*

*À ma sœur **Fatíha** et mes frères : **Abd el kader, Abd el djalile***

*Que dieu leur procure une bonne santé et une longue vie.*

*À tous les membres de la famille **KACIMI***

*Et à tous ceux qui contribué de près ou de loin, pour ce projet soit  
possible, je vous dis merci énormément.*

*Ibtissem*





*Avec l'aide de **dieu** j'ai terminé ce travail*

*Je dédie ce mémoire*

*A mes très chers parents*

*Pour tout leur soutien leur amour, leur patience, leur encouragement  
et pour tous leurs sacrifices*

*A mes sœurs **Mouna** et **Manar** et mon frère **Younes** et mon grand -  
père, et à la mémoire de ma grand -mère*

*Allah illumine sa tombe et t'accueille dans son vaste paradis*

*A mon cher oncle **Ahmed** qui m'a soutenu et conseillé toujours et de  
m'avoir encouragé.*

*A mon cher binôme **IBTISSEM**, à qui je souhaite*

*Beaucoup de succès.*

**IMANE**



# ***Table des matières***

# Table des matières

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## INTRODUCTION.....01

### Synthèse bibliographique

I. Le genre <i>Pinus halepensis</i> Mill.....	03
I.1 .Description de la plante .....	03
I.2.Aire de la répartitions naturelle de pin d'Alep.....	03
I.2.1. Dans le Monde.....	03
I.2.2.En Algérie.....	04
I.3.Phytochimie de déférentes parties de <i>Pinus halepensis</i> .....	05
I.4.Les propriétés thérapeutiques et usage traditionnel.....	09
I.5.Les activités biologiques.....	10
II. Lait fermentés.....	11
II.1. Le concept d'enrichissement nutritionnel .....	11
II.2.Définition des lait fermentés .....	11
II.3.Yaourt .....	12
II .4. Le fromage.....	18

### Partie expérimentale

#### I. Matériel et méthodes

I.1. Contexte de l'étude.....	21
I.2 Matériel végétal.....	21
I.3 Extraction des polyphenols des aiguilles de <i>P.halepensis</i> Mil.....	22
1. Extraction par éthanol.....	22



## Table des matières

2. Détermination des taux des composés phénoliques .....	23
3. Etude de l'activité anti oxydante de l'extrait des épines de pin d'Alep .....	24
<b>I.4.Laits fermentés</b>	
1. Préparation de yaourt à base des épines de pin .....	27
2. Les analyses physico-chimiques du yaourt.....	28
3. Les composés phénoliques et les activités anti-oxydantes du yaourt .....	30
<b>I.5. Fromage frais</b>	
1. Fabrication de fromage .....	32
2. Caractéristiques physico-chimiques .....	34
<b>II. Résultats et discussion</b>	
<b>1. Extraction, dosage des polyphénol / flavonoïdes et évaluation de l'activité anti-oxydant</b>	
1.1. Rendement d'extraction.....	35
1.2. Teneur en polyphénols totaux.....	35
1.3 .Teneur en flavonoïdes .....	36
1.4. Evaluation de l'activité anti radicalaire DPPH.....	36
1.5. Evaluation de l'activité réduction du fer FRAP.....	38
1.6. Pouvoir anti radical cation ABTS <sup>+</sup> .....	39
2. Analyses physico-chimiques du yaourt enrichi en extrait et en poudre.....	41
3. Composés phénoliques du yaourt .....	45
4. Activité anti oxydante du yaourt .....	48
5. Elaboration d'un fromage frais en poudre des épines de pin .....	51
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>52</b>

## Références Bibliographiques

## Annexes

## Liste des abréviations

**ABTS+** :L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'Aluminium

**DPPH** : Diphénylpicrylhydrazyle

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer

**FRAP** :Pouvoir réducteur de fer

**HCl** : Chlorure d'hydrogène (Acide chlorhydrique)

**IC<sub>50</sub>** : Concentration Inhibitrice à 50%

**NaOH** : hydroxyde de sodium

**PDL** : poudre de lait

Liste des figures

Figure	Titre	Page
<b>Figure N° 01</b>	La répartition de pin d'Alep dans le monde	04
<b>Figure N° 02</b>	La répartition du pin d'Alep en Algérie	05
<b>Figure N° 03</b>	Structure des principaux Flavonoïdes des aiguilles de <i>P.halepensis</i>	07
<b>Figure N° 04</b>	Structure des trois Acides phénoliques majoritaires des aiguilles de <i>P.halepensis</i>	08
<b>Figure N° 05</b>	Les structures de quelques composés des huiles essentielles des aiguilles de <i>P.halepensis</i> .	09
<b>Figure N° 06</b>	Le processus de fabrication des yaourts (étuvé et brassé)	16
<b>Figure N° 07</b>	Les étapes de fabrication du fromage frais	20
<b>Figure N° 08</b>	L'échantillon avant et après broyage	21
<b>Figure N° 9</b>	Extraction au bain ultrason	22
<b>Figure N° 10</b>	Démarche expérimentale de la préparation du yaourt enrichi	28
<b>Figure N°11</b>	Les étapes d'extraction des composés phénoliques à partir des yaourts préparés	30
<b>Figure N°12</b>	Diagramme de fabrication du fromage frais avec des épines de pin d'Alep	32
<b>Figure N° 13</b>	L'extrait sec	33
<b>Figure N°14</b>	Les étapes pour la détermination de la matière grasse de fromage	34

<b>Figure N°15</b>	Pourcentage d'inhibition (%) du radical libre de l'extrait des épinettes de pin et l'antioxydant de référence (Acide ascorbique)	37
<b>Figure N°16</b>	Variation des absorbances de l'activité réductrice de Fe <sup>3+</sup> pour différentes concentrations de l'extrait éthanolique des épinettes de pin (a) et de l'acide ascorbique (b)	38
<b>Figure N°17</b>	Les taux d'inhibition de radical ABTS <sup>+</sup> à différentes concentrations de Trolox(a) et de l'extrait éthanolique des épinettes de pin (b)	39
<b>Figure N°18</b>	Évaluation de l'acidité Dornic des yaourts enrichis en épinettes de pin	42
<b>Figure N°19</b>	La différence entre l'acidité Dornic des deux yaourts enrichis en épinettes de pin	42
<b>Figure N°20</b>	Résultats de taux et de la teneur en humidité et en extrait sec des différents échantillons de yaourt	44
<b>Figure N°21</b>	teneur des yaourts élaborés en composés phénoliques totaux	46
<b>Figure N°22</b>	Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les composés actifs des deux yaourts élaborés	48
<b>Figure N°23</b>	Pouvoir réducteur des trois recettes du yaourt enrichi en poudre des épinettes de pin	50
<b>Figure N°24</b>	Pouvoir réducteur des trois recettes du yaourt enrichi en extrait des épinettes de pin	50

**Liste des tableaux**

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b>	Composition physico-chimique du yaourt	13
<b>Tableau II</b>	Critères microbiologiques du yaourt	18
<b>Tableau III</b>	la classification des fromages en fonction de trois critères principaux	19
<b>Tableau IV</b>	Les différents types de fromages frais	20
<b>Tableau V</b>	Mesure de Ph des yaourts élaborés	41
<b>Tableau VI</b>	Teneur en composés phénoliques totaux dans les yaourts élaborés	45
<b>Tableau VII</b>	Teneur en composés flavonoïdes dans les yaourts élaborés	47
<b>Tableau VIII</b>	Les valeurs de l'IC50 des yaourts élaborés	48
<b>Tableau IX</b>	Les paramètres physico-chimiques du fromage frais	51



# ***Introduction générale***

## **Introduction**

Les végétaux ont toujours été utilisés pour se soigner. Près de 80% de la population mondiale utilise des plantes médicinales en raison du manque d'accès aux médicaments prescrits (**Benaïssa, 2011**). Plusieurs chercheurs ont tenté d'expliquer les mécanismes par lesquels ces plantes agissent sur l'organisme, ce qui a conduit les chimistes à isoler les principes actifs.

Les plantes médicinales sont indispensables à l'avenir du système sanitaire mondiale, possédant souvent des propriétés médicinales qui ont de réels avantages contre une grande variété de maladies. Ce sont donc des matières premières naturelles utilisées dans la fabrication des produits pharmaceutiques. En Algérie, le pin de genre *Pinus halepensis* Mill est particulièrement reconnu comme l'une des sources médicinales les plus utilisées. (**Sofowora, 2010**). Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour l'utilisation des différentes parties de la plante médicinale (feuille, tige, fruit, graines, etc.) dans divers domaines notamment dans l'industrie agroalimentaire, en plus du domaine médical. (**Benaïssa, 2011**).

Le yaourt est un produit laitier largement consommé qui a une valeur nutritionnelle élevée et qui est apprécié pour son goût et sa texture uniques. Cette propriété est causée par le traitement thermique, l'acidification et l'activité protéolytique des bactéries. La consistance et la viscosité du yaourt dépendent en grande partie de la teneur en matière sèche du lait (**Schuck et al, 2012**). Au départ, le fromage était un moyen de conserver le lait ou au moins les éléments susceptibles d'être conservés, au prix de fermentation que l'homme a appris à gérer. Le fromage est un composant essentiel de l'alimentation humaine. Il est un aliment riche en énergie, car il contient beaucoup de lactose, de lipides et de protéines (**Walther et al 2008**).

Le choix des éléments extraits à partir de pin pour la fabrication des produits laitiers en raison de sa richesse en sucres, fibres et sels minéraux, ainsi que de sa teneur en vitamines et polyphénols, notamment les flavonoïdes. Ces feuilles se caractérisent par des propriétés antioxydantes et thérapeutiques remarquables (**Kouachi et al 2018 ; Salim et al 2019**).

L'objectif de cette étude est de contribuer à la valorisation d'une plante locale aux propriétés médicinales, telle que le Pin d'Alep « *P. halepensis* Mill » et principalement d'évaluer les activités biologiques des extraits aqueux des aiguilles de cette plante dans l'optique de leur incorporation dans des produits laitiers (Yaourt et fromage) afin d'améliorer leur qualité nutritionnelle via leurs caractéristiques physico-chimiques et sensorielles.

Le mémoire se structure en deux sections :

- une synthèse bibliographique qui aborde les sujets suivants : des généralités sur le pin d'Alep et des généralités sur la fabrication de yaourt et de fromage.
- Partie expérimentale (les différentes étapes suivies dans l'extraction, analyses physico-chimiques du yaourt ainsi que du fromage et ses résultats et discussions).





***Synthèse bibliographique***

## I. Le genre *Pinus halepensis* Mill

### I.1. La description de la plante

Le pin d'Alep, également appelé scientifiquement *Pinus halepensis*, est un arbre conifère appartenant à la famille des Pinacées.

Il a été décrit par le botaniste écossais Phillip Miller en 1768. L'identification de cet arbre est basée sur les critères suivants (**Nahal, 1986 in Bouguenna, 2011**) :

- ✓ Les cônes sont lourdement pédonculés et se replient à la base des branches.
- ✓ Les épines sont très fines, mesurant moins d'un millimètre de large, elles sont souples et finement dentelées sur les bords. Elles ont une longueur de 5 à 10 cm et poussent par paires, parfois par groupes de trois, dans une gaine. Elles sont regroupées à l'extrémité des branches et ont une teinte vert jaunâtre.
- ✓ Les cônes se trouvent soit solitaires, soit par paires, rarement en verticilles. chaque écaille du cône présente un petit renflement central avec un petit mucron proéminent. Les graines ont une aile allongée et droite des deux côtés.

### I.2. Aire de répartition naturelle du pin d'Alep

#### I.2.1. la répartition dans le monde

Il convient de noter qu'il est intéressant de souligner que cet arbre n'est pas naturellement présent dans la localité d'Alep en Syrie (**Nahal, 1962**). Cette espèce est largement répandue le long du pourtour méditerranéen (**Figure 01**). Au total, ces vastes étendues forestières couvrent plus de 3 millions d'hectares répartis dans divers pays de la manière suivante :

- **L'Algérie**, Le pin d'Alep est abondant à travers tous les massifs montagneux, allant du littoral du tell jusqu'à l'Atlas saharien. sa surface s'étend sur environ 850 000 hectares (**Kadik 1987**).
- **La Tunisie**, il s'étend sur une surface de 340 000 hectares et se développe principalement dans les montagnes de la dorsale tunisienne. (**Souleres, 1969**).
- **Le Maroc**, la présence du pin d'Alep à l'état naturel est limitée, avec une superficie occupée de 65 000 hectares répartis de manière sporadique le long de la côte méditerranéenne dans le Rif, le Moyen Atlas et le Haut Atlas. (**Quezel, 1986 ; Bentouati, 2006**).

- **L'Espagne**, il est largement répandu et constitue environ 15 % de la superficie forestière totale (**Montéro, 2000**).
- **La France**, la superficie des peuplements de pin d'Alep a augmenté de 36 000 à 232 000 hectares au cours d'un siècle. (**Brochiero et al, 1999**).
- **En Italie**, le pin d'Alep occupe une surface d'environ 20 000 hectares, principalement le long des côtes (**Seigue, 1985**).



**Figure 01** : La répartition de pin d'Alep dans le monde (**Caudullo et al, 2017**).

### I.2.2. Aire de répartition dans l'Algérie

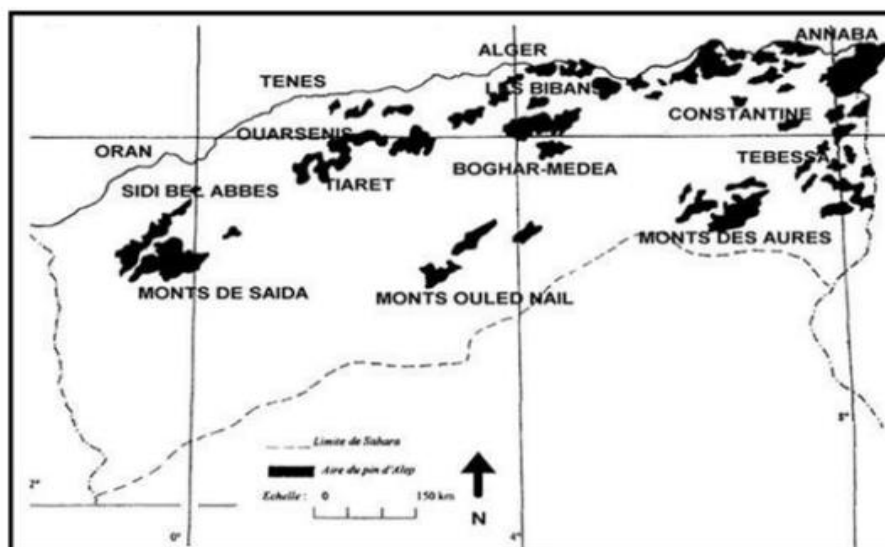
Le pin d'Alep est répandu dans toutes les variations bioclimatiques en Algérie, avec une présence prédominante dans les régions semi-arides. (**Figure 02**).

En raison de sa plasticité et de sa résistance, le pin d'Alep a développé une capacité d'expansion considérable, formant d'immenses massifs forestiers. Il est présent partout, de l'est à l'ouest, depuis les zones côtières jusqu'aux grands massifs montagneux du littoral du Tell et de l'Atlas Saharien. Sa croissance et son développement optimaux sont sur les pentes nord de l'Atlas du Sahara, où il forme des forêts importantes. (**Mecheri, 2018**).

À l'est, il convient de mentionner les vastes massifs de Tébessa, couvrant une superficie de 90 000 hectares, ainsi que ceux des Aurès, s'étendant sur plus de 100 000 hectares, principalement constitués des pinèdes de Béni Imloul (75 000 ha), d'Ouled Yagoub et de Béni Oudjana de 40 000 hectares (**Rabhi, 2023**).

Au centre, on peut citer les régions de Médéa Boghar et de Theniet El Had, elle occupé respectivement de 52 000 et 47 000 hectares, ainsi que les anciennes futaies des montagnes dans la région de Djelfa de Ouled Nail (**Gaouas et al, 1997 ; Mecheri, 2018**).

Dans les régions de l'Oranie, on peut trouver d'immenses massifs concentrés dans les régions de Bel Abbés, de l'Ouarsenis et de Saïda (**Quezel et Barbero, 1992; Mezali, 2003 ; Mecheri, 2018**).



**Figure 02** : Répartition du pin d'Alep en Algérie (**Bentouati, 2006**).

### I.3 Phytochimie de différentes parties de *Pinus halepensis*

Il existe effectivement de nombreuses études phytochimiques qui se sont penchées sur les compositions chimiques des extraits et des huiles essentielles de *Pinus halepensis* Mill. Ces recherches ont révélé que les compositions chimiques peuvent varier selon plusieurs facteurs, notamment la partie la plante utilisée (comme les graines, les aiguilles, les branches et les cônes) et le lieu de prélèvement des échantillons (région géographique, climat, sol, etc.) (**El Omari et al, 2020**). L'extraie de *Pinus halepensis* Mill est très riche en métabolites primaires (Sucres, protéines, lipides) et secondaires (Phénols totaux flavonoïdes, huiles essentielles...). Ils continuent également une forte concentration d'oligo-éléments (**Kouachi et al 2018 ; Salim et al , 2019**).

#### I.3.1. Les lipides

Les acides gras présents dans les huiles sont principalement insaturés, allant à 87 % pour *P. halepensis* Mill.

Ils contiennent un pourcentage élevé d'acide linoléique (59,25 %), suivi de l'acide oléique (24,55 %) des acides gras totaux, et une petite quantité d'acide linoléique (4,03 %) a été trouvée. Les acides gras saturés sont présents en quantités très faibles, jusqu'à 4,99 % pour l'acide palmitique, suivi de l'acide arachidique et de l'acide stéarique (respectivement 3,89 % et 3,26 %) (**Kadri et al, 2015**). Dans une autre étude démontrée que la composition de la fraction lipidique des graines de *Pinus halepensis* Mill a été étudiée. Les résultats obtenus mettent en évidence une teneur élevée en acides gras insaturés, tels que l'acide oléique (27%) et l'acide linoléique (48,8%), ainsi que la présence d'autres acides gras saturés tels que l'acide palmitique (8,75%). Des acides gras tels que l'acide myristique, l'acide myristoléique, l'acide palmitoléique, l'acide margarique, l'acide margaroléique, l'acide stéarique, l'acide linoléique, l'acide arachidique et l'acide eicosénoïque ont également été détectés, mais à des concentrations plus faibles (**Cheikh et al , 2006**).

### **I.3.2. Les protéines**

Une étude a été démontrée que les graines de pin d'Alep constituent une bonne source de protéines fonctionnelles, qui pourraient potentiellement être utilisées dans l'industrie alimentaire. Ils ont également constaté que la concentration de chlorure de sodium, la molarité du tampon phosphate et le pH, ont une incidence notable sur les caractéristiques fonctionnelles des protéines. (**Abbou et al, 2019**).

L'huile de pin présente une teneur en substances azotées pouvant atteindre jusqu'à 5%, dont 90% sont constituées d'acides aminés. Parmi ces acides aminés, environ 70% sont classés comme étant des acides aminés essentiels (**Curtis et al, 2006**).

Les acides aminés les plus présents dans l'huile de pin sont l'acide glutamique, qui représente environ 5,5% du poids sec, et l'arginine, qui représente environ 4,0%. Ces deux acides aminés constituent environ un tiers environ de 33%, des protéines présentes dans les graines de pin. (**Tukan et al, 2013**).

### **I.3.3. Les glucides**

Les polysaccharides présents dans les graines de pin d'Alep sont reconnus comme une source de polysaccharides bioactifs (**Abbou et al, 2019**). Il a été observé que le choix du solvant utilisé pour précipiter ces polysaccharides joue un rôle crucial dans l'intensité de leur bio activité (**Abbou et al, 2019**).

### I.3.4. les polyphénols et flavonoïdes

Les acides phénoliques sont un groupe de composés diversifiés qui caractérisent par un noyau aromatique relié à un groupe hydroxyle, qu'il soit libre ou lié. Les flavonoïdes, quant à eux, se sont des métabolites secondaires présents dans tout le règne végétal. Ils servent de pigments végétaux universels, Ils participent à la pigmentation des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On autre, les flavonoïdes possèdent des propriétés thérapeutiques qui ont été associées à diverses conditions pathologiques (El Omari et al, 2020).

La présence de plusieurs flavonoïdes dans les aiguilles de *Pinus halepensis* (figure 03). Parmi ces flavonoïdes, on retrouve des proanthocyanidines telles que la delphinidine et la cyanidine, ainsi que six flavonols : la myricétine, la quercétine, la larycitrine, le kaempférol, l'isorhamnétine et la syringétine. Ces composés flavonoïdes confèrent aux aiguilles de *Pinus halepensis* leurs propriétés chimiques spécifiques (Kaundunetal , 1998).

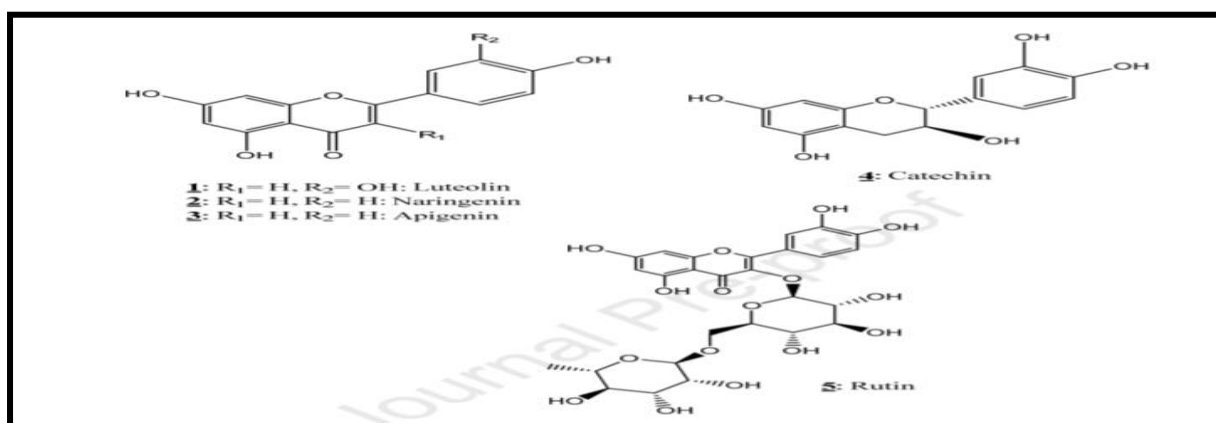
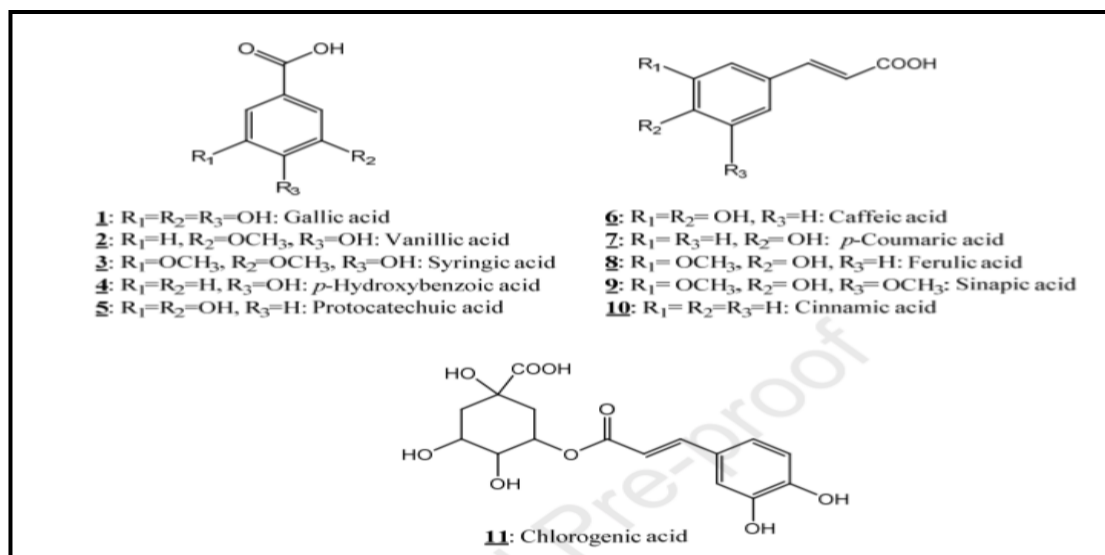


Figure 03 : structure des principaux Flavonoïdes des aiguilles de *P.halepensis*. (El Omari et al, .2020)

Les aiguilles de *P. halepensis* contiennent des composés phénoliques qui ont été étudiés comme indicateurs biologiques de la qualité de l'air (Figure 04), en particulier pour évaluer le degré de pollution par le dioxyde de soufre et d'azote. L'extraction de ces composés a été réalisée en utilisant un solvant composé de méthanol aqueux à 70% acidifié par HCl pour les phénols totaux, suivi d'un solvant d'éther diéthylique pour les polyphénols simples. Parmi les composés phénoliques identifiés, les acides protocatéchique, vanilique et coumarique ont été trouvés en plus grande quantité, atteignant respectivement jusqu'à 71 µg.g<sup>-1</sup>, 24 ug.g<sup>-1</sup> et 18 ug.g<sup>-1</sup> (Pasqualini et al, 2003).

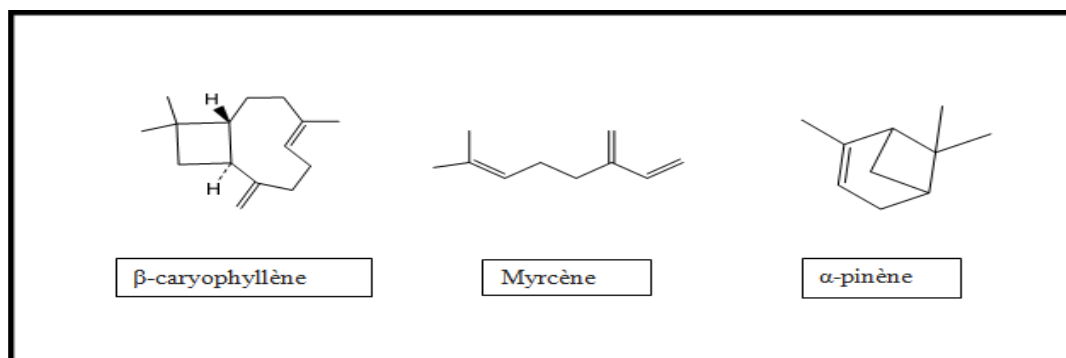


**Figure 04 :** Structure des trois acides phénoliques majoritaires des aiguilles de *P.halepensis*. (El Omari et al,2020).

L'analyse de l'extrait aqueux de *Pinus halepensis* Mill a permis d'identifier la présence de gallotanins et de proanthocyanidines en quantités considérables (Abdalla et al ,2014).

### I.3.5 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles des épinettes du *P.halepensis* sont obtenues par hydrodistillation et les analyses chimiques (GC/MS) ont révélés la présence de 21 composants, représentant 100% des constituants identifiés de l'huile essentielle (**Figure 05**). Les principaux composés, en ordre décroissant, sont le caryophyllène (32,97%), l' $\alpha$ -pinène (13,72%), le  $\beta$ -pinène (11,02%), l' $\alpha$ -humulène (7,86%), le cembrène (6,30%), le trans- $\beta$ -ocimène (5,31%), le 1R- $\alpha$ -pinène (5,00%) et l'isovalérate de  $\beta$ -phényléthyle (4,43%)(**Hjouji et al ,2021**). Elles contiennent aussi principalement du myrcène (27,9 %), suivi de l' $\alpha$ -pinène (18,1 %) et du  $\beta$ -caryophyllène (16,4 %)(**Macchioni et al, 2003**). Elle contient également une variété d'éléments bénéfiques pour la santé, tels que le magnésium, le zinc, le fer, le cuivre, l'iode, le calcium, le phosphore, le manganèse et le cobalt. Ces éléments sont présents en quantités significatives dans les graines (**Wang et al, 2006**). Dans les épinettes, on retrouve en permanence deux monoterpènes (l' $\alpha$ -pinène et le  $\beta$ -pinène). Quatre autres monoterpènes (le camphène, le limonène, l'eucalyptol en automne et en hiver, et le sabinène en été) ne sont présents que pendant certaines saisons. (**Moutchou et al, 2021**).



**Figure 05** : les structures de quelques composés des huiles essentielles des aiguilles de *P. halepensis*. (El Omari et al, 2020).

#### I.4. Les propriétés thérapeutiques et usage traditionnel

Le genre *Pinus* est largement reconnu pour ses applications dans La phytothérapie ancestrale algérienne en raison des propriétés médicinales suivant :

- Il est reconnu comme un antiseptique puissant et stimulant, recommandé pour traiter les affections des voies respiratoires, les infections des voies urinaires les calculs vésiculaires, Infection de la prostate et stérilité et mal de dents.
- La décoction des bourgeons, de l'écorce et des cônes matures ou jeunes, ainsi que l'utilisation de la poudre des résines et des cônes verts, sont employées traditionnellement pour atténuer les symptômes de l'asthme et de la bronchite et de la toux. (El Omari et al, 2020).

Les huiles de pin sont utilisées en aromathérapie pour les massages cutanés et pour soulager les problèmes gastro-intestinaux tels que les ulcères d'estomac. Elle possède également des propriétés d'inhibition de l'appétit et favorise l'absorption des protéines (El Omari et al, 2020). De plus, elle est utilisée comme remède naturel dans le traitement des maladies cardiovasculaires en raison de sa teneur en acide pinolénique, qui régule les niveaux de lipides dans le sang, réduit l'agrégation plaquettaire et entraîne une diminution de la pression artérielle. L'huile de pin contient également des antioxydants bénéfiques pour l'ensemble de l'organisme (Kadri, 2013).



## I.5. Les activités biologiques

### I.5.1. Activité antioxydante

L'huile essentielle de *Pinus halepensis* possède une efficacité avérée dans la neutralisation des radicaux libres *in vitro*. Cette efficacité est observée à travers différentes méthodes expérimentales, notamment le test de DPPH, ABTS et FRAP (**Bouyahya et al ,2019**).

Effectivement, l'action antioxydante des composés peut s'exercer de différentes manières, en plus de l'inhibition des radicaux libres par les deux mécanismes supplémentaires suivant :

1. Neutralisation des enzymes oxydantes : Certains composés antioxydants peuvent neutraliser les enzymes oxydantes, telles que les oxydases et les peroxydases, qui produisent des espèces réactives de l'oxygène (ERO). En inhibant ces enzymes, les composés antioxydants réduisent la production d'ERO et aident à maintenir l'équilibre redox cellulaire.
2. Chélation d'ions métalliques : Certains composés antioxydants ont la capacité de se lier aux ions métalliques, tels que le fer et le cuivre, qui sont impliqués dans la génération des ERO via des réactions de Fenton et de Haber-Weiss. En chélatant ces ions métalliques, les composés antioxydants inhibent leur participation aux réactions oxydatives, réduisant ainsi la formation d'ERO (**Bouyahya et al ,2019**).

Il est important de noter que les mécanismes spécifiques d'action antioxydante peuvent varier en fonction des composés et des systèmes biologiques étudiés. Certains composés peuvent présenter une affinité préférentielle pour certains mécanismes d'action antioxydante, tandis que d'autres peuvent agir de manière multifactorielle en ciblant plusieurs voies d'oxydation.

De même l'effet de l'extrait méthanolique de *Pinus halepensis* sur la dégradation oxydative de l'ADN plasmidique induite par la photolyse UV de l'eau oxygénée. Lors de cette photolyse, des radicaux hydroxyles hautement réactifs et fortement oxydants sont générés, ce qui peut endommager les composants de l'ADN. Cependant, l'ajout de l'extrait de *Pinus halepensis* dans le mélange réactionnel empêche la formation de l'ADN linéaire et protège efficacement l'ADN circulaire super enroulé de manière dose-dépendante. Cette activité protectrice est attribuée à la présence de puissants antioxydants dans les extraits, notamment les composés phénoliques qui semblent être les plus efficaces (**Meziti et al ,2019**).

Par ailleurs, l'effet antioxydant de *Pinus halepensis* a été confirmé sur les globules rouges des souris, qui servent de modèle cellulaire pour l'étude du stress oxydant.

L'extrait méthanolique de *Pinus halepensis* présente une inhibition de la peroxydation lipidique ainsi que l'hémolyse provoquée par l'agent oxydant AAPH, grâce à sa teneur élevée en composés phénoliques et flavonoïdes (**Meziti et al, 2019**).

### I.5.2. Activité anti-inflammatoire

L'extrait aqueux de l'écorce de *Pinus halepensis*, qui est riche en agents antioxydants tels que les polyphénols, en particulier les procyanidines et les acides phénoliques présente des propriétés réductrices ou inhibitrices des dommages inflammatoires causés par les rayonnements UV et X sur la peau (Petri et al, 2012 ; Orazio et al , 2013 ).

L'effet local de patches d'alginate micro/nanofibreuse contenant l'extrait aqueux de l'écorce de pin d'Alep a été examiné sur la peau d'une souris femelles sans poils exposées aux radiations ultraviolettes (3MEDs). Les résultats ont montrés que l'application topique de l'extrait réduisait de manière significative l'inflammation cutanée induite par les rayonnements UV (Eleftheria et al, 2019).

De plus, l'extrait de *Pinus halepensis* a également présenté un effet anti-œdémateux lorsqu'il était administré par voie orale dans un modèle d'œdème de l'oreille induit par le xylène (Meziti et al, 2019).

L'activité anti-inflammatoire a été confirmée par des tests sur certaines fonctions des neutrophiles humains. L'extrait a démontré une inhibition significative et dose-dépendante de l'activité de l'élastase, de la MPO des neutrophiles et de la production de radicaux libres (Meziti et al, 2019).

### I.5.3. Activité anticancéreuse

Les huiles essentielles de *Pinus halepensis* Mill se distingue par sa teneur élevée en acide palmitique (5,73%). Son effet anti-métastatique a été étudié sur les lignées cellulaires U-87 MG, et les résultats obtenus ont indiqué une forte capacité d'inhibition de la prolifération cellulaire et de la progression du cycle cellulaire. (G. Rigane et al, 2016).

L'activité anti-angiogénique de la fraction lipidique (lipides neutres, glycolipides, phospholipides) des graines de *Pinushalepensis* a été examinée in vitro sur des cellules endothéliales et in vivo sur la membrane chorioallantoïque de l'embryon de poussin. Les résultats ont montré que la fraction lipidique, en particulier les phospholipides et les glycolipides, présentaient des effets anti-angiogéniques (Kadri et al ,2014).

Parmi les différentes fractions évaluées, les phospholipides et les glycolipides ont manifesté une activité anti-angiogénique particulièrement prononcée en comparaison des lipides neutres (Kadri et al ,2014).



# Laits fermentés

## II. Laits fermentés

### II.1. Le concept d'enrichissement nutritionnel

De manière générale, bien que l'enrichissement et la fortification impliquent l'ajout de substances nutritives aux aliments, leur définition précisée varie. L'OMS et la FAO décrivent l'enrichissement comme "l'augmentation délibérée des micronutriments essentiels, tels que les minéraux (les oligo-éléments) et les vitamines, dans les aliments, que ces composants nutritionnels soient ou non présents en quantité suffisante avant la transformation des aliments. L'objectif est d'améliorer la qualité nutritionnelle de l'approvisionnement alimentaire et de promouvoir la santé publique avec un risque minimal pour la santé". Quant à la fortification, elle est définie comme "l'ajout de micronutriments aux aliments qui ont été retirés pendant le processus de transformation" (**Kumarat al, 2022**).

De ce fait, divers produits alimentaires ont été utilisés, notamment le yaourt qui est un produit laitier fermenté largement connu. Malgré sa valeur nutritionnelle et son importance dans l'alimentation humaine, le yaourt n'est pas une source principale de composés phénoliques (**O'connell et al, 2001**). Dans les produits laitiers, la quantité de composés phénoliques est généralement faible en raison de l'alimentation du bétail, qui contient naturellement une quantité limitée de ces composés. De plus, la contamination des équipements de production alimentaire par d'autres agents désinfectants et la dégradation bactérienne des protéines du lait peuvent également contribuer à une diminution des composés phénoliques. Par conséquent, certains additifs d'origine végétale ont été ajoutés pour augmenter le taux des composés phénoliques dans le yaourt (**Karaaslan et al, 2011**).

### II.2. Définition d'un lait fermenté

Un lait fermenté conformément à la réglementation française est un produit laitier fabriqué uniquement à partir des matières premières d'origine laitière, telles que le lait et ses constituants. Ces matières premières sont soumises à un processus de pasteurisation, qui consiste à chauffer le lait pour éliminer les micro-organismes indésirables, suivi d'une fermentation réalisée par des micro-organismes spécifiques. Ce processus de fermentation entraîne la production d'acide lactique, qui est un composé essentiel dans les laits fermentés. Selon la réglementation, un lait fermenté doit contenir au moins 0,6 % d'acide lactique. Il est également permis d'ajouter certains ingrédients pour conférer une saveur spécifique au produit, tels que le sucre, les arômes ou les préparations de fruits, à condition que ces ajouts n'excèdent pas 30 % du poids total du produit fini (**Béal, 2019**).

### II.3. Yaourt

Conformément au Codex Alimentaires et (FAO, 1975) le yaourt est défini comme un « produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* à partir de lait (pasteurisé, concentré, partiellement écrémé enrichi en extrait sec) ». Il est essentiel que les bactéries présentes dans le yaourt final soient vivantes et abondantes. Pour maintenir la viabilité des bactéries lactiques, il est recommandé de conserver ces produits à une température comprise entre 0 et 6 °C jusqu'à leur consommation (Syndifrais, 1997).

Pour garantir la qualité du yaourt, les bactéries lactiques doivent être introduites simultanément lors de l'inoculation et doivent être capables de survivre dans le produit à un taux d'au moins  $10^7$  bactéries par gramme. Lors de la consommation, la teneur en acide lactique libre dans chaque portion de 100 g de yaourt ne doit pas être inférieure à 0,8 g, conformément à l'étude menée par (Mahaut et al, 2000).

Selon (FAO, 1995), la matière première utilisée dans la fabrication du yaourt peut être du lait cru, principalement du lait de vache, ou du lait recombinaé/reconstitué. Il est également possible d'utiliser un mélange de ces différentes sources de lait.

#### II.3.1. Classification

Les yaourts se distinguent par plusieurs critères, tels que le procédé de fabrication, la quantité de matière grasse et les ingrédients ajoutés. Voici une description des différents types de yaourts :

##### Selon le procédé de fabrication

- Le yaourt ferme est obtenu grâce à une fermentation réalisée directement dans des pots. Cela inclut généralement les yaourts nature et aromatisés.
- Le yaourt brassé est fabriqué en fermentant le lait dans une cuve avant d'être brassé et conditionné. C'est notamment le cas pour les yaourts veloutés nature ou aromatisés aux fruits. (Mahaut et al, 2000).

##### Selon la quantité de matière grasse

- Yaourt entier : contient environ 3% de matière grasse.
- Yaourt partiellement écrémé : contient moins de 3% mais plus de 0,5% de matière grasse.

- Yaourt écrémé : contient au maximum 0,5% de matière grasse (**Mahaut et al, 2000**).

### Selon les ingrédients ajoutés

- Yaourt aromatisé : contient des arômes ajoutés pour donner une saveur spécifique.
- Yaourt aux fruits : contient des morceaux ou des préparations de fruits ajoutés.
- Yaourt light : contient un édulcorant pour réduire la teneur en calories (**Mahaut et al, 2000**).

Ces distinctions permettent de diversifier les choix disponibles sur le marché des yaourts en offrant des options variées en termes de goût, de teneur en matières grasses et d'ingrédients supplémentaires (**Mahaut et al, 2000**).

### II.3.2. Les propriétés chimiques

La composition nutritionnelle des laits fermentés varie considérablement et est principalement influencée par la teneur en matières grasses du lait ainsi que les substances incorporées lors de la fabrication. Les informations concernant la composition chimique d'un pot de yaourt sont fournies dans le tableau présenté par (**Schuck ; Mahaut et al, 2000**).

**Tableau I** : Composition physico-chimique du yaourt (**Schuck ; Mahaut et al, 2000**)

Composition	Teneur
L'eau :	80 - 88,4%
Les glucides :	4 - 4,66 %
Les protéines :	3,47 – 4%
Les lipides :	1,1 – 4%
Calcium :	155-200 mg
Phosphore :	95 mg
Les vitamines :	27µg, vitB2 : 0,142 mg, vitB12: 0,37 µg

### II .3.3. Les ferments du yaourt

D'un point de vue scientifique, le ferment *S. thermophilus* se caractérise par sa structure sous forme de cellules sphériques ovoïdes, qui peuvent s'organiser en paires, en chaînettes ou en longues chaînes. Il est classé comme bactérie Gram positif, anaérobie facultatif, immobile et homofermentaire. En tant qu'espèce thermophile, sa température de croissance optimale se situe entre 37 et 45°C. Il présente une résistance thermique élevée et une tolérance au sel (2 à 4% de NaCl). De plus, *S. thermophilus* a des besoins nutritionnels spécifiques, notamment les vitamines B et les acides aminés (**Boudjema, 2008**).

*L. bulgaricus*, il a été isolé pour la première fois à partir des selles d'un nourrisson. Il se présente généralement sous forme de bâtonnets ou de chaînettes et est classé comme bactérie Gram positif, non mobile, non sporulée et micro-aérophile. *L. bulgaricus* est également une espèce thermophile, avec une température de croissance optimale d'environ 42°C.

Il a des exigences élevées en calcium et en magnésium pour sa croissance et son développement (**Boubchir-Ladj, 2010**).

### II.3.4. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques du yaourt

Le yaourt présente divers intérêts nutritionnels et thérapeutiques, qui ont été étudiés depuis les études pionnières de Metchnikoff au début du siècle. Voici quelques bénéfices associés à la consommation de yaourt (**FAO, 1995**) :

- L'amélioration de la digestion du lactose: Les bactéries lactiques contenues dans le yaourt possèdent une meilleure dégradation du lactose chez les individus présentant une déficience en lactase, l'enzyme nécessaire pour digérer le lactose (**Mahaut et al, 2000**).
- L'amélioration de la biodisponibilité des protéines: La fermentation réalisée par les ferments du yaourt permet une prédigestion des protéines grâce à leurs activités protéolytiques, ce qui facilite leur assimilation lors de la digestion (**Debry, 2001**).
- Amélioration de l'assimilation des graisses: Bien que l'activité de dégradation des graisses par les bactéries lactiques soit modérée, la présence de ces bactéries dans le yaourt conduit à une augmentation significative de la teneur en acides gras libres. De plus, le processus d'homogénéisation du yaourt contribue également à améliorer sa digestibilité. (**Mahaut et al, 2000**).

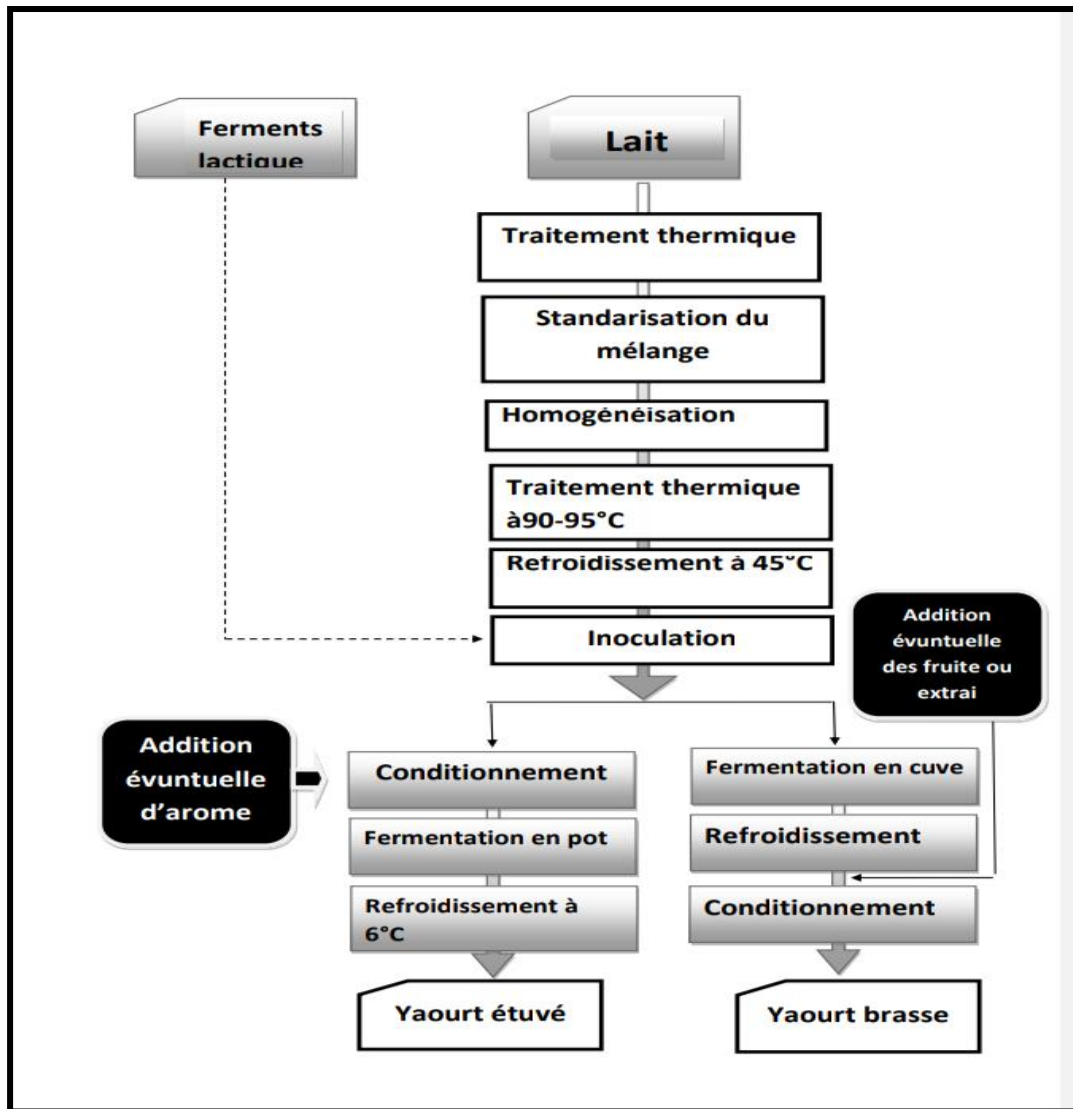
- L'activité antimicrobienne : Le yaourt possède des propriétés préventives contre les infections gastro-intestinales. Son utilité dans le traitement des diarrhées infantiles a été démontrée par plusieurs chercheurs. **(Mahaut et al, 2000).**
- La stimulation du système immunitaire : Les bactéries lactiques présentes dans le yaourt ont montré des effets favorables sur la régulation du système immunitaire dans des pathologies telles que les diarrhées virales, les allergies alimentaires, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et certains types de cancers **(Luquet et Corrieu, 2005).**
- Action réductrice du cholestérol : La consommation de yaourt peut contribuer à la prévention des maladies coronariennes et peut être plus efficace que la consommation de lait pour diminué le taux de cholestérol. **(Mahaut et al, 2000).**

Il convient de noter que ces bénéfices sont généralement associés à une consommation régulière et dans le cadre d'une alimentation équilibrée.

#### **II.3.5.Diagramme de la fabrication du yaourt :**

La production de yaourts à partir de lait enrichi implique trois étapes clés : le traitement thermique, la fermentation, le conditionnement ainsi que le stockage. Ces trois étapes sont essentielles pour obtenir des yaourts de qualité, avec une texture onctueuse, une saveur agréable et les bienfaits des cultures bactériennes **(BéaletSodini, 2005).**





**Figure 06:** le processus de fabrication du yaourts (étuvé et brassé)(Béal et Sodini, 2005).

### II .3.6. Les propriétés physico-chimiques

➤ **Le pH et acidité**

Selon les recommandations de **la Fédération internationale du lait**, la teneur en acide lactique recommandée est de 0,7%. Cependant, cette valeur peut varier entre 0,6% et 1,5% dans certains pays. Certaines normes spécifient un pH inférieur à 4,5 ou 4,6, ainsi qu'une acidité comprise entre 78 et 100°D.

➤ **La viscosité**

Le processus de transformation du lait en yaourt engendre la création d'une structure complexe et une altération significative de ses propriétés rhéologiques, passant d'un liquide newtonien à un gel viscoélastique avec une déformation irréversible (**PaciKora, 2004**). Selon (**JORA 1998**), la viscosité se situe entre 27 500 et 32 500 centipoises.

➤ **L'extrait sec et humidité**

L'extrait sec désigne la proportion en poids des substances restantes après que l'échantillon ait été complètement desséché. Il est exprimé en pourcentage ou en grammes par litre (g/L). (**Nongonierma et al, 2006**).

➤ **La matière grasse**

La quantité de la matière grasse présente dans les yaourts doit être inférieure à 3% pour les yaourts naturels, sucrés ou aromatisés, se situer entre 0,5% et 3% pour les yaourts partiellement écrémés, et être de 0,5% pour les yaourts écrémés. (**Ozer et al, 1998**).

### II.13.7. Propriétés microbiologiques

Les critères microbiologiques du yaourt, tels qu'énoncés dans **l'Arrêté interministériel algérien du 24 janvier 1998** modifiant et complétant **l'arrêté du 23 juillet 1994** relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires, sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau II** : les critères microbiologiques du yaourt.

Yaourt	N	C	M
Coliformes totaux	5	2	10
Coliformes fécaux	5	2	1
Staphylococcus aureus	5	2	10
Levures	5	2	<10 <sup>2</sup>
Moisissures	5	0	Absence
Salmonelles	5	0	Absence

**N** : fait référence au nombre total d'unités présentes dans l'échantillon.

**C** : représente le nombre d'unités de l'échantillon qui présentent des valeurs comprises entre m et M.

**M** : est le seuil limite au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans que le produit soit considéré comme toxique.

## II .4.Le fromage

### 1. Définition de fromage

Selon le Codex Alimentarius (FAO/OMS), le fromage peut être décrit comme un produit solide ou semi-solide, qu'il soit affiné ou non, dont le rapport entre les protéines caséines et sériques n'est pas supérieur à celui du lait. Il est obtenu en coagulant exclusivement des matières d'origine laitière, soit par l'action de la présure, soit par l'ajout d'un coagulant spécifique. Ensuite, le lactosérum issu du processus précédent est partiellement égoutté, ou des techniques de transformation sont utilisées, y compris la coagulation du lait, afin d'obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques similaires à celles définies dans la classification des fromages.

### 2. Technologie fromagère

La production de fromage implique trois étapes essentielles : le caillage, l'égouttage et l'affinage, cependant, il convient de noter que cette dernière étape n'est pas présente dans le cas des fromages frais. (Evette, 1975).

### 3. Classification des fromages

La norme internationale **A-6 (FAO/OMS, 1987)** propose une classification des fromages basée sur trois critères principaux : la teneur en eau dans le fromage dégraissé (TEFD), la teneur en matière grasse sur matière sèche (MGES) et les principales caractéristiques d'affinage (voir tableau III).

**Tableau III** : la classification des fromages en fonction de trois critères principaux **A-6 (FAO, 1995)**.

Terme1		Terme2		Terme3
Si H.R.E.Dest, en%	La 1ère phase de la désignation doit être	Si <b>MG/E.S</b> est, en%	La 2ème phase de la désignation doit être	Désignation d'après les principales caractéristiques de maturation
< 41	Pâte extra dure	> 60	Très gras	1- Muri ou affiné
45 – 56	(Parmesan)	45 – 60	Gras	2- Muri ou affiné aux moisissures
54 – 63	Pâte dure	25 – 45	Demi-gras	3- Non muri ou non affiné
61 – 69	(Gruyère)	10 – 25	¼ gras	
> 67	Pâte demi-dure	< 10	Maigre	
	(Gouda)			
	Pâte demi-molle			
	(Brie)			
	Pâte molle			
	(Fromage Frais)			

### 4. Le fromage frais

Les fromages frais sont des fromages à pâte molle non affinée, très humides et peu minéralisés. Ils ont un goût crémeux ou légèrement acide, et sont faciles à tartiner et à mélanger avec d'autres aliments (**Vignola, 2002**).

Ils sont obtenus par une coagulation lente, principalement acide, qui résulte de l'action des bactéries lactiques, combinée ou non à une petite quantité de présure (1-5 mL/100 L de lait), et d'un temps d'incubation prolongé. Cependant, leur durée de conservation est courte (**Eck et Gillis, 2006**).

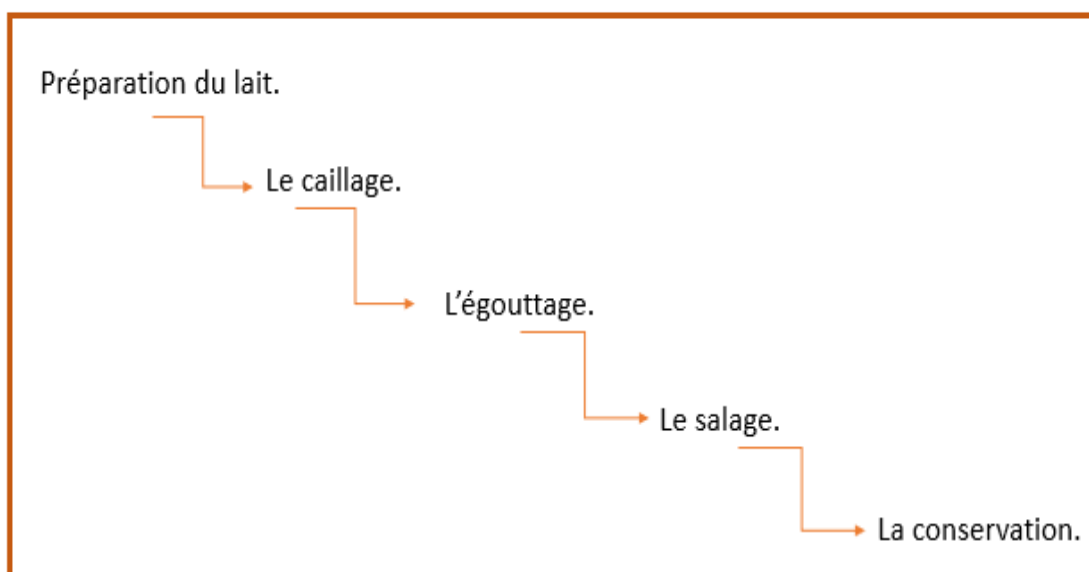
Les fromages frais présentent une grande variété en fonction du degré d'égouttage du coagulum et de la teneur en matière grasse du lait utilisé. Le tableau ci-dessous présente quelques exemples de diversité des fromages frais.

**Tableau IV :** Les différents types de fromages frais.

Types de fromage	La Définition	Référence
Blanc	Fromage n'a pas subi d'autres fermentations que la fermentation lactique.	(Luquet et Georges, 2005)
Petit suisse	sous forme de fromage frais préemballé, non salé et de forme cylindrique, pesant entre 30 et 60 g.	(Luquet, 1985).
"Demi-sel"	Fromage frais à pâte homogène, ferme, salée à 2 %.	(Luquet, 1985)
Carré	Fromage frais contenant divers ingrédients ajoutés.	(Fredot, 2005).

## 5. Fabrication de fromage frais

La transformation du lait en fromage frais est un processus complexe qui comprend plusieurs étapes de fabrication et de transformations biochimiques. Cependant, ces étapes peuvent être résumées en cinq grandes étapes, comme illustré dans la figure suivante (**figure 07**).



**Figure 07 :** Les étapes de fabrication du fromage frais. (Fox, 2017).

- 1. la préparation de lait :** Différentes étapes sont effectuées pour préparer le lait sur les plans microbiologique et physicochimique. Ces étapes comprennent la filtration et le refroidissement à 4°C, le chauffage entre 60 et 65°C, la standardisation et l'écémage, ainsi que la pasteurisation à 90°C pendant 5 minutes (**Fox, 2017**).
- 2. La coagulation :** La coagulation est obtenue en acidifiant le lait avec des bactéries lactiques et en ajoutant une petite quantité d'enzyme coagulante (la présure). La température et le temps d'incubation favorisent le développement des bactéries. De plus, l'ajout de chlorure de calcium permet de renforcer la fermeté du coagulum (**Fox, 2017**).
- 3. l'égouttage :** L'égouttage est un procédé de séparation du caillé et du lactosérum, utilisant la centrifugation pour exploiter la différence de densité entre les deux (**Fox, 2017**).
- 4. le salage :** Le salage du fromage peut se faire de deux manières : par pulvérisation de sel en surface ou par immersion dans un bain de saumure. Le sel régule l'eau, ce qui impacte la croissance des microorganismes et les réactions enzymatiques. Ainsi, il joue un rôle clé dans l'amélioration du goût, des arômes et de la saveur distinctive du fromage (**Fredot, 2005**).
- 5. la conservation :** La conservation du fromage c'est avec l'utilisation normale du froid entre 0 et 2 °C (**Fredot, 2005**).



# Partie expérimentale

## I. Matériel et méthodes

### I.1. Contexte de l'étude

Ce travail a été réalisé à divers endroits. La préparation de matière végétale et tous les dosages et activités antioxydantes ont été réalisées dans le laboratoire 02 de la faculté ((SNV ))de l'université de Bouira. Les analyses physico-chimiques du yaourt et fromage frais ainsi que leur fabrication ont été effectués dans le laboratoire de l'industrie de la laiterie FAIZ LAIT qui située dans la zone industrielle Corso Cité Ben Bakhta de la Wilaya de Boumerdes.

### I.2. Matériel végétal

#### I.2.1. Récolte de l'échantillon et la préparation de la poudre végétale

Ce travail a été réalisé sur les épines de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill). Les échantillons ont été récoltés dans la région de Bouira en mois d'Avril 2023.

La récolte a été faite manuellement, sur des arbres différents. Les aiguilles de pin d'Alep ont été récupérées dans des poches en plastique pour éviter toute forme de contamination, bien nettoyé. Ils ont ensuite été séchés à l'étuve (MMMERT) à 37 °C pendant 48 h.

Après séchage, les échantillons ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique (SOKANY), puis tamisés pour assurer l'uniformité des particules afin d'avoir une poudre fine et homogène (figure 08). La poudre obtenue a été mise dans des piluliers en verre et conservées jusqu'à extraction.



**Figure 08 :** L'échantillon avant et après le broyage.



### I.3. Extraction des polyphénols des aiguilles de *P.helepis* Mill

#### 1. Extraction assistée par ultrasons

L'extraction des composés phénoliques à partir des aiguilles de pin a été effectuée à l'aide de la méthode des ultrasons.

- **Mode opératoire :** 2 g de la poudre a été mélangée avec 20 ml de solvant (éthanol à 50 %) et placé dans un bain ultrason avec des glaces pour éviter le chauffage à 35 °C pendant 10 min, avec une puissance 35 HZ (Mihai B et al ,2022).



**Figure 09 :** Extraction au bain ultrason.

- Le mélange a ensuite été filtré par papier wattman N°1. L'extrait phénolique a été ensuite mis dans des tubes coniques pour la centrifugation 5000 tr / 10 min. Le surnageant récupéré a été évaporé et lyophilisé et conservé au réfrigérateur jusqu'aux essais des dosages et des activités antioxydantes (Annexe 03 et 04).
- **Expression du rendement d'extraction**

Le taux d'extraction est défini comme le rapport entre la quantité de matière extraite après évaporation du solvant et la quantité de poudre végétale utilisée. Ce taux est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$R(\%) = (m1 - m0 / M) \times 100$$

**R (%)** : Rendement en % ;

**m0** : Masse de bécher vide ;

**m1** : Masse de bécher après évaporation

**M** : Masse de matière sèche

## **2. Détermination des taux des composés phénoliques**

### **Dosages des poly phénols totaux**

- **Le protocole**

De 0,2 ml de l'extrait aqueux ont été introduit dans un tube à essai avec un volume de 1 ml de la solution de Folin-Ciocalteu 10% a été additionné. Après 4 min d'incubation 0,8 ml de la solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7,5 % ont été ajoutées aux mélangés. Le tout a été incubé à une température ambiante pendant 30 min. La concentration des composés phénoliques dans chaque extrait a été déterminée en mesurant l'absorbance à 760 nm en utilisant la spectrophotométrie UV-Visible (OPTIZEN POP). Les résultats sont exprimés en équivalent-mg d'acide gallique /g d'extrait. (Singleton et al ,1999).

### **Dosage des flavonoïdes**

- **Le protocole.**

Un volume de 100 µl d'extrait a été additionné à 1 ml de la solution éthanolique d'AlCl<sub>3</sub> à (0,1 M). Le mélange a été incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 10 min, l'absorbance a été lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes a été déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (5-40 µg/ml). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de la quercétine par gramme de l'extrait (mg EQ/g de MS)(Besbeshlila et al, 2017).

### 3. Etude de l'activité antioxydante de l'extrait des aiguilles de pin d'Alep

- Analyse de l'activité antioxydante.

Plusieurs méthodes sont employées pour évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques des extraits. La plupart de ces méthodes reposent sur des réactions colorimétriques ou de décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans cette étude, trois méthodes ont été utilisées distinctes : le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) qui mesure le pouvoir de réduction des ions ferriques, l'évaluation de l'effet scavenger sur le radical libre DPPH, ainsi que le test ABTS+.

- ✓ **Méthode du piégeage du radical libre DPPH**

Un volume de 50 µl de chaque solution éthanolique des extraits à différentes concentrations a été additionné à 950 µl de la solution éthanolique du DPPH (60 µM). Parallèlement, un contrôle négatif a été préparé contenant 50 µl d'éthanol et 950 µl de la solution éthanolique de DPPH. La mesure de l'absorbance a été réalisée à 517 nm après une incubation de 30 minutes dans l'obscurité et à température ambiante, en comparant avec un blanc préparé pour chaque concentration. Un contrôle positif a été réalisé en utilisant une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique a été mesuré dans les mêmes conditions que les extraits. (N.Bougandoura et al ,2013).

Les résultats ont été exprimés en pourcentage (%) :

$$I \% = ((\text{Absorbance contrôle} - \text{Absorbance échantillon}) / \text{Absorbance contrôle}) \times 100$$

**I%** : le pourcentage d'inhibition ;

- **Calcul de la concentration IC<sub>50</sub> :**

La valeur de l'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice à 50 %) est utilisée pour déterminer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire de 50 % la présence des radicaux DPPH. Elle est calculée en utilisant une méthode graphique qui consiste en une régression linéaire des courbes obtenues à partir des différents pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations variées (N. Bougandoura et al ,2013).

**✓ La méthode de la réduction du fer FRAP :**

Un volume de 1 ml de l'extrait à différentes concentrations a été mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium (K<sub>3</sub>FeCN<sub>6</sub>) à 1%. Le mélange a été incubé à une température de 50 °C pendant une durée de 20 minutes, puis refroidi. Ensuite, 2,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à une concentration de 10% ont été ajoutés afin d'arrêter la réaction. Par la suite, 2,5 ml de chaque mélange additionné avec 2,5 ml d'eau distillée et 500 µl d'une solution de chlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>, 6H<sub>2</sub>O) à une concentration de 0,1%. les absorbances a été déterminée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (N.Bougandoura et al ,2013).

**✓ Test d'activité scavenger du radical ABTS<sup>+</sup>****• Mode opératoire**

Le test repose sur la réduction du radical libre ABTS\*<sup>+</sup> par des molécules antioxydantes, entraînant une décoloration du bleu-vert foncé au jaune pâle.

Un mélange d'ABTS<sup>+</sup> et de persulfate de potassium a été utilisé pour préparer une solution ABTS, qui a été conservée dans l'obscurité pendant 16 heures. La solution a ensuite été diluée jusqu'à atteindre une absorbance de 0,7 à une longueur d'onde de 734 nm.

2 ml de la solution diluée a été ajoutée à un volume de 20µl d'extrait éthanolique des aiguilles de pin d'Alep à différentes concentrations (100-1000 µg/ml) et d'autre part, à 20µl de Trolox utilisé comme standard à différentes concentrations (10-100 µg/ml). Après 6 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 734nm (Djeridane et al, 2006).

Les résultats a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup>.

Selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition(\% du ABTS}^+ = (A_c - A_e / A_c) \times 100$$

**A<sub>c</sub>** : Absorbance du contrôle après 6 minutes à 734 nm. ;

**A<sub>e</sub>** : Absorbance de l'échantillon après 6 minutes à 734 nm.

#### **4. Laits fermentés**

L'objectif de cette étude est de développer un yaourt brassé à base d'extrait et de poudre d'épines de pin, tout en étudiant leurs caractéristiques physico-chimiques. Pour mener à bien ce projet, nous avons réalisé un stage au sein de la laiterie "FAIZ Lait",

##### **Les ingrédients :**

- **L'eau de reconstitution**

La qualité de l'eau utilisée pour la reconstitution est d'une importance primordiale. Elle doit être déminéralisée afin d'éliminer toute substance pouvant entraver la croissance des bactéries lactiques. L'eau utilisée doit également respecter les normes établies par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour être considérée comme de l'eau potable. (**Soudaki. K. et al,2009**).

- **Matière première : poudres de lait**

Les poudres de lait sont des produits obtenus par l'élimination partielle de l'eau du lait. Nous pouvons classer les poudres de lait en trois groupes : la poudre de lait entier, la poudre de lait partiellement écrémé et la poudre de lait écrémé. (**Vignola.G ,2002**).

Deux types de lait en poudre, 0% et 26% ont été utilisés pour notre démarche expérimentale.

- **Sucre**

Le sucre est habituellement composé de saccharose, qui peut se présenter sous forme cristallisée (sucre cristal) ou liquide (sirop). Il joue un rôle unique dans divers aspects de la chimie humaine, de la biologie, de la nutrition, de la physiologie et de la médecine clinique (**Soudaki. K. et al ,2009**).

- **Agents de texturants**

Les épaississants, les émulsifiants et les gélifiants sont regroupés sous le terme d'agents texturants. Parmi ces agents, nous pouvons mentionner les amidons et leurs dérivés. (**Jeantet, R ,2008**).

- **Les ferments**

Les bactéries lactiques font partie d'un groupe de bactéries bénéfiques connu sous le nom de bactéries probiotiques ou bactéries bénéfiques pour la santé.

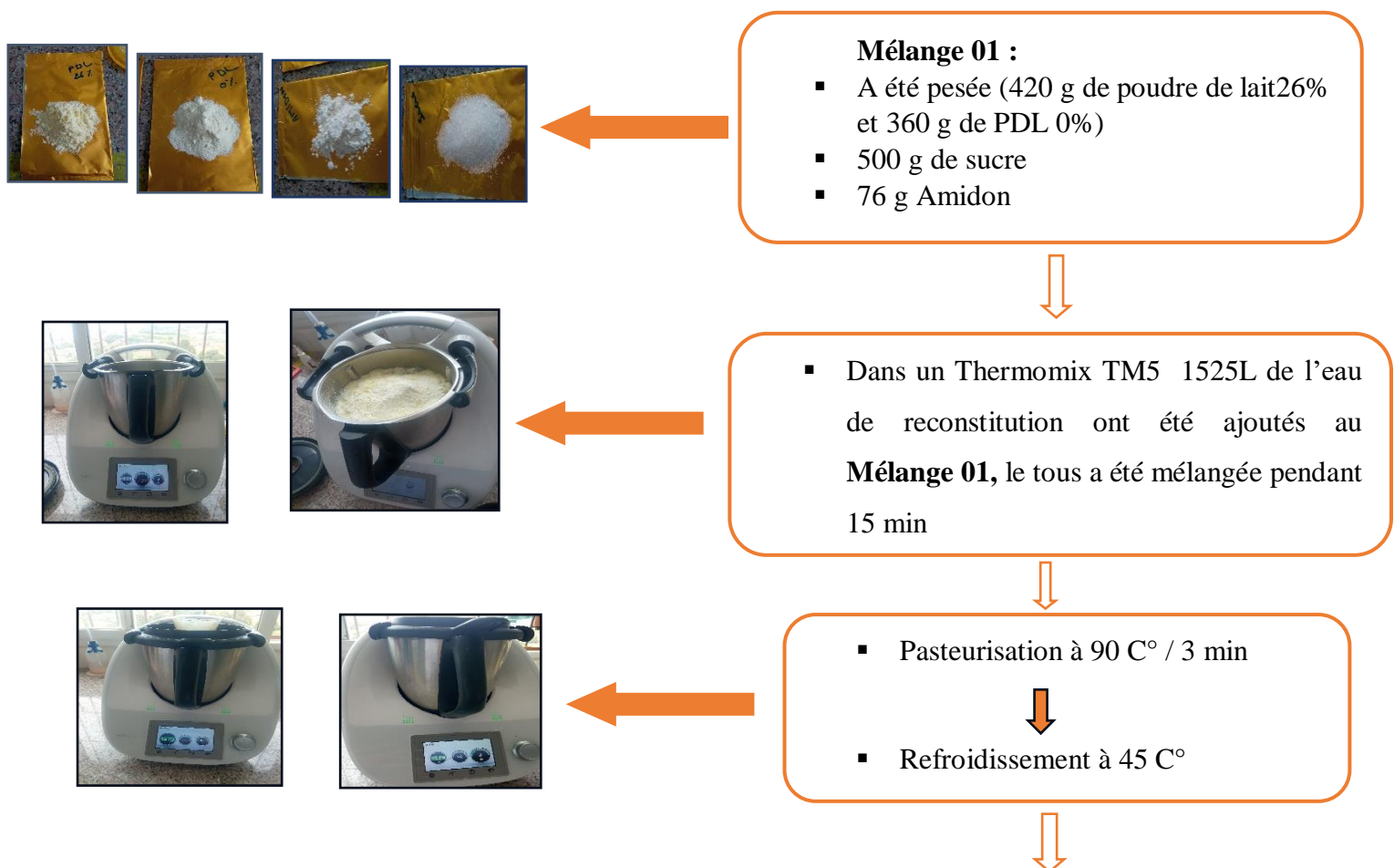
Une préparation microbienne est une formulation contenant un grand nombre de cellules microbiennes, comprenant un seul type de microorganisme ou plusieurs types, qui est ajoutée à une matière première dans le but de produire un aliment fermenté. Son rôle est d'accélérer et de diriger le processus de fermentation de l'aliment.

les levains ou ferments lactiques sont définis comme des cultures pures ou des mélanges de bactéries lactiques sélectionnées qui sont utilisés dans la production de produits fermentés tels que les yaourts, le kéfir et les fromages. (Leroy et al, 2004 ; Mäyrä-Mäkinen et al, 2004).

## 1. Préparation du yaourt a base des épines de pin

### 1.1. Incorporation de l'extrait et poudre dans un yaourt

Le yaourt est incorporé par l'extrait déjà préparé à différentes concentrations (0,5g, 1g et 1,5g) et aussi par la poudre a différentes concentration (1g, 1,5g, 2g), la préparation de yaourt incorporé est présentée dans le diagramme ci-dessous :



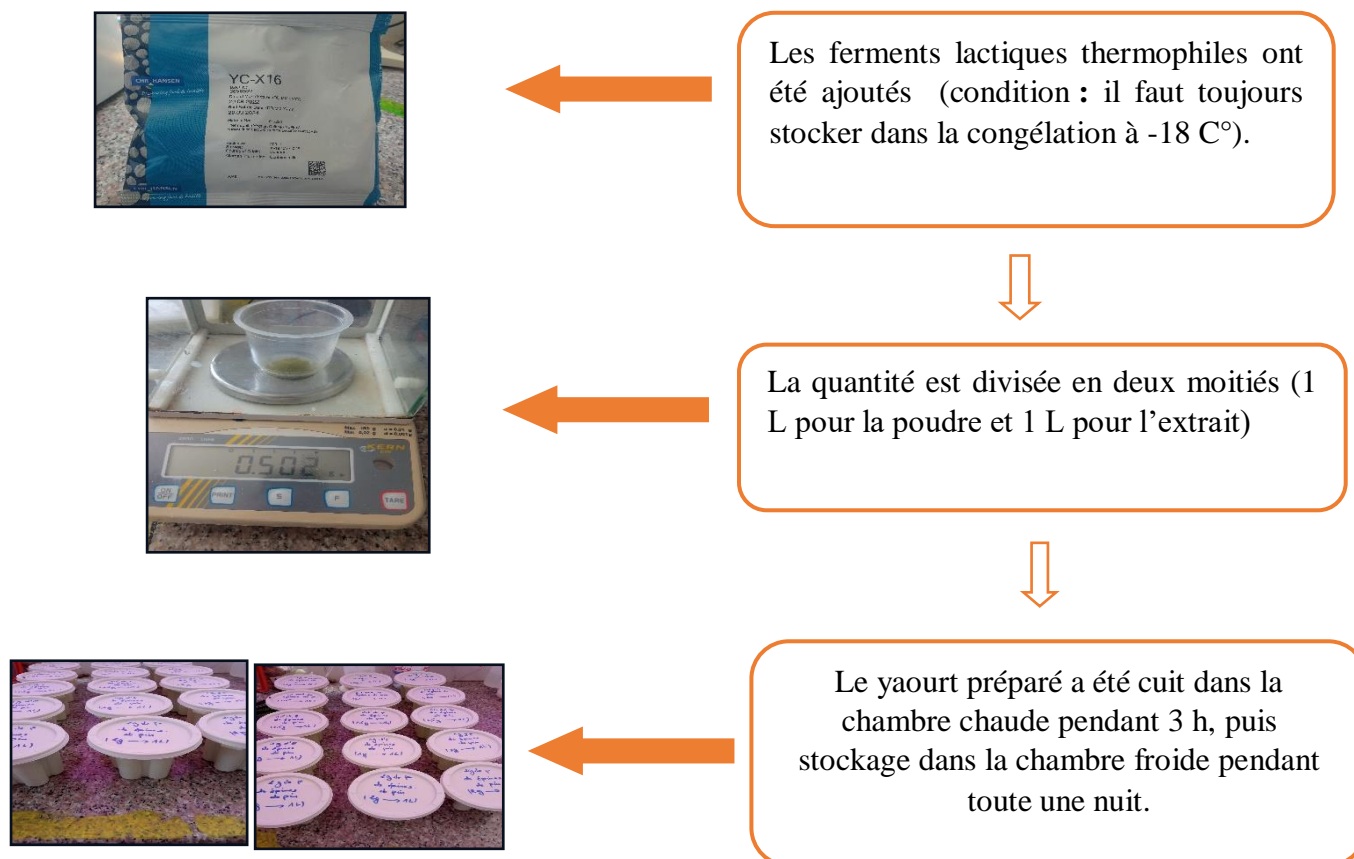


Figure 10: Démarche expérimentale de la préparation du yaourt enrichi.

## 2. Les analyses physico-chimiques du yaourt

- **Mesure de pH :**

- ✓ **Protocole**

Dans cette étude, le pH des yaourts préparés a été mesuré après leur stockage. à l'aide d'une pH mètre (STARTER 2100 /3CF) leur électrode a été plongée dans le yaourt contenu dans un bécher. Les valeurs du pH ont été affichées sur l'écran de l'appareil (**Manuel de la laiterie FAIZ LAIT**).

- **Mesure de l'acidité**

- ✓ **Protocole**

L'acidité d'un yaourt est déterminée en mesurant la quantité d'acide lactique présente à l'aide d'un titrage acido-basique. Elle est exprimée en degré Dornic (D°).



Un mélange contenant 10 g de l'échantillon a été placé dans un bécher de 50 ml. À cela, on a ajouté 10 ml d'eau distillée et trois gouttes de phénolphthaléine. Le mélange a été titré avec une solution de NaOH à 0,1 N jusqu'à ce que la couleur change. Le volume de NaOH utilisé a été noté en millilitres et les résultats sont exprimés en fonction de l'équation suivante. (**Manuel de la laiterie FAIZ LAIT**):

$$\text{Acidité titrable (g/l)} = (v \times 0,9) / m$$

**v** : Le volume en ml de la solution de soude utilisé pour le titrage.

**m** : La masse de l'échantillon (g) .

**0,09** : Le facteur de l'acide lactique.

Le degré Dornic (D°) correspond à 0,01g / l

- **Mesure de l'extrait sec et humidité**

- ✓ **Protocole**

Dans une capsule en verre bien séchée et préalablement pesée, 5 ml (5 g) de l'échantillon ont été ajoutées, puis la capsule ont été placées dans une étuve pendant 4 h à 105°C. Ensuite, la capsule est refroidie dans un dessiccateur jusqu'à atteindre la température ambiante, puis elle est pesée à nouveau. (**Manuel de la laiterie FAIZ LAIT**).

L'humidité est exprimée en pourcentage par la formule suivant :

$$H (\%) = [(p_e - p_f) / (p_e - p_0)] \times 100$$

Où

**p<sub>0</sub>** : poids de la capsule vide.

**P<sub>e</sub>** : poids, de la capsule avec l'échantillon avant dessiccation.

**P<sub>f</sub>** : poids, de la capsule avec l'échantillon après dessiccation.

La teneur en extrait sec est donnée par la formule suivante :

$$\text{EST}(\%) = 100 - H (\%)$$

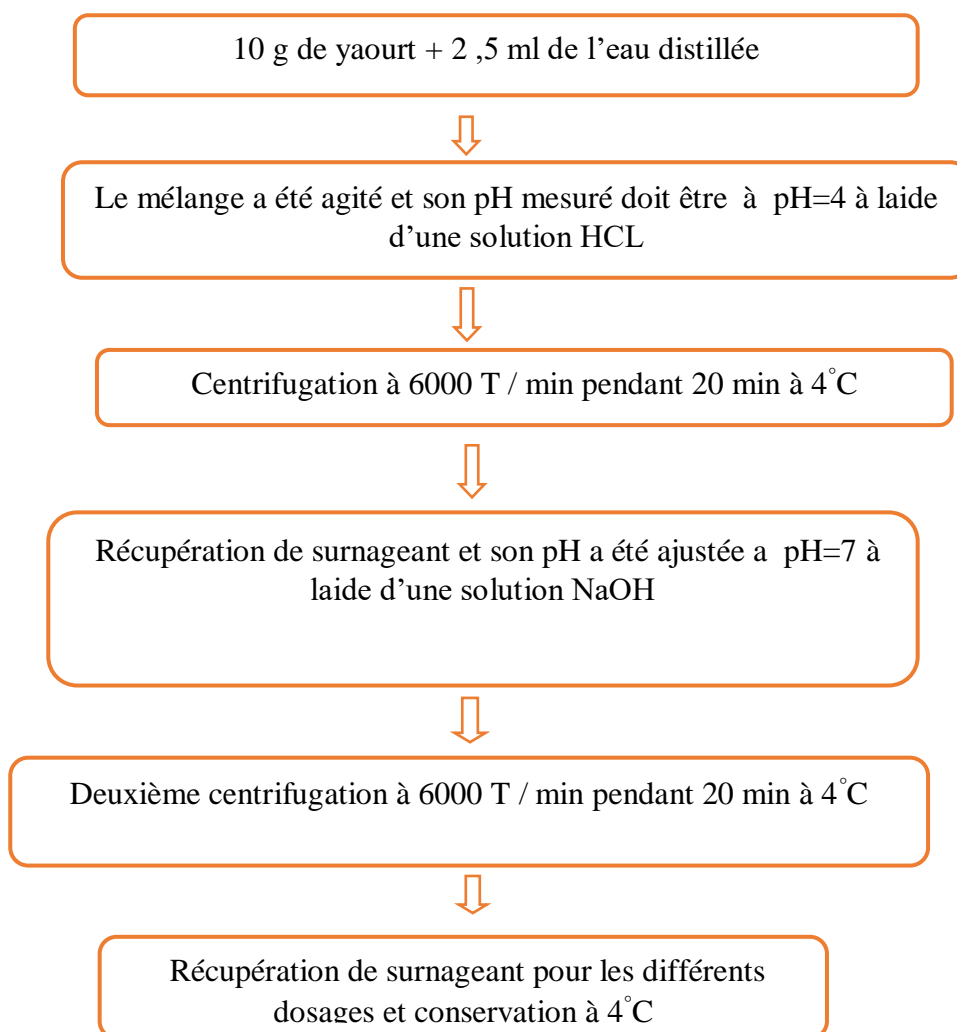


### 3. Les composés phénoliques et activités antioxydantes des extraits du yaourt

#### 3.1. Extraction des composés phénoliques

L'extraction implique le déplacement du principe actif d'une matrice vers un solvant, se produisant le long d'un gradient de concentration (Pereira et al, 2013).

- **Mode opératoire :**



**Figure 11:** Les étapes d'extraction des composés phénoliques à partir des yaourts préparés (Skergetetal, 2005).

### **3.2. Dosage des composés phénoliques du yaourt élaboré**

Les méthodes de dosage des composés phénoliques (les polyphénols totaux, flavonoïdes) ont été mentionnées dans la partie de l'extrait des épines de pin.

### **3.3. Activités antioxydantes**

Les tests du pouvoir réducteur FRAP et le test de DPPH ont été mentionnés aussi précédemment dans la partie de l'extrait des épines de pin.

## I.5. Fromage frais

### 1. Matière biologique

Dans cette étude, les épines de pin d'Alep ont été utilisées pour évaluer leur effet sur la qualité physico-chimique du fromage frais du lait en poudre. Les épines ont été ajoutés sous forme de poudre à une dose 1,25 g à la pâte du fromage lors du malaxage du caillé (**Manuel de la laiterie FAIZ LAIT**).

### 2. Fabrication du fromage frais

Le fromage frais a été préparé à partir du lait en poudre. Une quantité de 2 L du lait a été utilisée pour assurer la préparation d'une quantité de 1Kg du fromage frais, selon le diagramme de fabrication en dessous (**Manuel de la laiterie FAIZ LAIT**) :



**Figure 12:** Diagramme de fabrication du fromage frais avec des épines de pin d'Alep.

### 3. Caractéristiques physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques ont été réalisées selon les normes algériennes publiées dans le journal officiel de la république Algérienne.

### □ Mesure du pH

Une quantité de 10g de fromage frais homogénéisée a été utilisée pour mesurer le potentiel d'hydrogène à l'aide d'un pH-mètre (STARTER 2100 /3CF) ( **Manuel de la laiterie FAIZ LAIT** ).

### □ Mesure de l'extrait sec et humidité

L'extrait sec est le résidu sec obtenu après dessiccation à l'étuve à 105°C de la prise d'essai de 3 g du fromage jusqu'à l'obtention d'un poids constant (figure 13). Elle est exprimée en pourcentage selon la formule suivante (**Manuel de la laiterie FAIZ LAIT**):

Dont :

$$\text{Matière sèche (\%)} = [(p2 - p0) / (p1 - 0)] \times 100$$

P0 : Poids de la capsule vide

P1 : Poids de la prise d'essai avant dessiccation

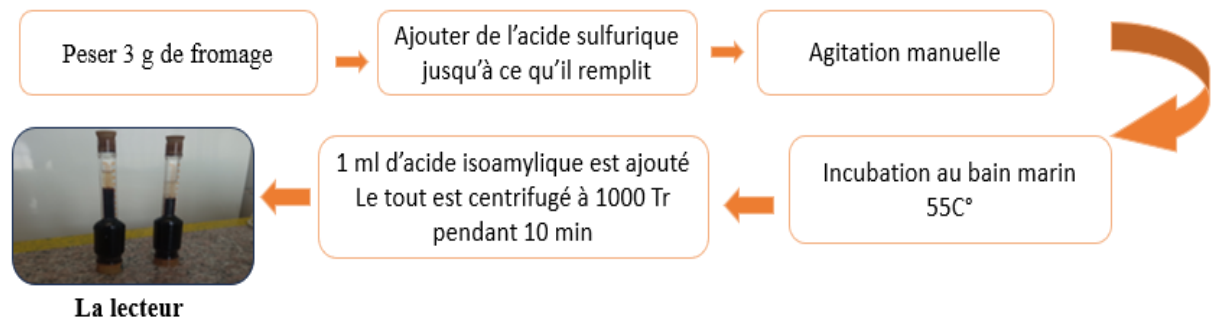
P2 : Poids de la prise d'essai après dessiccation



**Figure 13:**L'extrait sec.

### □ Mesure de Matière grasse

La matière grasse a été réalisée selon le protocole suivant (figure 14) :



**Figure 14** : Les étapes pour la détermination de la matière grasse de fromage (**Manuel de la laiterie FAIZ LAIT**).



## Résultats et Discussion

---

## II .Résultats et discussion

### 1 .Extraction, dosage des polyphénols / flavonoïdes et évaluation de l'activité antioxydante

#### 1.1 Le rendement d'extraction

Le choix de la technique et du solvant d'extraction sont des étapes importantes pour obtenir des extraits présentant des rendements élevés avec une bonne activité antioxydante. Dans cette étude, le rendement (l'extrait sec obtenu après l'évaporation du solvant contenant les principes actifs) a été déterminé par rapport à 38 g de la matière végétale (aiguilles de pin d'Alep) en utilisant une méthode d'ultrasons avec un mélange éthanol/eau 50:50 (v/v) pendant 10 min a donné un rendement d'extraction de 53,46%. Ce taux d'extraction est supérieur à celui rapporté par (Hani Insaf, 2022) est 17,58% à partir des techniques conventionnelles avec le méthanol 70% pendant 24h.

Cette différence peut être due à la différence de techniques utilisées et aux conditions d'extraction donc les méthodes d'extraction modernes présentent plusieurs avantages par rapport aux méthodes traditionnelles. Ils permettent souvent d'obtenir des rendements d'extraction plus élevés, ce qui implique qu'une plus grande quantité de composés souhaités peut-être extraite en utilisant moins de solvant et sont généralement plus rapides.

Ce résultat suggère initialement une présence abondante de métabolites secondaires et de composés phénoliques dans les aiguilles de pin d'Alep.

#### 1.2. Teneur en polyphénols totaux

La concentration des polyphénols totaux de l'extrait brut des épines du pin a été déterminée grâce à l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage (Annexe01) suivante :

$Abs = 0,0068x + 0,2023$ . La teneur des polyphénols est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

Nous résultats montrent que l'extrait des épines de pin à Ethanol 50:50 contient une teneur  $87,36 \pm 7,033$  mg EAG/g. Cette valeur est inférieure à celle rapportée par (Hani Insaf, 2022) qui ont démontré que les épines de pin contiennent des teneurs en polyphénols totaux allant de  $317,2 \pm 16,4$  µg EAG/mg. De plus, (So Jung Kim et al, 2017) de différentes régions de la Corée ont rapporté une teneur en polyphénols totaux estimée à 156,6 mg EAG/g MS supérieure aussi à celle trouvée dans la présente étude.

---

Selon les études effectuées par (Kadri et al., 2014) sur les graines de *Pinus halepensis* Mill (pin algérien), les concentrations en polyphénols totaux découvertes dans l'extrait méthanolique (à 50%) s'élèvent à 3,71 mg EAG/g d'extrait. Cette valeur est inférieure à celle observée dans nos extraits à base de 50% d'éthanol. Ces disparités pourraient être attribuées aux différentes variétés de pins utilisées, à leur origine et aux conditions environnementales, ainsi qu'aux méthodes et aux solvants d'extraction appliqués.

### 1.3. les teneur en flavonoïdes

La concentration en flavonoïdes de l'extrait brut des épines du pin a été déterminée grâce à l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage (**Annexe 02**) suivante :

$y = 0,0134x + 0,0239$ . La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent quercitrine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

Nos résultats montrent que l'extrait des épines de pin à ethanol 50:50 contient une teneur en flavonoïdes de  $5,912 \pm 0,062$  mg EQ/g MS.

**Hani Insaf (2022)** a estimé une teneur en flavonoïdes de  $242,08 \pm 2,1$  µg EQ/mg MS, supérieure à celle indiquée dans la présente étude. L'éthanol reste le solvant le plus efficace d'extraction des flavonoïdes et l'extraction à chaud est préférée dans ce cas.

Les conditions d'extraction, l'origine des échantillons et la méthode de conservation des plantes peuvent avoir un impact sur le taux en polyphénol et en flavonoïde (**Mekni et al, 2018**).

Dans cette étude, nous avons suivi les étapes suivantes : après avoir séché les aiguilles à l'air libre, nous les avons broyées et tamisées afin d'obtenir une poudre aussi fine que possible. Cela permet d'augmenter la surface de contact avec le solvant et d'améliorer le rendement de l'extraction. Il est important de noter que le taux d'extraction des principes actifs est inversement proportionnel à la taille des particules obtenues après le broyage.

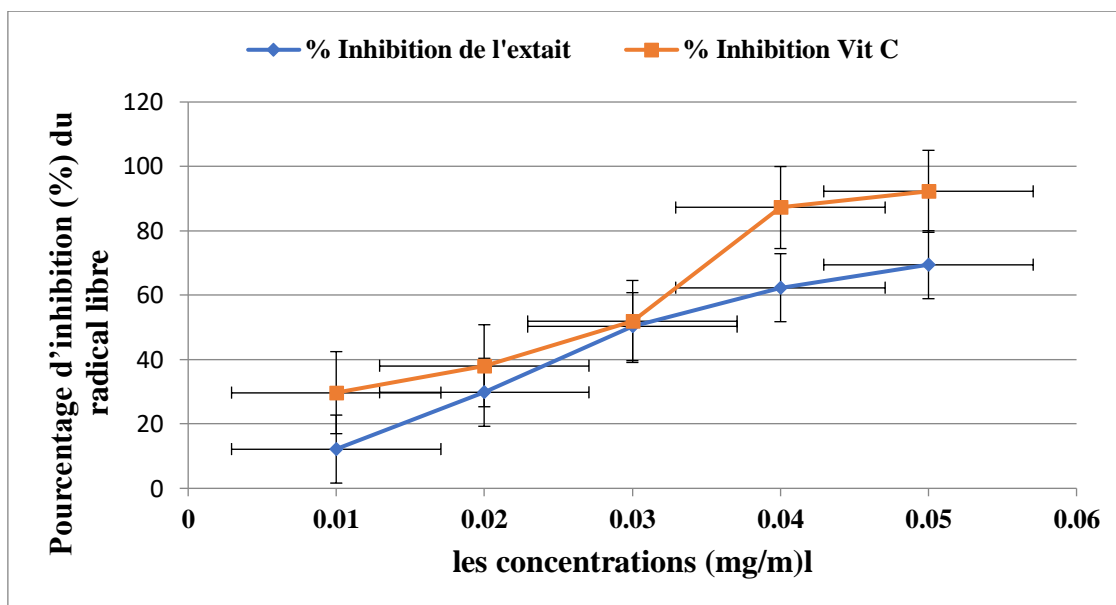
### 1.4. Evaluation de l'activité antiradicalaire DPPH

Le test au DPPH est une méthode couramment utilisée pour évaluer l'activité antiradicalaire des extraits de plantes. Le pourcentage de piégeage du radical libre DPPH est déterminé en mesurant le rapport d'absorbance à 517 nm entre le mélange réactionnel contenant le radical libre et l'extrait testé à différentes concentrations, par rapport à l'absorbance du radical libre seul. La capacité antiradicalaire d'un composé est souvent exprimée par l'indice "IC50", qui représente la concentration de l'extrait nécessaire pour neutraliser 50% du DPPH impliqué.



La capacité antiradicalaire de l'extrait est inversement proportionnelle à son IC50, ce qui signifie que plus l'IC50 est faible, plus l'activité antiradicalaire de l'extrait est élevée.

Dans cette présente étude, la vitamine C a été utilisée comme antioxydant de référence. Nous avons établi les courbes du pourcentage d'inhibition du radical libre (**Figure15**), puis les valeurs des IC50 relatives à l'extrait brut des épinettes de pin et de la référence utilisée.



**Figure 15 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre de l'extrait des épinettes de pin et l'antioxydant de référence (Acide ascorbique).

D'après nos résultats, l'extrait brut des épinettes de pin d'Alep a montré une capacité antiradicalaire, exprimée en IC50, de 0,029 mg/ml. Cette capacité antiradicalaire est comparable à celle de la vitamine C, qui présente une valeur d'IC50 estimée à 0,028 mg/ml, ce qui confère à l'acide ascorbique le statut d'antioxydant le plus puissant. Cela suggère que l'extrait des épinettes de pin peut être une source prometteuse d'antioxydants naturels.

Une étude a démontré que la plus faible IC50 est notée chez l'extrait méthanolique avec une IC50 de  $(4,93 \pm 0,85 \mu\text{g/ml})$  pour l'extrait aqueux des aiguilles (**Hani Insaf, 2022**).

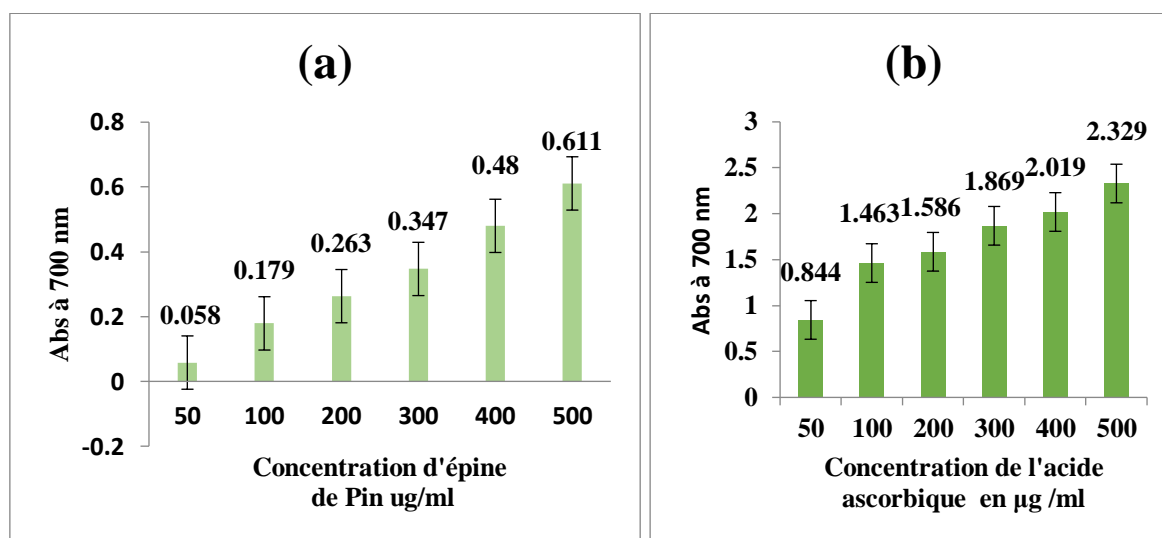
Il convient de noter que la capacité antiradicalaire d'un extrait dépend de nombreux facteurs, tels que la méthode d'extraction, l'origine des échantillons et la composition chimique spécifique de l'extrait.

En conclusion, les résultats obtenus démontrent que l'extrait brut des épines de pin présente une activité antiradicalaire significative, comparable à celle de l'acide ascorbique. Cela suggère que cet extrait peut être utilisé comme source naturelle d'antioxydants et ouvre des perspectives intéressantes pour son application potentielle dans divers domaines.

### 1.5. Évaluation de l'activité de la réduction du fer FRAP

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cet essai est à la fois simple, rapide et reproductible (Benzie et al, 1996), et il peut être utilisé de manière universelle, que ce soit pour les plantes, les plasmas ou les extraits organiques et aqueux (LI, Hua-Bin et al, 2008).

En présence de réducteur dans les extraits de plantes, ceux-ci provoquent la réduction du complexe ferricyanure de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$ . Par conséquent, la quantité de  $Fe^{2+}$  peut être évaluée en mesurant et surveillant l'augmentation de l'intensité de couleur bleue dans le milieu réactionnel, à une longueur d'onde de 700 nm. (Chung, 2002). Les résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur sont représentés dans la figure suivante :



**Figure 16:** Variation des absorbances de l'activité réductrice de  $Fe^{3+}$  pour différentes concentrations de l'extrait éthanolique des épines de pin (a) et de l'acide ascorbique (b).

Selon les résultats obtenus dans cette étude, nous avons observé que la capacité réductrice de  $Fe^{3+}$  représente une corrélation linéaire avec la concentration, que ce soit pour l'acide ascorbique ou l'extrait des épines de pin.

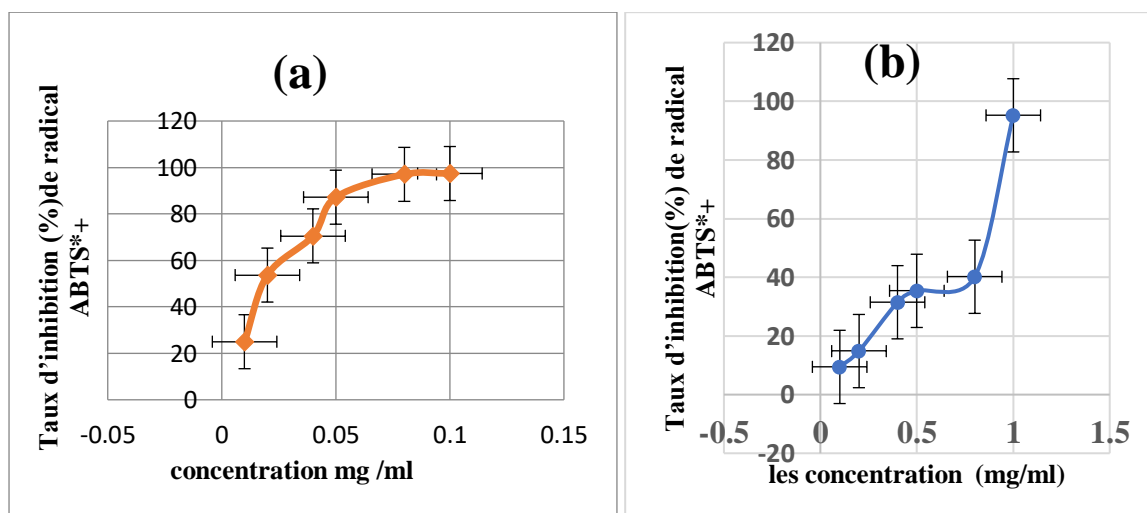
En comparant le pouvoir réducteur de l'extrait des épinettes de pin à celui de l'acide ascorbique, nous avons constaté qu'à une concentration de 500 µg/ml, l'acide ascorbique a enregistré une absorbance de 2,329, tandis que l'extrait présente une absorbance de 0,611 et qui est inférieure à celle de la vitamine c.

Les variations du pouvoir réducteur entre l'acide ascorbique et l'extrait peuvent être attribuées à la composition quantitative et qualitative des antioxydants présents dans les épinettes de pin d'Alep. Il est possible que l'extrait des épinettes de pin contienne des antioxydants différents de l'acide ascorbique, ce qui peut expliquer la différence d'efficacité dans la réduction du  $Fe^{3+}$ . La présence de différents composés antioxydants dans l'extrait des épinettes de pin peut également influencer la capacité réductrice observée.

Ces résultats suggèrent que les épinettes de pin peuvent être une source potentielle d'antioxydants ayant une activité réductrice du  $Fe^{3+}$ .

### 1.6. Pouvoir anti-radical cation ABTS<sup>•+</sup>

Le test ABTS est couramment utilisé pour évaluer la capacité antioxydante des aliments, des boissons et des compléments alimentaires. Il se base sur la capacité des antioxydants à éliminer le radical cation stable ABTS<sup>•+</sup>, un chromophore bleu-vert qui présente une absorbance maximale à 734 nm. En présence d'antioxydants, l'intensité de cette absorbance diminue. Les résultats obtenus concernant l'effet piègeur de l'ABTS sont exprimés en termes des taux d'inhibitions. Sont représentés dans la figure suivante :



**Figure 17 :** les taux d'inhibition de radical ABTS<sup>•+</sup> à différentes concentrations de Trolox (a) et de l'extrait éthanolique des épinettes de pin (b).

---

Selon ces résultats, que ce soit pour le Trolox ou pour l'extrait de plante, nous avons observé que l'activité antiradicalaire varie en fonction de la concentration. À une concentration de 100 µg/ml, le taux d'inhibition du radical ABTS pour le Trolox est de 97,40%, tandis que pour l'extrait il est seulement de 9,44%. En revanche, pour l'IC50, celle de l'extrait de plante est supérieure à celle de Trolox. En effet, l'IC50 pour le Trolox est de 80 µg/ml, alors que pour l'extrait des épines de pin d'Alep à 800 µg/ml.

Les résultats représentés dans la (figure 18 ) confirment que l'extrait éthanolique des épines de pin d'Alep contient des composés antioxydants qui sont capables de réduire le radical ABTS<sup>+</sup>. Cette propriété antioxydante de l'extrait indique sa capacité à neutraliser le radical libre, ce qui est bénéfique pour la santé.

Cette différence d'efficacité entre le Trolox et l'extrait de plante souligne le potentiel antioxydant de l'extrait des épines de pin d'Alep. Les composés présents dans cet extrait ont démontré une capacité significative à réduire l'activité du radical ABTS, ce qui indique leur potentiel en tant qu'antioxydants.

Ces résultats démontrent que l'extrait de plante pourrait être une alternative intéressante au Trolox en termes d'activité antioxydante. Il est important de noter que l'IC50 plus élevé pour l'extrait de plante indique que des concentrations plus élevées de cet extrait peuvent être nécessaires pour obtenir le même effet inhibiteur que le Trolox.

En comparant les résultats de (**ThamizhiniyanVenkatesan et al, 2019**) sur l'IC50 d'extrait éthanolique (60%) des aiguilles de pin (*Pinus densiflore*) de Corée du Sud qui est de l'ordre de 9,12±0,43mg/mL, nous constatons que cette IC50 est supérieure à notre extrait. Cependant, si nous comparons nos résultats avec ceux menée par (**Stephanie et al,2009**) sur l'activité inhibitrice du radical ABTS<sup>+</sup> de l'extrait d'écorce de pin maritime, qui présente un taux d'inhibition de 76,71%, notre extrait éthanolique des épines de pin d'Alep présente une faible activité antioxydante. Le taux d'inhibition de notre extrait de plante est seulement de 9,44% à une concentration de 100 µg/ml.

Ces résultats suggèrent que l'extrait d'écorce de pin est plus efficace en termes d'activité antioxydante que notre extrait éthanolique des épines de pin d'Alep. Il est important de noter que les résultats peuvent varier en fonction des parties de la plante utilisées (écorce ou épines), à la différence des espèces, la région ainsi que des conditions d'extraction et des spécificités de chaque étude.

En conclusion, bien que notre extrait éthanolique des épines de pin montre une activité antioxydante plus faible par rapport à l'extrait d'écorce de pin maritime, il reste bénéfique dans diverses applications, notamment dans l'industrie alimentaire ou les produits de santé naturels.

## 2. Analyses physico-chimiques du yaourt enrichi en extrait ou en poudre

### 2.1. Les valeurs du pH

Les résultats du potentiel hydrogène, sont présentés dans le **tableau 06**.

L'analyse statistique révèle qu'il n'existe aucune différence significative  $p < 0,05$  entre les yaourts enrichis en extrait et en poudre, quelle que soit la concentration utilisée.

**Tableau V** : Mesure de pH des yaourts élaborés

Yaourt (Extrait)	Ph	Yaourt (Poudre)	pH
Témoin (0%)	4.50	Témoin (0%)	4.50
EchA <sub>E</sub> (0.5%)	4.33±0.00 <sup>a</sup>	Ech A <sub>P</sub> (1%)	4.30±0.00 <sup>a</sup>
Ech B <sub>E</sub> (1%)	4.34±0.00 <sup>a</sup>	EchB <sub>P</sub> (1.5%)	4.32±0.00 <sup>a</sup>
Ech C <sub>E</sub> (1.5%)	4,37±0.01 <sup>a</sup>	Ech C <sub>P</sub> (2%)	4.31±0.00 <sup>a</sup>
Norms (JORA)	4.30-4.80	Norms (JORA)	4.30-4.80

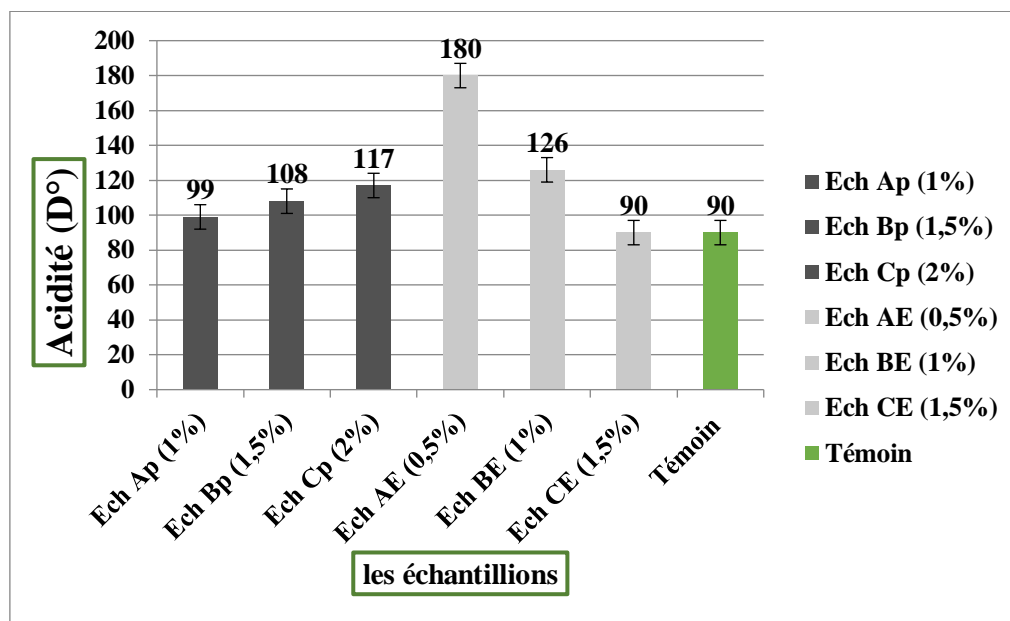
Les niveaux de pH des produits analysés pour les six recettes avec différentes concentrations sont similaires, se situant entre 4,30 et 4,37, mais elles sont inférieures par rapport au pH du yaourt témoin. Ces résultats sont dans les normes requises par l'entreprise.

Effectivement, la présence des épines de pin d'Alep (sous forme de poudre ou d'extrait) dans les différentes recettes peut expliquer les valeurs de pH qui sont inférieures à celles du yaourt témoin. Les épines de pin sont reconnues pour leur contenu en acides organiques tels que l'acide citrique, l'acide malique et l'acide tartrique (Nahal, 1962), qui sont des composés acidifiants. Lorsqu'ils sont ajoutés aux recettes, ces acides organiques peuvent diminuer le pH global du produit.

La présence des épines de pin peut apporter un goût légèrement acide ou une saveur distinctive aux produits. Cela peut être une caractéristique recherchée, en fonction des préférences des consommateurs ou des exigences du marché ciblé. Les normes de l'entreprise peuvent être établies en tenant compte de ces considérations et de la contribution des épines de pin à l'acidité du produit final. Nos valeurs sont similaires à celles signalés par (El Mercan ,2017) pour les yaourts à base de miel de pin et qui variaient de 4,25 à 4,32.

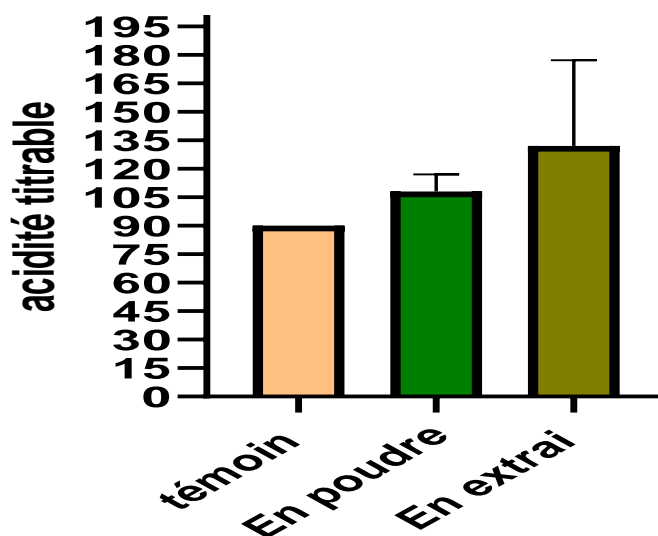
## 2.2. L'acidité titrable (l'acidité Dornic)

L'acidité Dornic est utilisée comme Marqueur de l'activité microbienne qui convertit le lactose présent dans le lait en acide lactique organique. Les résultats des différents échantillons de yaourt à base de poudre et d'extrait des épines sont présents dans la figure suivante :



**Figure 18:** Evaluation de l'acidité Dornic des yaourts enrichis en épines de pin

Le test de ANOVA révèle une différence très significative  $p < 0,05$  entre le yaourt élaboré (figure 20)



**Figure 19 :** La différence entre l'acidité Dornic des deux yaourts enrichis en épines de pin

Selon les normes algériennes du Journal Officiel concernant les produits laitiers, nos yaourts enrichis en poudre avec une concentration de 1% et en extrait avec une concentration de 1,5% respectent les normes car leur acidité est supérieure à 80 D° et n'excède pas 100 D°.

Les résultats montrent que les échantillons de yaourt enrichis en poudre d'épines de pin d'Alep présentent une acidité croissante avec l'augmentation de la concentration. L'échantillon A, avec une concentration de 1%, a une acidité Dornic de 99 D°, tandis que l'échantillon B (1,5%) affiche une acidité de 108 D°, et l'échantillon C (2%) atteint 117 D°. Ces résultats indiquent que l'ajout de poudre d'épines de pin influence positivement l'acidité du yaourt.

En effet, il est intéressant de noter que l'acidité augmente de manière significative lorsque l'extrait d'épines de pin est utilisé au lieu de la poudre. Par exemple, l'échantillon A, avec seulement 0,5% d'extrait d'épines de pin, présente une acidité Dornic de 180 D°, ce qui est beaucoup plus élevé que les échantillons avec de la poudre d'épines de pin. Cela suggère que l'extrait d'épines de pin a un effet plus prononcé sur l'acidité du yaourt que la poudre.

Néanmoins, il est important de comparer ces résultats à celui du témoin dont une acidité Dornic de 90 D° a été enregistrée. Nous avons aussi remarqué que certains échantillons enrichis en extrait d'épines de pin, tels que l'échantillon C (1,5%), présentent une acidité similaire au témoin, tandis que d'autres, comme l'échantillon A (0,5%), ont une acidité beaucoup plus élevée. Cela pourrait indiquer que la concentration d'extrait d'épines de pin utilisée joue un rôle dans la modification de l'acidité.

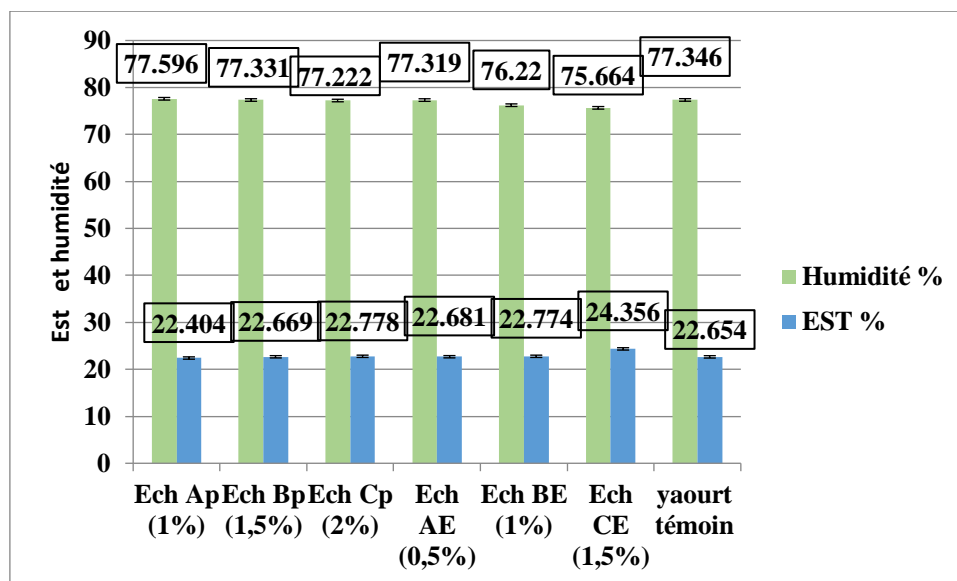
Il y'a une relation complexe entre la concentration de la poudre ou de l'extrait d'épines de pin et l'acidité résultante du yaourt. Il serait intéressant d'approfondir cette étude en évaluant d'autres paramètres de qualité du yaourt, tels que la texture et le goût, pour déterminer l'impact global de l'enrichissement en épines de pin.

En conclusion, ces résultats suggèrent que l'ajout de poudre ou d'extrait d'épines de pin peut influencer l'acidité du yaourt, et que la concentration et la forme d'utilisation de ces ingrédients jouent un rôle important.

### 2.3. Extrait Sec et humidité (EST)

L'extrait sec correspond à la proportion de substances qui reste après avoir complètement desséché l'échantillon. Elle est généralement exprimée en pourcentage ou en g/l (Nongonierma et al, 2006).

Les résultats sont présentés dans la figure suivant :



**Figure 20 :** Résultats de taux d'humidité et de la teneur des différents échantillons de yaourt en extrait sec.

Le test ANOVA révèle qu'il n'existe aucune différence significative  $p < 0,05$  entre les yaourts élaborés et le témoin.

Des variations sont observées dans ces valeurs en fonction de la concentration et du type d'enrichissement utilisé. Le yaourt témoin présente des valeurs d'humidité et d'extrait sec similaires aux échantillons enrichis en poudre d'épines de pin. Cela suggère que l'ajout de poudre d'épines de pin n'a pas un impact significatif sur la teneur du yaourt en eau.

Cependant, les échantillons enrichis en extrait d'épines de pin ont enregistré des taux d'humidité plus inférieurs et des taux d'extrait sec plus élevés, en particulier pour l'échantillon C (1,5%). Cela indique que l'ajout d'extrait d'épines de pin contribue à une plus grande concentration de substances solides dans le yaourt, ce qui peut potentiellement affecter la texture et la consistance du produit final.



Les résultats de notre étude sur la teneur en matière sèche dans nos yaourts enrichis en poudre d'épines de pin sont supérieurs à ceux rapportés par (**Amellal-Chibane ,2008**) pour les yaourts à base de poudre de dattes, qui étaient compris entre 20,64% et 21,39%.

De même, nos résultats sont également supérieurs à ceux signalés par (**El Mercan, 2017**) pour les yaourts à base de miel de pin, qui étaient compris entre 12% et 18,06%. Cette différence peut s'expliquer par les variations dans les compositions des ingrédients utilisés et les procédés de fabrication spécifiques à chaque étude.

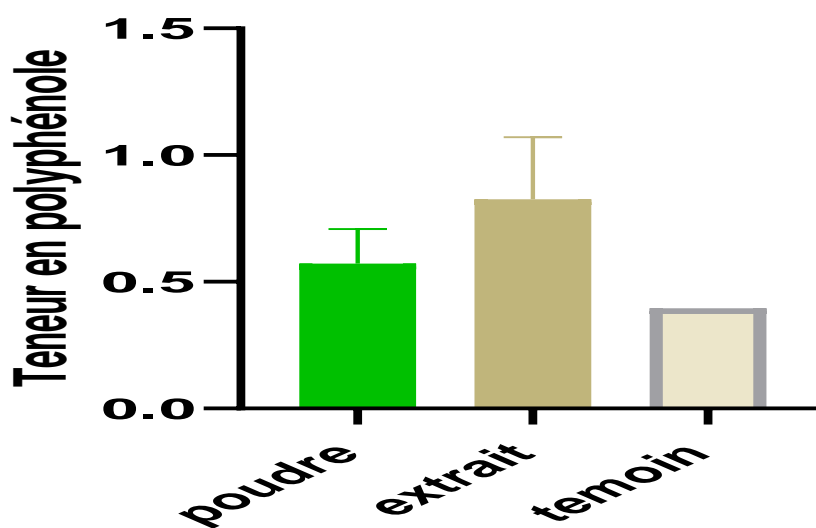
### 3. Composés phénoliques contenus dans le yaourt

#### 3.1. Teneur en polyphénols totaux

**Tableau VI** : les teneurs en composés phénoliques totaux dans les yaourts élaborés

<b>Les échantillons</b>	<b>Polyphénols mgEAG/g</b>
<b>EchAp (1%)</b>	<b>0,415 ± 0,002<sup>a</sup></b>
<b>EchBp (1,5%)</b>	<b>0,626±0,003<sup>a</sup></b>
<b>Ech Cp (2%)</b>	<b>0,673±0,003<sup>a</sup></b>
<b>Ech AE (0,5%)</b>	<b>0,552±0,006<sup>b</sup></b>
<b>Ech BE (1%)</b>	<b>0,906±0,002<sup>b</sup></b>
<b>Ech CE (1,5%)</b>	<b>1,020±0,002<sup>b</sup></b>
<b>Yaourt témoin</b>	<b>0,396±0,013a<sup>b</sup></b>

Le test de ANOVA démontre une différence très significative  $p < 0,05$  entre les yaourts élaborés (**Figure 21**).



**Figure 21** : Teneur des yaourts élaborés en composés phénoliques totaux.

Ces résultats indiquent les taux de polyphénols présents dans chaque échantillon de yaourt. Une augmentation progressive des taux de polyphénols a été observée avec une concentration plus élevée d'épines de pin, que ce soit sous forme de poudre ou d'extrait. L'échantillon C, avec une concentration de 1,5% d'extrait d'épines de pin, présente le taux de polyphénols le plus élevé. Comparativement, le yaourt témoin présente un taux de polyphénols inférieur. Ces résultats suggèrent que l'enrichissement en épines de pin d'Alep peut augmenter la teneur du yaourt en polyphénols, ce qui peut potentiellement apporter des avantages et des effets bénéfiques pour la santé en raison des propriétés antioxydantes associées aux polyphénols.

La supériorité des teneurs en polyphénols dans les yaourts enrichis en extrait d'épines de pin par rapport à ceux enrichis en poudre d'épines de pin peut être expliquée par plusieurs facteurs telle que la concentration des polyphénols (l'extrait d'épines de pin a été obtenu à partir d'un processus d'extraction qui vise à concentrer les composés bioactifs, par contre la poudre d'épines de pin, qui est obtenue par un broyage). Cependant, les polyphénols présents dans l'extrait d'épines de pin peuvent avoir une meilleure solubilité dans la phase liquide du yaourt, ce qui facilite leur incorporation dans le produit final. En revanche, les polyphénols contenus dans la poudre d'épines de pin peuvent avoir une solubilité limitée dans le yaourt, ce qui peut entraîner une libération moins efficace des polyphénols et donc des teneurs plus faibles dans les yaourts enrichis avec la poudre des épines de pin.

Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés par (El Mercan, 2017) entre 16,3 et 18,5 mg GAE/g ) qui ont enrichi leur yaourt avec 3% de miel de pin .

### 3.2. Teneur en flavonoïde

Les résultats des deux yaourts élaborés en flavonoïdes sont présentés dans le tableau suivant

**Tableau VII : Teneur des yaourts élaborés en flavonoïdes**

les échantillons	flavonoïde mg EQ/ml
EchA <sub>p</sub> (1%)	0,014±0,000 <sup>a</sup>
EchB <sub>p</sub> (1,5%)	0,037±0,003 <sup>a</sup>
Ech C <sub>p</sub> (2%)	0,052±0,013 <sup>a</sup>
Ech AE (0,5%)	0,022±0,001 <sup>b</sup>
Ech BE (1%)	0,026±0,000 <sup>b</sup>
Ech CE (1,5%)	0,0575±0,000 <sup>b</sup>
Yaourt témoin	0,007±0,007 <sup>ab</sup>

Les échantillons de yaourt enrichis en poudre d'épines de pin (A, B et C) montrent une augmentation progressive des teneurs en flavonoïdes avec une concentration croissante de poudre d'épines de pin. Cela suggère que l'ajout de poudre à ces concentrations contribue à augmenter les taux de flavonoïdes dans le yaourt.

Les échantillons de yaourt enrichis en extrait d'épines de pin (A, B et C) présentent également une augmentation des teneurs en flavonoïdes avec une concentration croissante d'extrait d'épines de pin. Cependant, il convient de noter que l'échantillon Ech C avec 1,5% d'extrait semble avoir une teneur en flavonoïdes plus élevée que les autres échantillons.

En Comparant aux échantillons enrichis en poudre ou en extrait d'épines de pin, le yaourt témoin présente une teneur en flavonoïdes plus faible. Cela suggère que l'enrichissement du yaourt avec de la poudre ou de l'extrait d'épines de pin a un impact positif sur les taux de flavonoïdes et nous renseigne sur l'efficacité de l'enrichissement et l'incorporation des flavonoïdes contenus dans la poudre et l'extrait des épines de pin d'Alep.

Les valeurs les plus élevées obtenues dans notre étude actuelle (0,0575±0,000<sup>b</sup> et 0,052±0,013<sup>a</sup> mg/ml) sont supérieures à celles rapportées par (Fatih Brahim et al,2022) (0,036±0,03 mg/ml). Ils ont enrichi leur yaourt avec 3% d'extrait de pomme de terre.

## 4. Activité antioxydant du yaourt

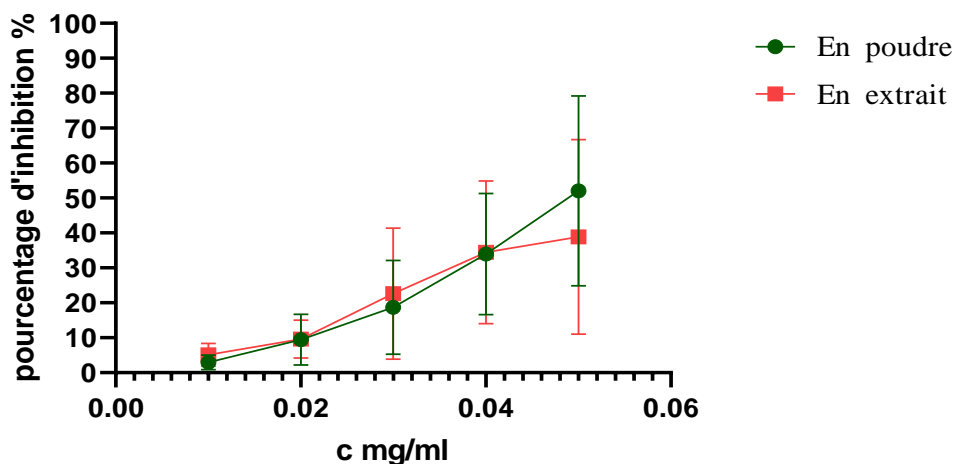
### 4.1. Evaluation de l'activité antiradicalaire (DPPH)

Les résultats ont été exprimés en IC50 (tableau VIII).

**Tableau VIII** : Les valeurs de l'IC50 des yaourts élaborés.

Échantillon	Poudre			Extrait			Témoin	VC
	1%	1,5%	2%	0,5%	1%	1,5%		
Concentration	1%	1,5%	2%	0,5%	1%	1,5%	0%	
IC50 ug /ml	-	42	42	-	-	43	-	28
Taux d'inhibition%	21,44±0,00	61,29±0,00	73,41±0,00	10,88±0,00	49,50±0,00	59,83±0,00	-	92,26±0,00

Le test ANOVA a montrée une différence significative  $p < 0,05$  entre les yaourts élaboré (Figure 22).



**Figure 22** : Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les composés actifs des deux yaourts élaborés.

Les échantillons de yaourt enrichis en poudre d'épines de pin à des concentrations de 1,5% et 2% ont montré une activité antiradicalaire mesurable avec des valeurs d'IC50 de 42 ug/ml. Cela suggère que l'ajout de poudre d'épines de pin à ces concentrations contribue à une activité antiradicalaire efficace, nécessitant des concentrations relativement faibles de l'échantillon pour inhiber l'activité radicalaire.

L'échantillon de yaourt enrichi en extrait d'épines de pin à une concentration de 1,5% a également présenté une activité antiradicalaire avec une valeur d'IC50 de 43 ug/ml.

Bien que légèrement plus élevée que les échantillons enrichis en poudre d'épines de pin, cette valeur indique toujours une activité antiradicalaire significative de l'échantillon.

Les autres échantillons, y compris le yaourt témoin et certains échantillons enrichis en extrait d'épines de pin à des concentrations plus faibles, ont montré des résultats négatifs pour l'activité antiradicalaire, nous remarquons alors que le yaourt enrichi montre un pourcentage d'inhibition positive que le yaourt témoin, mais ces résultats restent inférieurs à ceux de l'acide ascorbique. Ce qui suggère qu'ils n'ont pas inhibé de manière significative le radical DPPH dans les limites de concentration testées.

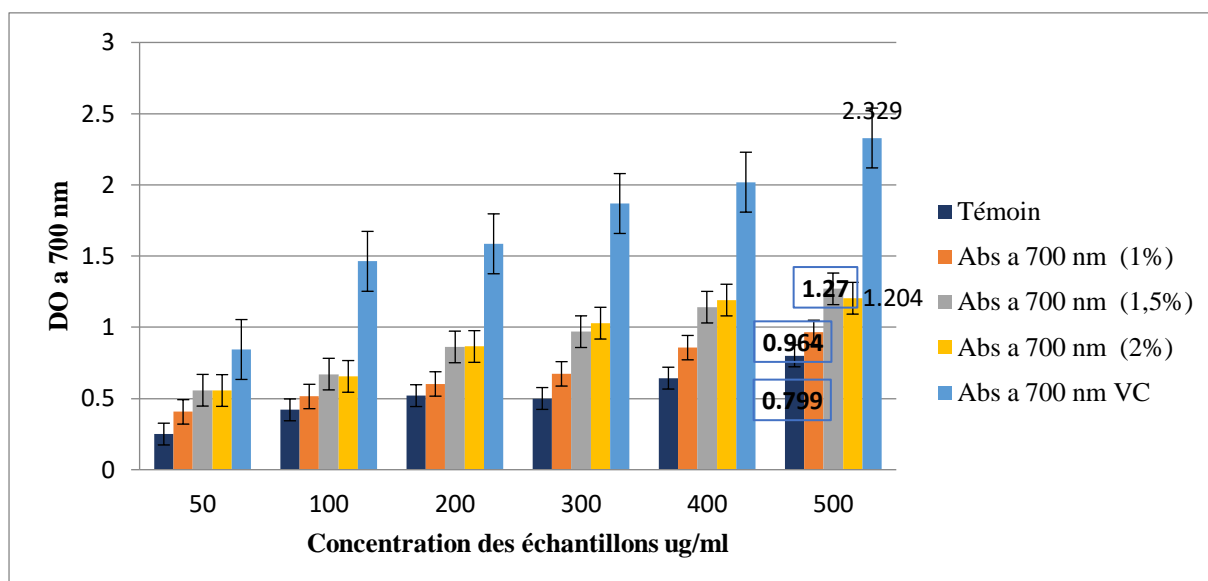
Une étude menée par (**Fatiha brahmi et al, 2022**) qui ont enrichi leur yaourt avec 3% d'extrait de pomme de terre a reporté une IC50 de  $29,58 \pm 0,65$  mg/ml inférieure à nos présents résultats.

Cela suggère que l'extrait de pomme de terre utilisé dans l'étude de (**Fatiha brahmi et al, 2022**) présente une activité antiradicalaire plus forte que l'extrait d'épines de pin utilisé dans notre étude. Une IC50 plus basse indique qu'une concentration plus faible de l'extrait de pomme de terre est nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH, ce qui suggère une plus grande efficacité antioxydante.

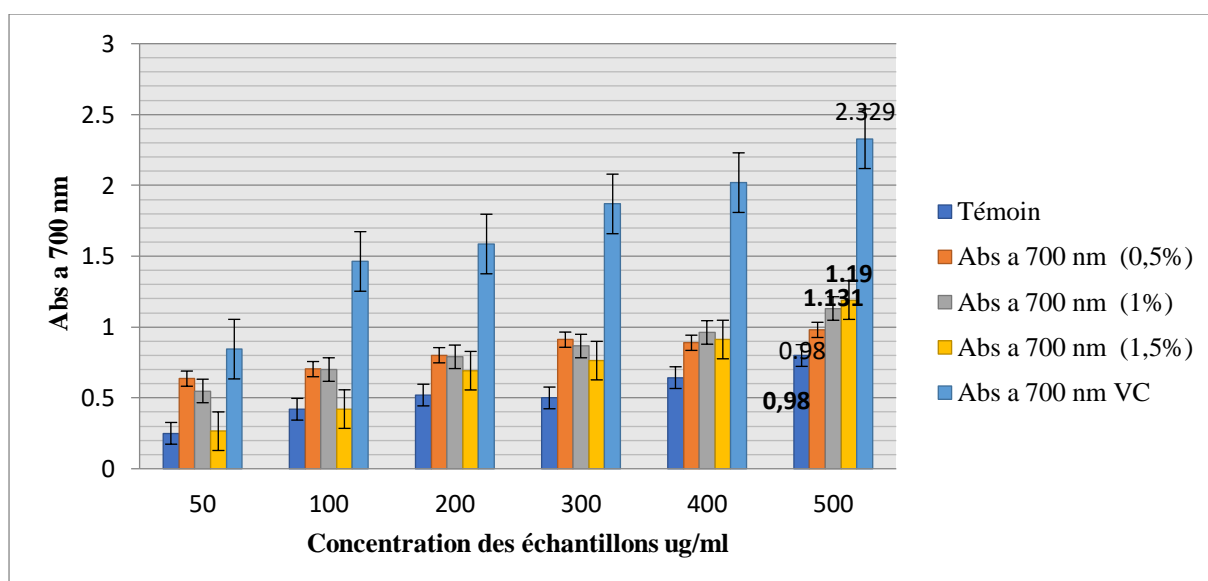
#### **4.2. Évaluation de l'activité de réduction du fer FRAP**

L'absorbance des deux yaourts augmente avec l'augmentation de leurs concentrations. Elle montre également que le yaourt à base de poudre des épines de pin d'Alep présente un pouvoir réducteur important supérieur à celui du yaourt à base de l'extrait.

Les résultats du test du pouvoir réducteur des deux yaourts enrichis en poudre et en extrait et de l'acide ascorbique sont présentés dans les figures suivant :



**Figure 23:** Pouvoir réducteur des trois recettes du yaourt enrichi en poudre des épines de pin.



**Figure 24:** Pouvoir réducteur des trois recettes du yaourt enrichi en extrait des épines de pin.

Si nous comparons le pouvoir réducteur du yaourt enrichi en extrait et poudre des épines de pin avec celui de l'acide ascorbique nous constatons que le pouvoir réducteur avec une concentration de 500 ug/ml de l'acide ascorbique présente des absorbances de 2,329 et de 0,964 0,127 et 1,204 pour la poudre à 1%, 1,5%, 2% et de 0,980 1,131 et 1,190 pour l'extrait à 0,5% . 1% et 1,5%, respectivement . Cette absorbance est inférieure à celle enregistrée par l'acide ascorbique et qui est supérieure à celle de yaourt témoin.

Les résultats suggèrent qu'à une concentration de 500 ug/ml, à la fois la poudre et l'extrait d'épines de pin ont un effet positif sur le pouvoir réducteur du yaourt enrichi.

## 5. Elaboration d'un fromage frais à base de poudre des épines de pin

### 1 .Les paramètres physico-chimiques du fromage frais enrichi

**Tableau IX** : Les paramètres physico-chimiques du fromage frais.

Les échantillons Les paramètres	Fromage frais natif	Fromage frais enrichi avec 1,25 g en poudre	Les normes de l'entreprise
<b>pH</b>	4,61	4,70	4,45-5,63
<b>Humidité %</b>	73,227	72,794	>80
<b>Extrait sec %</b>	26,773	27 ,208	39 max
<b>Matière grasse %</b>	15	13	≤ 20

#### ➤ Détermination du pH

Les valeurs du pH du fromage natif et du fromage enrichi sont indiquées dans le tableau précédent. Notre résultat a révélé une différence significative de 0,04 entre le pH du fromage natif (4,61) et celui du fromage enrichi avec la poudre d'épines de pin (4,70). Ces valeurs sont dans les normes requises par l'entreprise, qui se situent entre 4,45 et 5,63.

Cela signifie que l'ajout de la poudre d'épines de pin dans le fromage n'a pas entraîné de variations majeures du pH, et les valeurs obtenues sont conformes aux exigences de l'entreprise.

Il est important de maintenir un pH approprié dans les produits laitiers, car cela peut avoir un impact sur la qualité, la stabilité et la sécurité microbiologique du fromage. Les résultats de notre étude suggèrent que l'enrichissement du fromage avec la poudre d'épines de pin n'a pas compromis le pH du produit final, ce qui est encourageant du point de vue de la qualité du produit.

Cependant, il convient de noter que d'autres paramètres de qualité du fromage enrichi doivent également être pris en compte pour évaluer l'impact global de l'ajout de la poudre d'épines de pin.

➤ **Détermination du taux d'extrait sec et humidité**

Les taux de l'humidité et de l'extrait sec du fromage étudié sont rapportés dans le tableau précédent. Avant l'enrichissement, le fromage présente une teneur en eau significativement plus élevée (73,227%) avec un extrait sec de (26,773%) que le fromage enrichi avec la poudre (62,794%) avec un extrait sec de (27,206%). Les résultats de cette étude indiquent que la teneur en eau du fromage enrichi est inférieure à celle du fromage avant l'enrichissement, en raison de l'ajout de la poudre.

La différence entre ces résultats peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que le type de variété de fromage utilisé, les conditions de la culture des échantillons, ainsi que l'interaction entre la poudre ajoutée et la matrice du fromage. L'ajout de la poudre d'épines de pin peut influencer la répartition de l'eau dans le fromage, conduisant à une diminution de la teneur en eau observée. Il est important de noter que la teneur en eau et l'extrait sec sont des paramètres cruciaux pour la qualité et la composition du fromage.

Des variations dans ces paramètres peuvent affecter la texture, la durée de conservation et les propriétés organoleptiques du produit final.

➤ **Le taux de matière grasse**

Les valeurs obtenues indiquent que la teneur en matière grasse du fromage frais enrichi est de 13 %, ce qui est inférieur à la teneur en matière grasse du fromage natif qui est de 15 %. Cependant, il est important de souligner que la teneur du fromage enrichi en matière grasse se situe dans les normes de l'entreprise, qui exigent qu'elle soit inférieure ou égale à 20 %.

Cette variation de la teneur en matière grasse peut être attribuée à l'ajout de la poudre d'épines de pin, qui peut diluer la concentration en matière grasse du fromage. Il est important de noter que la teneur en matière grasse est un paramètre clé.





## **Conclusion et perspectives**

La wilaya de Bouira possède une grande diversité biologique du pin. L'objectif de cette étude est d'optimiser l'extraction des principes actifs tels que les composés phénoliques des aiguilles de pin d'Alep. Le plan central composite a permis d'identifier les meilleurs paramètres d'extraction : (Ethanol 50% et eau distillée 50 %) pendant un temps d'extraction de 10 min pour chaque essai. Ainsi d'étudier l'évolution des paramètres physico-chimiques, l'activité antioxydante des yaourts enrichis avec l'extrait phénolique et la poudre des aiguilles de pin d'Alep. Après la préparation de l'extrait phénolique et la poudre de pin, différentes concentrations (0,5% 1% 1,5%), (1% 1,5% 2%) respectivement ont été ajoutées dans les yaourts. Il fait l'objet de plusieurs analyses.

Étant donné que les épines de pin d'Alep sont utilisées comme plante médicinale, la fabrication de fromage frais à partir de "Lait en poudre 26 % et pdl 0%". Pour atteindre cet objectif l'ajout d'extraits et de poudre aux yaourts et au fromage frais a modifié les paramètres physico-chimiques de nos produits, notamment une baisse du pH allant de 4,30 jusqu'à 4,37 et 4,70 respectivement. Qui est en parallèle accompagné par une augmentation de l'acidité jusqu'à 180 D°.

Le test des antioxydants a montré que la combinaison des épines de pin et du yaourt augmente la quantité de métabolites secondaires, car il y a une forte teneur en différentes classes de composés phénoliques, notamment les polyphénols totaux de  $(1,020 \pm 0,002^b)$  mgEAG/g) et les flavonoïdes  $(0,0575 \pm 0,000^b)$  mg EQ/ml).

Le pouvoir réducteur de fer ferrique et le DPPH des extraits testés ont démontré leur forte activité antioxydante in vitro à de très faibles concentrations.

A l'avenir, il serait très intéressant de compléter ce travail par d'autres études plus approfondies :

- Des études supplémentaires sont importantes pour identifier les composés spécifiques présents dans l'extrait de plante et leur mécanisme d'action autant qu'antioxydant.
- Utilisation d'autres techniques d'extraction pour améliorer le rendement.
- Il est important d'effectuer des essais avancés pour déterminer d'autres paramètres du yaourt.

- L'ajout des analyses physicochimiques et microbiologiques supplémentaires, de la matière première et du produit fini, y compris les poudres.
- Suivi du yaourt et du fromage enrichi par la poudre et l'extrait au cours de stockage.
- Effectuée les dosages des protéines



## **Références bibliographiques**



- **Abbou, A., Kadri, N., Dahmoune, F., Chergui, A., Remini, H., Berkani, F., ... Madani, K. (2019).** Optimising functional properties and chemical composition of *Pinushalepensis* Mill. Seeds protein concentrates. *Food Hydrocolloids*, 105416. doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105416 consulte le (14 /05/2023) [Google Scholar]
- **Abbou, Amina, et al. (2019)** . « Effect of precipitation solvent on some biological activities of polysaccharides from *Pinushalepensis* Mill. seeds. » *International journal of biological macromolecules* 141 : 663-670. En ligne: [<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019363810> ] consulte le (14 /05/2023) [sciencedirect]
- **Amellalnee Chibane, H. (2008).** Aptitudes technologique de quelques variétés communes de dattes: formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé (Doctoral dissertation, Université de Boumerdès-M'hamed Bougara).. En ligne [<https://www.pnst.cerist.dz/detail.php?id=47790/>] Consulte le (19/06/2023) [Google scholar ]
- **Béal, Catherine, and Sandra Helinck. (2019)** "Fabrication des yaourts et des laits fermentés." En ligne : <https://hal.science/hal-03519802/> consulte le (03 /06/2023).
- **BENAISSA O., 2011.** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*. Thèse Doctorat. 03 p.
- **Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76. En ligne [<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269796902924>] consulté le (10 /06/2023) [science direct].
- **Besbes Hlila M, Ben Saad A, Ben Jannet H, Aouni M, Mastouri M, Selmi B.** Etude
- **Boubchir-Ladj K. 2010.** Effets de l'enrichissement (avec des concentrés de protéines laitières) et des paramètres technologiques sur la qualité du yaourt fabriqué à la laiterie SOUMMAM d'Akbou. Thèse de magister en Sciences Biologiques. Université Mouloud Mammerie de Tizi-Ouzou, Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques, 63 p.
- **BOUDJEMA, Khaled.** Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *Streptococcus thermophilus*. 2008. Thèse de doctorat en Biologie. Université M'Hamed Bougara de Boumerdès, Faculté des Sciences, 67 p

- **Bouyahya, A., Belmehdi, O., Abrini, J., Dakka, N., & Bakri, Y. (2019).** Chemical composition of *Menthasuaveolens* and *Pinushalepensis* essential oils and their antibacterial and antioxidant activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 12(3), 117. En ligne : [DOI: 10.4103/1995-7645.254937] consulté le (01/06/2023). [Google scholar]
- **Brahmi, F., Mateos-Aparicio, I., Garcia-Alonso, A., Abaci, N., Saudi, S., Smail-Benazzouz, L., ...& Boulekbache-Makhlouf, L. (2022).** Optimization of Conventional Extraction Parameters for Recovering Phenolic Compounds from Potato (*Solanum tuberosum* L.) Peels and Their Application as an Antioxidant in Yogurt Formulation. *Antioxidants*, 11(7), 1401. En ligne [https://doi.org/10.3390/antiox11071401] .consulte le (23 /06 /2023) [Google scholar]
- **Cheikh-Rouhou, S., Hentati, B., Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., & Attia, H. (2006).** « Chemical composition and lipid fraction characteristics of Aleppo pine (*Pinushalepensis* Mill.) seeds cultivated in Tunisia ». *Food science and technology international*, 12(5), 407-415. en ligne : [https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1082013206069910] consulté le (12/05/2023) [science direct].  
chimique et biologique des extraits de la plante halophyte *Halocnemeum strobilaceum* (Pall.) Bieb. *Journal of Bioresources Valorization*. 2017. ISSN 2490-4392. 2 (1): 42-48.
- **Ching-Ping Lin, Jen-Pan Huang, Chung-Shien Wu, Chih-Yao Hsu, Shu-Miaw Chaw, 2010.** La génomique comparative des chloroplastes révèle l'évolution des genres et sous-familles de Pinaceae, *Biologie et évolution du génome*, Volume 2, Pages 504– 517, en ligne: [https://doi.org/10.1093/gbe/evq036] consulter le (12/05/2023) [Google scholar]
- **Chung, Y. C., Chang, C. T., Chao, W. W., Lin, C. F., & Chou, S. T. (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(8), 2454-2458. En ligne [https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf011369q] consulté le (19 /06/2023) [PubMed]
- **Corrieu, G., and F. M. Luquet.** "Bactéries lactiques et probiotiques, édition Tec. et Doc." *Lavoisier, Paris France* (2005).

- **D’Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A., & Scott, T. (2013).** UV radiation and the skin. *International journal of molecular sciences*, 14(6), 12222-12248. En ligne [https://www.mdpi.com/1422-0067/14/6/12222]. Consulté le (01/06/2023). [Google Scholar]
- **Dalal, A. B. L. O. U. L., & Ismahane, L. A. D. J. A. L. (2020).** Les propriétés de *Pinus halepensis* Mill (Doctoral dissertation).
- **Debry, Gérard.** *Lait, nutrition et santé.* Technique et documentation-Lavoisier, 2001
- **Dudonne, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., & Mérillon, J. M. (2009).** Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1768-1774. En ligne [https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf803011r]. consulté le (10/06/2023) [PubMed]
- **ECK A et GILLIS J., 2006.** Le fromage. 3ème Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 891p
- **El Omari, N., Ezzahrae Guaouguaou, F., El Menyiy, N., Benali, T., Aanniz, T., Chamkhi, I., ... Bouyahya, A. (2020).** « Phytochemical and biological activities of *Pinus halepensis* Mill., and their ethnomedicinal use. *Journal of Ethnopharmacology* » .consulté le (12/05/2023)[science direct].
- **EVETTE J.L., (1975).** La fromagerie.- Paris : Presses universitaires de France, 140 p.
- **FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Rome, p.262.
- **FREDOT E., 2005.** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier:10-14. 397 p
- **Fox, P. F., & Mc Sweeney, P. L. H. (2017).** Cheese: An Overview. *Cheese*, 5–21. doi:10.1016/b978-0-12-417012-4.00001-6
- **Haichour R, (2023).** « Phytochimie et activités biologiques de pinus halepensis de l’est algérien ». thèse de doctorat en biologie végétale Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vi, en ligne : [ http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/4097] Consulter le 12/05/2023 [Google scholar]
- **Hani, I., & Rached Kanouni, M. (2022).** Caractérisation et valorisation du pin d’Alep. En ligne : [http://bib.univ-oeb.dz:8080/jspui/handle/123456789/13238] consulté le (19 /06/2023) [Google scholar] .

- **Hjouji, K., Atemni, I., Mehdaoui, I., Ainane, A., Berrada, S., Rais, Z., ... & Ainane, T. (2021).** Essential oil of aleppo pine needles: antioxidant and antibacterial activities. En ligne : [https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol2/PhOL\_2021\_2\_A063\_HJOUJI.pdf]. consulte le (11 /05 / 2023), [science directe].
- **Jeantet, R., C. Thomas, M. Michel, S.B. Pierre (2008).** Les produits laitiers. 2<sup>ème</sup> Ed. TEC et DOC. Lavoisier-Paris : 184p.
- **Kadri, N., Khettal, B., Aid, Y., Kherfellah, S., Sobhi, W., & Barragan-Montero, V. (2015).** « Some physicochemical characteristics of pinus (*Pinushalepensis* Mill., *Pinus pinea* L., *Pinus pinaster* and *Pinus canariensis*) seeds from North Algeria, their lipid profiles and volatile contents ». *Food chemistry*, 188, 184-192. en ligne : [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615007086] consulté le (12/05/2023)[science direct].
- **Kadri, N., Khettal, B., Yahiaoui-Zaidi, R., Barragan-Montero, V., & Montero, J. L. (2013).** Analysis of polar lipid fraction of *Pinushalepensis* Mill. seeds from North Algeria. *Industrial Crops and Products*, 51, 116-122. En ligne : [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013004883] consulté le (12/05/2023)[science direct].
- **Kadri, N., Khettal, B., Yahiaoui-Zaidi, R., Barragan-Montero, V., & Montero, J. L. (2013).** Analysis of polar lipid fraction of *Pinushalepensis* Mill. seeds from North Algeria. *Industrial Crops and Products*, 51, 116-122.
- **Kaouachi A, Derouiche S (2018).** « Phytochemical analysis, DPPH antioxidant activity and Acute toxicity of bark aqueous extracts of *Pinushalepensis* ». *Res J Chem Environ Sci.* 6 (3): 86-91. en ligne : [ <http://www.aelsindia.com/rjcesjune2018/14.pdf> ]. Consulter le 12/05/2023 [Google scholar]
- **Karaaslan, Mehmet, et al.(2011).** "Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts." *LWT-Food Science and Technology* 44.4: 1065-1072. En ligne : [https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.009]consulte le (26 /05/2023).
- **Kaundun, Shiv Shankhar, Philippe Lebreton, and Bruno Fady. (1998)** « Geographical variability of *Pinushalepensis* Mill. As revealed by foliar flavonoids ». *Biochemical Systematics and Ecology* 26.1: 83-96. En ligne:



[<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197897000926>]. Consulté le (19/05/2023) [science direct].

- **Kim, S. J., Park, S. Y., Lee, J., Chang, M., Chung, Y., & Lee, T. K. (2017).** Biochemical compositions and biological activities of extracts from 3 species of Korean pine needles. *Journal of Food and Nutrition Research*, 5(1), 31-6. En ligne [<https://www.academia.edu/download/56108098/jfnr-5-1-6.pdf>] consulté le (14/06/2023). [Google scholar ]
- **Kotroni, E., Simirioti, E., Kikionis, S., Sfiniadakis, I., Siamidi, A., Karalis, V., ... & Rallis, M. (2019).** In vivo evaluation of the anti-inflammatory activity of electrospun micro/nanofibrous patches loaded with *Pinushalepensis* bark extract on hairless mice skin. *Materials*, 12(16), 2596. En ligne : [<https://doi.org/10.3390/ma12162596>] consulter le (01/06/2023). [Google scholar].
- **Kumar H, Bhardwaj K, Cruz-Martins N, Sharma R, Siddiqui SA, Dhanjal DS, Singh R, Chopra C, Dantas A, Verma R, Dosoky NS, Kumar D. (2022)** Phyto-Enrichment of Yogurt to Control Hypercholesterolemia: A Functional Approach. *Molecules*. May 28;27(11):3479. doi: 10.3390/molecules27113479. consulte le (26 /05/2023).
- **Leroy F. et De Vuyst L., 2004.** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci. Technol.* 15 : 67-78.
- **Li, H. B., Wong, C. C., Cheng, K. W., & Chen, F. (2008).** Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), 385-390. En ligne [<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643807001272>] [sciencedirect]
- **Liston, A., Gernandt, DS, Vining, TF, Campbell, CS et Piñero, D. (2003).** « PHYLOGÉNIE MOLÉCULAIRE DES PINACÉES ET PINUS ». *Acta Hort.* 615, 107-114 DOI : 10.17660/ActaHortic.2003.615.7 en ligne : [<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.615.7>] consulter le (13 /05/2023) [Google scholar]
- **LUQUET F. M., 1985.** Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

- **LUQUET F.M et CORRIEU G., 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Lavoisier, Paris. 307 p.
- **Macchioni, F., Cioni, P. L., Flamini, G., Morelli, I., Maccioni, S., & Ansaldi, M. (2003).** « Chemical composition of essential oils from needles, branches and cones of *Pinus pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* and *P. nigra* from central Italy. *Flavour and Fragrance Journal* », 18(2), 139-143. En ligne : [<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ffj.1178> ]. Consulté le (14/04/2023)
- **Mahaut, Michel, et al. (2000).** *Les produits industriels laitiers*. Editions Tec & Doc., En ligne : <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR20210181350> consulte le (03 /06/2023).
- **Mecheri, H., Kouidri, M., Boukheroufa-Sakraoui, F., & Adamou, A. E. (2018).** Variation du taux d'infestation par *Thaumetopoea pityocampa* du pin d'Alep: effet sur les paramètres dendrométriques dans les forêts de la région de Djelfa (Atlas saharien, Algérie). *Comptes Rendus Biologies*, 341(7-8), 380-386.
- **Manel Mekni\*, et al.(2018)** « Comparative Study between Extracts of Different Pomegranate Parts Issued from Five Tunisian Cultivars (*Punicagranatum L.*): Phytochemical Content, Volatile Composition and Biological Activity ». *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 7(5): 1663-1682. En ligne [<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.197>]. consulté le (08/06/2023) [Google scholar]
- **Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M., 2004.** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 73-102.
- **Mercan, E., & Akin, N. (2017).** Effect of different levels of pine honey addition on physicochemical, microbiological and sensory properties of set-type yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 70(2), 245-252. En ligne [<https://doi.org/10.1111/1471-0307.12332>]. consulté le (06/06/2023), [PubMed ]
- **Meziti Hicham, Hamama Bouriche, Seoussen Kada, Ibrahim Demirtas, Murat Kizil, Abderrahmane Senator, (2019),** Phytochemical analysis, and antioxidant, anti-hemolytic and Genoprotective effects of *Quercus ilex L.* And *Pinus halepensis Mill.*

Methanolic extracts, *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 7 (4), pp.260-272. En ligne , consulté le (01/06/2023 ) [Google scholar]

- **Moutchou, S., Badjah-Hadj-Ahmed, Y., Khemici, M., & Aïd, F.** (2021). Évolution saisonnière des terpènes de l'écorce et des aiguilles chez le pin d'Alep (*Pinushalepensis Mill.*). *Ann. Rech. For. Algérie*, 11(01), 31-41. En ligne : [<https://www.asjp.cerist.dz/en/downArticlepdf/592/11/1/147277> ] Consulté le (14/04/2023)
- **N. Bougandoura ,N.Bendimerad** , “Evaluation de l’activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta* (L.) Briq.,” *Nat. Technol.*, vol. 9, p. 14 à 19, Juin 2013
- **Nahal, I. (1962).** Le Pin d'Alep (*Fines halepensis Mill.*). Étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. In *Annales de l'école nationale des eaux et forêts et de la station de recherches et expériences*. ENEF, Ecole nationale des eaux et forêts, Nancy (FRA). Pp 7- 62.
- **Nahal, I. (1962).** Le pin d'Alep (*Pinushalepensis Mill.*). Etude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. In *Annales de l'école nationale des eaux et forêts et de la station de recherches et expériences* (Vol. 19, No. 4, pp. 475-686). En ligne [<https://hal.science/hal-03483847/>]. consulté le (20/06/2023). [Google scholar]
- **Nongonierma, A. B., Springett, M., Le Quéré, J. L., Cayot, P., & Voilley, A. (2006).** Flavour release at gas/matrix interfaces of stirred yoghurt models. *International Dairy Journal*, 16(2), 102-110. En ligne [<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694605000324>] consulté le (12/06/2023) [sciencedirect] .
- **Nongonierma, Alice B., et al.** "Libération d'arômes aux interfaces gaz/matrice des modèles de yaourt brassé." *Journal laitier international* 16.2 (2006): 102-110. En ligne <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694605000324>
- **O'connell, J. E., and P. F. Fox. (2001)** "Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review." *International Dairy Journal* 11.3: 103-120. En ligne : [<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694601000334>] consulte le (26 /05/2023).

- **Ozer, Barbaros H., et al. (1998).** "Propriétés de gélification du lait concentré par différentes techniques." *International Dairy Journal* 8.9: 793-799. En ligne : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694698001150> consulté le (03 /06/2023).
- **Paci Kora E. (2004).** Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé: queles impacts respectifs sur la perception de la texture et de la saveur. Thèse de doctorat de l'Institut national agronomique Paris-Grignon. p 258.
- **Pasqualini, V., Robles, C., Garzino, S., Greff, S., Bousquet-Mélou, A., & Bonin, G. (2003).** Phenolic compounds content in *Pinus halepensis* Mill. needles: a bioindicator of air pollution. *Chemosphere*, 52(1), 239-248. En ligne [<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653503002686>]. consulté le (14 /05 / 2023) [science direct].
- **Petri, A., Alexandratou, E., Kyriazi, M., Rallis, M., Roussis, V., & Yova, D. (2012).** Combination of Fospeg-IPDT and a natural antioxidant compound prevents photosensitivity in a murine prostate cancer tumour model. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 9(2), 100-108. En ligne [<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572100011004492>] consulté le 01/06/2023 [sciencedirect].
- **Rameau J.C., Mansion D., Dumé G., Gauberville C., Bardat J., Bruno E., Keller R., , (2008)** « Flore forestière française. Guide écologique illustré, Région méditerranéenne ». Ed. Forêt privée française, Tom 3, Paris, 2426 p. En ligne [[https://books.google.com/bookshl=fr&lr=&id=P282nNjQq50C&oi=fnd&pg=PA6&dq=info:gN3o7sAwFyEJ:scholar.google.com/&ots=T2DPqqsX6p&sig=nv5TWpUcuKcR7XnhIYdsje\\_cpOo](https://books.google.com/bookshl=fr&lr=&id=P282nNjQq50C&oi=fnd&pg=PA6&dq=info:gN3o7sAwFyEJ:scholar.google.com/&ots=T2DPqqsX6p&sig=nv5TWpUcuKcR7XnhIYdsje_cpOo)], consulter le (13 |05|2023 ), [Google scholar]
- **Rigane, Ghayth, et al.(2016)** "COMPOSITIONS CHIMIQUES, ACTIVITES ANTIOXYDANTES ET ANTIMICROBIENNES DE L'HUILE ESSENTIELLE DE TRACHYSPERMUM AMMI L. CROISSANT EN TUNISIE." Rév. Roum. Chim 61.10: 805-811. En ligne : [<https://revroum.lew.ro/wp-content/uploads/2016/10/Art%2010.pdf>]. consulté le (01/06/2023 ) [Google scholar]

- **Rabhi, K., Bentouati, A., & Sghaier, T. (2023).** Effet de la sylviculture sur les potentialités de production du Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans l'Aurès algérien. Établissement de tables de production pour deux itinéraires sylvicoles.
- **Schuck, P., Dolivet, A., & Jeantet, R. (2012).** Les poudres laitières et alimentaires: Techniques d'analyse: Lavoisier.
- **scientifique de Syndifrais, Mission. "Yaourts, laits fermentés." *Le Lait* 77.3 (1997):** 321-358. .En ligne :[https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/abs/1997/03/lait\\_77\\_1997\\_3\\_23/lait\\_77\\_1997\\_3\\_23.html](https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/abs/1997/03/lait_77_1997_3_23/lait_77_1997_3_23.html) consulte le (03 /06/2023).
- **Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. (1999);** Analysis of total phenols and other oxidationsubstrates and antioxidants by means of FolinCiocalteureagent. *Methods in Enzymology*. 299 : 152-178
- **SOFOWOR., 2010.** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Paris, France, Karthala, 378 p.
- **Soliman Abdalla, Antonio Pizzi, Naceur Ayed, Fatima Charrier-El Bouhtoury, Bertrand Charrier, et al. (2014).** MALDI-TOF Analysis of Aleppo Pine (*Pinushalepensis*) Bark Tannin. *Bioresources*, , 9 (2), pp.3396-3406. [10.15376/biores.9.2.3396-3406](https://doi.org/10.15376/biores.9.2.3396-3406). [hal-01560509](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01560509) Consulté le (28/03/2023) [sciencedirect].
- **SOUDAKI. K. ATTAF. Y (2009):** procédés de fabrication du yaourt alimentaire unité d'ARIB. Mémoire de fin étude, Université de Khemis Miliana»
- **Tukan. S.K, K. Al-Ismail R.Y. Ajo, M.M. Al-Dabbas, (2013),** Seeds and seed oil compositions of Aleppo Pine (*Pinushalepensis* Mill) grown in Jordan. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 90 (2), pp.87-93. en ligne : [[https://www.researchgate.net/profile/Maher-Al-Dabbas/publication/287351590\\_Seeds\\_and\\_seed\\_oil\\_compositions\\_of\\_Aleppo\\_Pine\\_Pinus\\_halepensis\\_Mill\\_grown\\_in\\_Jordan/links/570e43fa08aee328dd65320b/Seeds-and-seed-oil-compositions-of-Aleppo-Pine-Pinus-halepensis-Mill-grown-in-Jordan.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Maher-Al-Dabbas/publication/287351590_Seeds_and_seed_oil_compositions_of_Aleppo_Pine_Pinus_halepensis_Mill_grown_in_Jordan/links/570e43fa08aee328dd65320b/Seeds-and-seed-oil-compositions-of-Aleppo-Pine-Pinus-halepensis-Mill-grown-in-Jordan.pdf) ] consulté le (19/05/2023)[science direct].
- **Venkatesan, T., Choi, Y. W., & Kim, Y. K. (2019).** Effect of an extraction solvent on the antioxidant quality of *Pinus densiflora* needle extract. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 9(3), 193-200. En ligne

[<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095177918304520>]. consulté le (06/05/2023) [sciencedirect].

- **VIGNOLA .G (2002):**« science et technologie du lait, transformation du lait presse inter-polytechnique, 600P
- **VIGNOLA C.L., 2002.** Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34.600 p.
- **WALTHER B, SCHMID A, SIEBER R et WEHRMULLER K., 2008.** Cheese in nutrition and health. DairySci. Technol. 88, 389 – 405.
- **Wang, Lijun, and Curtis L. Weller. (2006).** « Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants »." *Trends in Food Science &Technology* 17.6: 300-312. en ligne :[<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224405003559>]consulté le (12/05/2023)[science direct].



# **Annexes**

## Annexe01: Courbe d'étalonnage de dosage des polyphénols

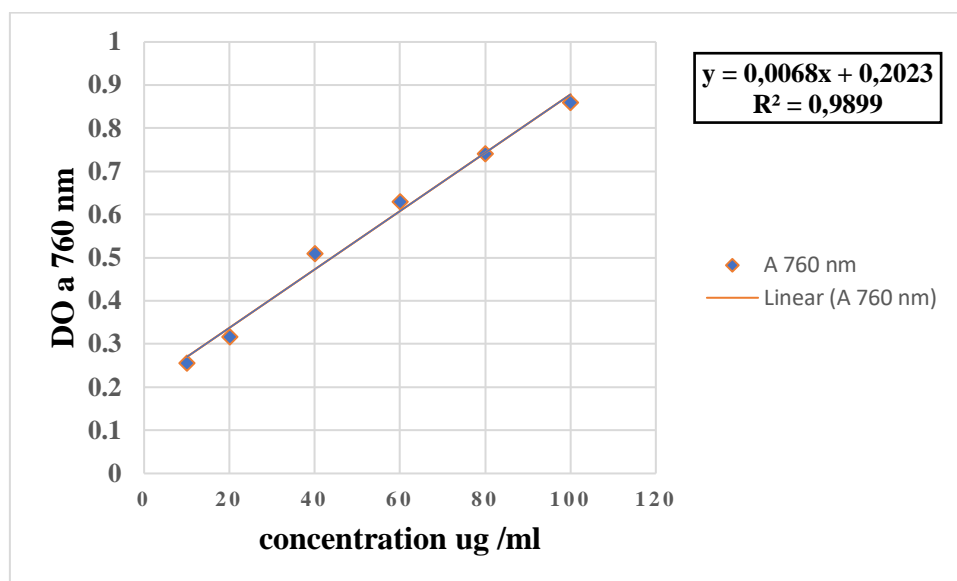


Figure01: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

## Annexe02: Courbe d'étalonnage de dosage des flavonoïdes

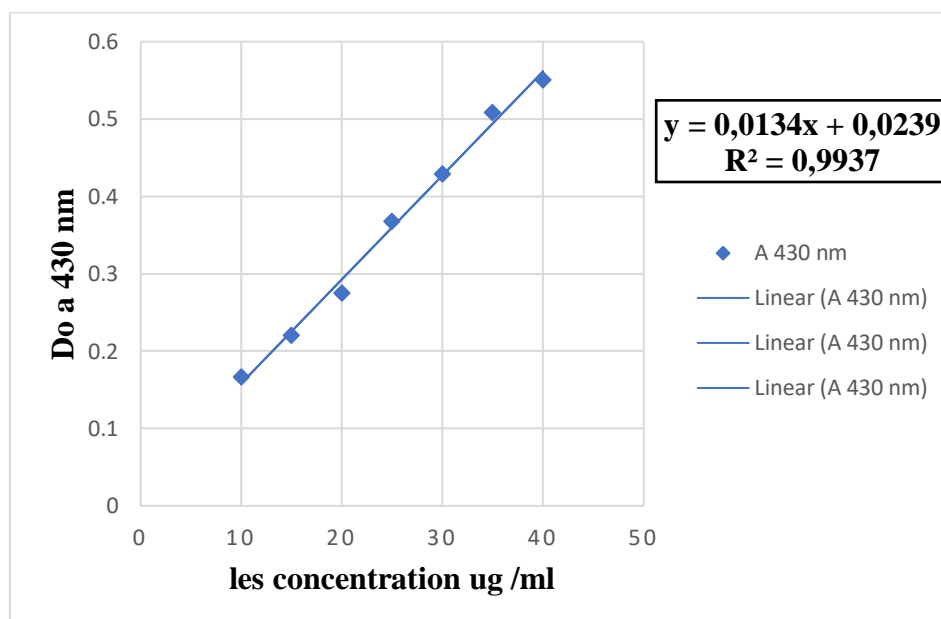
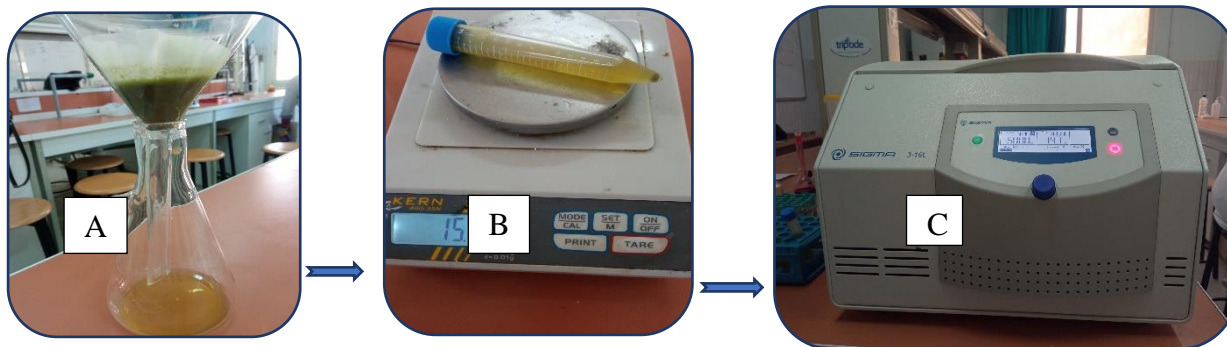
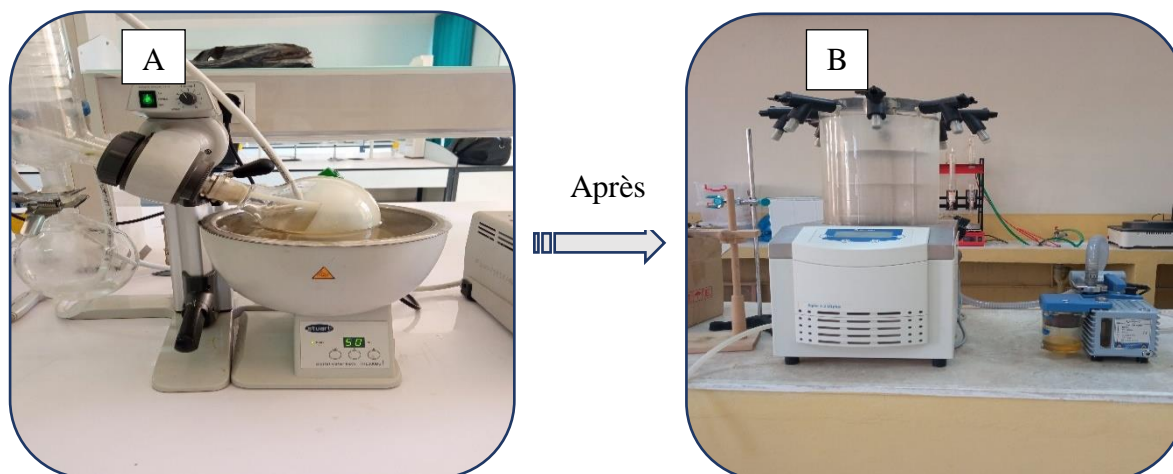


Figure02: Courbe d'étalonnage de la quercitrine



**Annexe 03 : filtration et centrifugation**

**Figure 03 :** (A : filtration, B : l'extrait phénolique dans les tube Quantikube mémé poids, C :centrifugation 5000Tt / 10 min)

**Annexe 04 : Evaporation sous vide à sec (évaporateur rotatif) et Lyophilisateur**

**Figure 04 :**A : Evaporation sous vide à sec (évaporateur rotatif), B : Lyophilisateur .

## المخلص

تتميز اوراق الصنوبر التقليدية بالعديد من الخصائص البيولوجية، والتي تُعزى إلى مركباتها الفينولية الغنية. سمح لنا المستخلص الإيثانولي باستخراج المركبات الفينولية من أشواكه وتأثيره المضاد للأكسدة باستخدام اختبار الطاقة الاختزالية والتأثير المضاد للأشعة ABTS و DPPH. يتم استخراج البوليفينول عن طريق الموجات فوق الصوتية في 50:50 الإيثانول. زاد بشكل كبير إجمالي محتوى البوليفينول بمقدار  $87,36 \pm 7,033$  ملغ مكافئ لحمض الغاليك/ غرام مادة جافة و  $5,912 \pm 0,062$  ملغ مكافئ للكيرسيتين / غرام مادة جافة من الفلافونويد تستخدم المستخلصات للدراسة الكيميائية النباتية وكمكون في تطوير الزبادي الوظيفي المخمر. ستة أنواع من الزبادي مع نسبة مختلفة من المستخلص ومسحوق أشواك الصنوبر الحلبي. يتم إجراء التحليلات الفيزيائية الكيميائية (درجة الحموضة والرطوبة والحموضة)، وكذلك مستويات مضادات الأكسدة (المركبات الفينولية الإجمالية والفلافونويد) والأنشطة المضادة للأكسدة. تظهر النتائج أن العينات تحمي أجسامنا من الجذور الحرة وتمنع العديد من الأمراض. لأنه يحتوي على نشاط أفضل ضد الراديكالار ( $73,41 \pm 0,00$  %) وتأثير إيجابي على الطاقة المنخفضة مقارنة بالزبادي المتحكم. تمت إضافة الجبن الطازج المخصب بأشواك الصنوبر إلى جرعة مسحوق 1,25 جرام. وفقًا لهذه الدراسة، لا تتأثر الخصائص الفيزيائية والكيميائية للجبن الطازج بشكل كبير. هذه النتيجة تشجع صانعيها على استخدام مسحوق أشواك الصنوبر الحلبي. في الختام، المنتجات التي تم الحصول عليها، مثل الزبادي، تفي بمعايير الشركة وتحتوي على تركيزات أعلى من مضادات الأكسدة، مما يؤدي إلى أنشطة أكثر كفاءة. قدمت هذه الدراسة نتائج أولية تتطلب المزيد من الدراسات المتعمقة لتأكيد ذلك وأظهرت أهمية الاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية.

**الكلمات الرئيسية:** *Pinus halepensis*، نشاط مضاد للأكسدة، بوليفينول، زبادي مخصب، جبن طازج، تحليل فيزيائي كيميائي.

## Résumé

La plante médicinale traditionnel pin possède de nombreuses propriétés biologiques, qui sont attribuées à sa richesse en composés phénoliques. L'extrait éthanolique nous a permis d'extraction de composés phénoliques à partir de ses épines et de son effet anti-oxydant en utilisant le test de pouvoir réducteur et l'effet antiradicalaire ABTS et DPPH. L'extraction des polyphénols est réalisée par ultrason dans l'éthanol 50 :50. Il a augmenté de manière significative la teneur totale en polyphénols de  $87,36 \pm 7,033$  mg EAG/g et flavonoïde  $5,912 \pm 0,062$  mg EQ/g MS. Les extraits sont utilisés pour l'étude phytochimique et comme ingrédient dans l'élaboration d'un yaourt brassé fonctionnel. Six types de yaourts à différent pourcentage de l'extrait et poudre des épines de *Pinushalepensis*. Les analyses physico-chimiques, (pH, l'humidité et l'acidité), ainsi que les teneurs en antioxydants (les composés phénoliques totaux et les flavonoïdes) et les activités antioxydantes, sont réalisées. Les résultats obtenus montrent que les échantillons protègent notre organisme contre les radicaux libres et préviennent de nombreuses maladies. Car il présenté une meilleure activité antiradicalaire ( $73,41 \pm 0,00$  %) et un effet positif sur le pouvoir réducteur comparé au yaourt témoin. Le fromage frais enrichi avec les épines a été incorporé à un dosage de 1,25 g de poudre. Selon cette étude, les caractéristiques physico-chimiques du fromage frais ne sont pas significativement affectées. Ce résultat incite les fabricants de fromage à utiliser la poudre des épines de pin d'Alep. En conclusion, les produits obtenus, tels que les yaourts, répondent aux normes de l'entreprise et ont des concentrations plus élevées en antioxydants, ce qui entraîne des activités plus efficaces. Cette étude a fourni des résultats préliminaires qui nécessitent d'autres études approfondies pour les confirmer et a démontré l'importance de l'extraction assistée par ultrasons.

**Mot clés :** *Pinus halepensis*, activité antioxydante, polyphénol, yaourt enrichi, fromage frais, analyse physicochimique.

## Abstract

The traditional medicinal plant pine has many biological properties, which are attributed to its richness in phenolic compounds. The ethanolic extract allowed us to extract phenolic compounds from its spines and its antioxidant effect using the reducing power test and the ABTS and DPPH anti-radical effect. The extraction of polyphenols is carried out by ultrasound in ethanol 50 :50. It significantly increased the total polyphenol content by  $87.36 \pm 7.033$  mg EGA/g and flavonoid  $5.912 \pm 0.062$  mg EQ/g DM. The extracts are used for phytochemical study and as an ingredient in the elaboration of a functional brewed yogurt and cheese. Six types of yogurts with different percentage of *Pinus halepensis* extract and powder. Physico-chemical analyses (pH, humidity and acidity), as well as antioxidant contents (total phenolic compounds and flavonoids) and antioxidant activities are performed. The results obtained show that the samples protect our body against free radicals and prevent many diseases. Because it presented a better antiradical activity ( $73,41 \pm 0.00\%$ ) and a positive effect on the reducing power compared to control yogurt. The fresh cheese enriched with the thorns was incorporated into a dosage of 1.25 g of powder. According to this study, the physico-chemical characteristics of fresh cheese are not significantly affected. This result prompts cheese makers to use Aleppo pine thorn powder. In conclusion, the products obtained, such as yogurts, meet the company's standards and have higher concentrations of antioxidants, which leads to more effective activities. This study provided preliminary results that require further in-depth studies to confirm and demonstrated the importance of ultrasonically assisted extraction.

**Key word :** *Pinus halepensis*, activitiantioxydant, polyphenol, yogurt enrich, fresh cheese, physicochemical analysis.