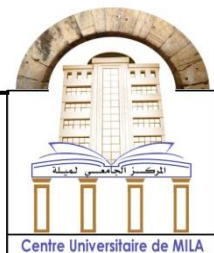


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Réf :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème :

**Evaluation de l'efficacité des substances naturelles sur
la croissance de la flore bactérienne du lait réfrigéré.**

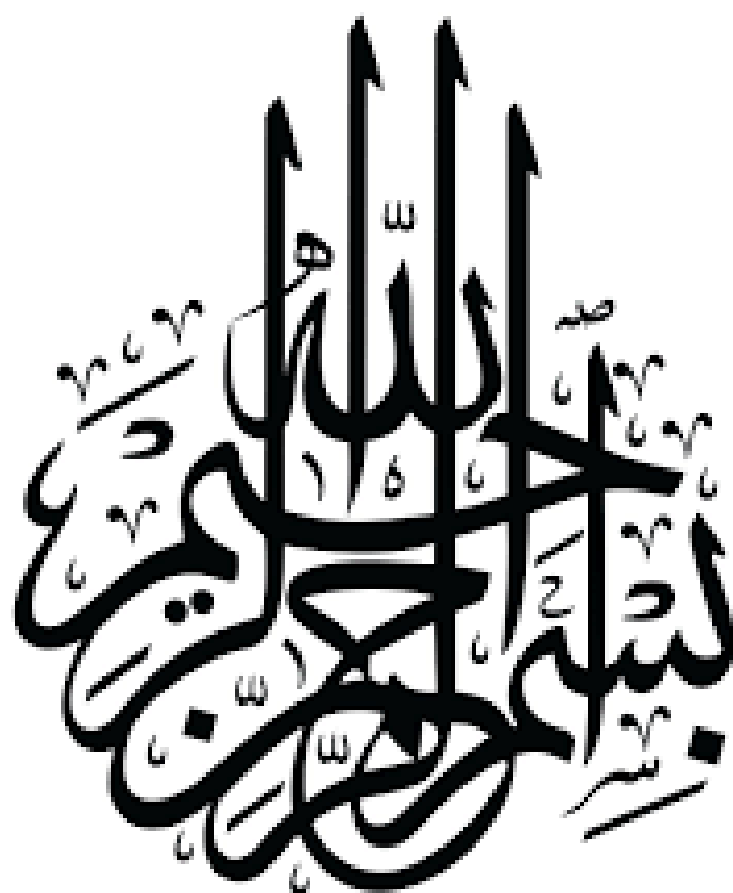
Présenté par :

- KARKATOU Salima
- BOUHEROUR Rayane

Devant le jury :

Présidente	: Dr. BOUKEZOULA Fatima	MCA	Centre universitaire Mila
Examineur	: Dr. BOUTELLAA Saber	MCA	Centre universitaire Mila
Promotrice	: Dr. BOUCHEKRIT Moufida	MCB	Centre universitaire Mila

Année Universitaire : 2022/2023





Remerciement

Avant toute chose, je remercie « Allah » qui m'a donné la santé, la patience, la Volonté et le courage, afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Paix et salut sur notre premier éducateur « محمد صلى الله عليه وسلم » le prophète Pour ce qu'il a donné à l'humanité.

Je tiens aussi à présenter mes sincères remerciements mes chers parents qui ont été toujours là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique monde de labeur et de persévérance que dieu les protège.

Mes remerciements s'adressent également à :

*Notre promotrice **Dr. BOUCHEKRIT Moufida**, maitre de Conférence classe B au Centre Universitaire Boussouf Abd-Elhafid de Mila, pour ses conseils précieux, ses encouragements et ses orientations durant toute notre formation ainsi que pour son sérieux au*

Cours de l'élaboration de ce travail.

Nous exprimons aussi nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger ce travail :

*Mm la présidente **BOUKEZOULA Fatima** maitre de Conférences classe A au*

Centre Universitaire BOUSSOUF Abd-Elhafid de Mila.

*Dr l'examineur **BOUTELLAA Saber** maitre de Conférence classe A Au*

Centre Universitaire BOUSSOUF Abd-Elhafid de Mila.

Nous remercions également tous le membre des laboratoires de SNV du Centre Universitaire de Mila.

Merci pour le soutien et pour vos efforts avec nous.

Nous remercions également tous nos enseignants, et les administrateurs du Département des Sciences de la Nature et de la Vie.

En fin, nos vifs remerciements sont adressés à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement, à l'élaboration du fruit de nos années d'études.

UN GRAND MERCI POUR VOUS TOUS



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à deux personnes que j'aime le plus sur Terre et aux
quelles je ne cesserai de dédier tous mes succès, je souhaite que dieu leur donne une bonne
santé et une longue vie.*

*A mon très chère père «**Kamel** »*

Qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour

Son sacrifice, ses conseils et ses encouragements.

*A la lumière de mes yeux, au bonheur de ma vie, ma mère «**Djanet**»*

Qui m'a soutenu son appui durant toutes mes années d'étude, pour ses

Sacrifices et soutien qui m'ont donné la confiance, le courage et la sécurité.

A l'exemple de ma vie.

*A mes chères sœurs : **Sana** , **warda** et **Farida** ; Merci pour votre amour.*

*A mes chers frères : **Radwane** , **Halim** , **Atif** et **Anter** ; je vous souhaite beaucoup de*

Réussite et de bonheur Je vous aime.

A tous mes enseignants.

Merci pour tous les bons moments que nous avons passé ensemble.

A tous ceux qui m'ont encouragé et m'ont apporté leur soutien.



Salima



Dédicace

Au nom de Dieu clément et miséricordieux

Je Dédie ce Modest travaille :

À mon père

À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre...

À cette source de tendresse, de patience et de générosité...

À ma mère, a ma mère, a ma mère

La lumière de mes yeux Qui m'a éclairé mon chemin ...

*À mon cher frère « **Dia Eddine** » et mes adorables sœurs « **Abir** » et « **Doha** »*

À tous mes amis et mes collègues sans exception

À tous les étudiants de la promotion SNV 2023

À tout les lecteurs de mon projet

À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

Merci!

Rayane

Tables des matières

Remerciement	
Dédicace	
Tables des matières	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Plante médicinale

I.1. Généralité sur les plantes médicinales.....	5
I.2. Espèce <i>Laurus nobilis</i> L.	5
I.2.1. Famille des Lauracées.....	5
I.2.1. Historique.....	6
I.2.2. Origine et Répartition géographique.....	7
I.2.3. Définition et Etymologie.....	7
I.2.4. Classification botanique et nomination.....	8
I.2.5. Description botanique de Laurier.....	9
I.2.5.1. Feuilles	9
I.2.5.2. Fleurs	10
I.2.5.3. Fruits	10
I.2.5.4. Ports.....	11
I.2.5.5. Bourgeons	11
I.2.5.6. Branches	12
I.2.5.7. Tiges.....	12
I.3. Usage et propriétés thérapeutiques de <i>Laurus nobilis</i>	12
I.4. Pays producteurs et exportateurs de <i>Laurus nobilis</i> L.....	13
I.5. Toxicité de <i>Laurus nobilis</i>	13

Chapitre II : Métabolites secondaires et les effets biologiques

II.1. Définition des métabolites secondaires	16
II.2. Localisation des métabolites secondaires.....	16
II.3. Poly phénols et flavonoïdes	16
II.3.1. Généralités sur les Poly phénols.....	16
II.3.2. Généralités sur les flavonoïdes	17
II.4. Effets biologiques et propriétés pharmacologiques de <i>Laurus nobilis</i>	18
II.4.1. Effet antioxydant	18
II.4.2. Effet cytotoxique	19
II.4.3. Effet gastroprotecteur	19
II.4.4. Effet inhibiteur d'enzyme	19
II.4.5. Effet antidiabétique.....	19
II.5. Méthodes d'extraction des substances bioactives	20

Chapitre III : Lait cru de vache

III.1. Généralité sur lait.....	22
III.2. Propriétés physico-chimiques du lait.....	23
III.3. Caractéristiques organoleptiques du lait	23
III.4. Importance nutritionnelle.....	24
III.5. Compositions du lait	24
III.5.1. Composition interspécifique	24
III.5.2. Compositions moyennes	25
III.5.3. Compositions biologiques	29
III.6. Micronutriments contenus dans le lait	29
III.7. Valeurs nutritionnelles et caloriques du lait	30
III.8. Facteurs de variations de la qualité du lait.....	30
III.8.1. Facteurs liés à l'animal.....	30
III.8.2. Facteurs physiologiques	31
III.9. Microbiologie du lait	32
III.9.1. Qualité bactériologique du lait	32
III.9.2. Micro-organismes du lait	33

Partie Expérimentale

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1. Matériel.....	38
IV.1.1. Matériel végétal.....	38
IV.1.2. Les souches bactériennes	39
IV.1.3. Antibiotique	39
IV.1.4. Échantillon du lait	39
IV.1.5. Matériels et produits de laboratoire utilisés	40
IV.2. Méthodes	40
IV.2.1. Préparation du matériel végétale.....	40
IV.2.1.1. Séchage.....	40
IV.2.1.2. Broyage et Tamisage	41
IV.2.1.3. Préparation de l'extrait aqueux de laurier	41
IV.2.1.4. Calcul du rendement.....	43
IV.3. Dosage des poly phénols totaux	43
IV.3.1. Principe du dosage	43
IV.3.2. Protocole du dosage	43
IV.4. Dosage des flavonoïdes	44
IV.4.1. Principe du dosage	44
IV.4.2. Protocole du dosage	44
IV.5. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait	45
IV.5.1. Préparation des milieux de culture.....	45
IV.5.2. Préparation de différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Laurus nobilis</i>	46
IV.5.3. Préparation des inocula	47
IV.5.4. Ensemencement	47
IV.5.5. Réalisation de l'aromatogramme et incubation	48
IV.5.6. AntibioGramme	49
IV.5.7. Lecture	50
IV.6. Échantillonnage du lait	50

IV.6.1. Prélèvement.....	50
IV.6.2. Évaluation de la qualité bactériologique du lait.....	50
IV.6.2.1. Préparation des échantillons du lait additionné de l'extrait aqueux à différentes concentrations.....	50
IV.6.2.2. Préparation de la Gélose nutritive et de l'eau physiologique.....	52
IV.6.2.3. Préparation des dilutions décimales	53
IV.6.2.4. Suivie de la cinétique de croissance bactérienne.....	54
IV.6.2.5. Ensemencement du lait à différentes concentrations	54
IV.6.2.6. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	55

Chapitre V: Résultats et Discussion

V.1. Résultats.....	57
V.1.1. Rendement d'extractions.....	57
V.1.2. Dosage des Poly phénols et Flavonoïdes	57
V.1.2.1. Dosage des poly phénols	57
V.1.2.2. Dosage des flavonoïdes	58
V.1.3. Activités antibactériennes.....	60
V.1.4. Cinétique de la croissance de la flore totale aérobie mésophile.....	64
V.2. Discussion	67
V.2.1. Rendement d'extraction	67
V.2.2. Teneur des poly phénols et flavonoïdes	68
V.2.3. Activités antibactériennes.....	69
V.2.4. Cinétique de la croissance de la flore totale aérobie mésophile.....	70
Conclusion.....	72
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	
الملخص	
Abstract	

Liste des abréviations

J : jour

D : Dilution

AG : Acide gallique

DMSO : le diméthyle sulfoxyde

MeOH : Le méthanol (alcool méthylique)

DPPH : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl

UFC : Unité formant colonie

FTAM : Flore Totale aérobie Mésophile

EA : Extrait aqueux

HE : Huiles essentielles

L.nobilis : *Laurus nobilis* L.

UHT : Ultra Haute Température

Liste des tableaux

Tableau 01 : Dénomination internationale de <i>Laurus nobilis</i> L.	8
Tableau 02 : Composition interspécifique du lait de différentes espèces	25
Tableau 03 : Protéines du lait.....	26
Tableau 04 : Eléments minéraux du lait cru.....	27
Tableau 05 : Constituants lipidiques du lait cru.....	28
Tableau 06 : Valeurs nutritionnelles et caloriques du lait.....	30
Tableau 07 : Quelques caractéristiques de la vache utilisée	50
Tableau 08 : Méthodologie de la préparation des trois échantillons du lait.....	51
Tableau 09 : Teneur en poly phénols et flavonoïdes dans l'extrait étudié.	60
Tableau 10 : Diamètre des zones d'inhibition exercées par l'extrait à différentes concentrations.....	60

Liste des figures

Figure 01 : Feuilles de <i>Laurus nobilis</i> L.	6
Figure 02 : Répartition géographique de <i>Laurus nobilis</i> à travers le monde.	7
Figure 03 : Arbuste de <i>Laurus nobilis</i> L.	9
Figure 04 : Feuilles de <i>laurus nobilis</i> L.	10
Figure 05 : Fleurs de <i>Laurus nobilis</i> L.	10
Figure 06 : Fruits de <i>Laurus nobilis</i> L.	11
Figure 07 : Bourgeons de <i>Laurus Nobilis</i> L.	11
Figure 08 : Branches de <i>Laurus nobilis</i> L.	12
Figure 09 : Structures de base des poly phénols.	17
Figure 10 : Structure des flavonoïdes.	18
Figure 11 : Lait cru.	22
Figure 12 : Feuilles de <i>Laurus nobilis</i> récoltées dans la région de Bouhatem, Mila.	38
Figure 13 : Région d'échantillonnage de laurier à Bouhatem, Mila.	39
Figure 14 : Échantillon du lait cru.	40
Figure 15 : Feuilles de <i>Laurus nobilis</i> sèches (photo personnel).	41
Figure 16 : Feuilles de <i>L. nobilis</i> séchées et coupées en petits morceaux (photo personnel).	41
Figure 17 : Différentes étapes de l'extraction aqueuse des feuilles de <i>Laurus nobilis</i>	42
Figure 18 : Protocole de dosage des poly phénols.	44
Figure 19 : Protocole de dosage des flavonoïdes.	45
Figure 20 : Préparation du milieu de culture.	46
Figure 21 : Dilutions successives de l'extrait aqueux.	47
Figure 22 : Ensemencement par écouvillonnage.	48
Figure 23 : Application des disques et incubation.	49
Figure 24 : Dépôt des disques d'antibiotiques.	49
Figure 25 : Protocole de préparation de la solution mère de l'extrait aqueux de <i>L.nobilis</i>	51
Figure 26 : Addition de l'extrait aqueux au lait.	52
Figure 27 : Préparation de la GN et de l'eau physiologique.	53

Figure 28 : Préparation des dilutions décimales.....	54
Figure 29 : Suivi de la croissance bactérienne.	54
Figure 30 : Ensemencement du lait dans la GN.	55
Figure 31 : Rendement de l'extrait aqueux de <i>Laurus nobilis</i> obtenu par macération.....	57
Figure 32 : Résultats de la réaction entre le Folin-Ciocalteu et les poly phénols.	58
Figure 33 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	58
Figure 34 : Résultats du dosage des flavonoïdes.....	59
Figure 35 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	59
Figure 36 : Effet antibactérien de l'extrait aqueux de <i>L.nobilis</i> contre <i>E.coli</i> ATCC25922.	61
Figure 37 : Effet antibactérien de l'extrait aqueux de <i>L.nobilis</i> contre <i>S.aureus</i> ATCC25923.....	62
Figure 38 : Effet antibactérien de l'extrait aqueux de <i>L.nobilis</i> contre <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC2856.	62
Figure 39 : Effet antibactérien de l'extrait aqueux de <i>L.nobilis</i> contre <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> ATCC27853.	63
Figure 40 : Effet antibactérien de l'extrait aqueux de <i>L.nobilis</i> contre <i>E. faecalis</i> ATCC29212.....	64
Figure 41 : Exemples des résultats obtenus du dénombrement de la FTAM dans le lait traité par l'extrait aqueux de <i>Laurus nobilis</i>	65
Figure 42 : L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C non additionné (Témoin).	65
Figure 43 : L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné d'extrait de <i>L. nobilis</i> à 2.5mg/ml.....	66
Figure 44 : L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné d'extrait de <i>L. nobilis</i> à 5mg/ml.....	66
Figure 45 : L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné d'extrait de <i>L. nobilis</i> à 10mg/ml.....	67

Introduction

Introduction

Depuis plusieurs siècles, l'homme vit avec les herbes et les utilise pour leurs vertus nutritives et médicinales sans aucune base scientifique. L'Algérie est un pays riche en plantes aromatiques et médicinales utilisées en médecine traditionnelle ou phytothérapie. Ainsi, elles sont utilisées en pharmacie, parfumerie, cosmétique et en agro-alimentaire. Les plantes sont utilisées soit entièrement, soit seulement leurs principes actifs (métabolites secondaires) qui peuvent être des huiles essentielles ou des extraits (**Selles, 2012**).

Les plantes médicinales et aromatiques sont reconnues par leur richesse en composés actifs naturels comme les huiles essentielles et les composés phénoliques qui font l'objet de plusieurs études *in vitro* et *in vivo* (**Hellal, 2011**). Ces composés sont des métabolites secondaires utilisés comme agents aromatisants, parfums, insecticides, colorants et médicaments. Dans nos jours, le développement de la biotechnologie offre plusieurs choix grâce auxquels le métabolisme secondaire d'origine végétal peut être modifié pour synthétiser des composés phytochimique d'intérêt, de nouveaux produits chimiques, et même pour réduire la teneur en composés toxiques (**Gandhi et al, 2015**).

Laurus nobilis L. qui est une plante médicinale et aromatique, appartenant à la famille des Lauracées et se trouve dans le monde entier, est utilisée dans la médecine traditionnelle, dans le domaine culinaire et même comme épices. En effet, les huiles essentielles de cette espèce sont utilisées dans les industries alimentaires, pharmaceutique et cosmétique. Elles ont également un bon effet dans le traitement symptomatique des troubles digestifs supérieurs reconnus traditionnellement (**Yakhelf, 2010**). L'extrait aqueux des feuilles de laurier noble est aussi riche en composés bioactifs notamment les polyphénols (**Ivanović et al, 2009**), qui lui confèrent diverses propriétés thérapeutiques telles que : antioxydante, anti-inflammatoire, antiviral et antimicrobienne (**Chaumun et al., 2020**). L'évaluation des effets biologiques des plantes reste un processus très précieux et très utile.

Le lait est un aliment équilibré, très riche en éléments nutritifs et qui permet de couvrir une grande partie des besoins nutritionnels, c'est l'aliment de base de nombreux mammifères (**Luquet, 1990**). Le lait cru représente la matière première utilisée dans la technologie alimentaire pour produire de nouveaux produits dérivés entre autres le fromage et le yaourt, consommés en quantités importantes aussi bien par l'enfant que l'adulte. Cependant, il est riche en microorganismes qui le détruit après une certaine période d'incubation et pour éviter son altération, ces microorganismes doivent être inhibés ou même tués en utilisant plusieurs

méthodes thermiques comme la stérilisation. D'un autre, ces méthodes de préservation peuvent modifier la qualité organoleptique du lait cru.

Pour cette raison et pour garder la bonne qualité nutritionnelle du lait cru réfrigéré, nous avons pensé d'utiliser des molécules biologiquement actives d'origines végétales comme bio préservateurs. Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles d'origines végétales, et l'espèce choisie est celle de *Laurus nobilis* L.

Ce manuscrit est divisé en deux parties, une bibliographique et autre expérimentale. La partie bibliographique contient trois chapitres, le premier parle des plantes médicinales et l'espèce de *Laurus nobilis*, le deuxième parle des métabolites secondaires, la phytochimie et les activités biologiques, alors que le troisième chapitre contient des informations sur le lait. La deuxième partie contient deux chapitres, matériel et méthodes et résultats et discussion.

Synthèse bibliographique

Chapitre I :
Plante médicinale

I.1. Généralité sur les plantes médicinales

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a utilisé des plantes, d'abord pour se nourrir, puis pour se soigner et au fur et à mesure, il a connu les plantes comestibles et celles toxiques. Au fait, les plantes sont utilisées à des fins guerrières, criminelles, magiques ou pour faciliter la pêche ou la chasse. Ces connaissances sont transmises d'abord oralement, et puis sont enregistrées dans des écrits, ce qui nous a permis de retrouver des traces de leur utilisation dans les plus anciennes civilisations dans le monde entier : Sumérienne, Babylonienne, Egyptienne, Chinoise, Hindoue, Aztèque, Inca, **(Callery, 1998)**.

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses **(Chabrier, 2010 ; Sofowora, 2010)**. Elles sont très utilisées en médecine traditionnelle comme remèdes qui présentent un réservoir immense de composés de structure chimique diverse (métabolites primaires ou secondaires), cette utilisation s'appelle la Phytothérapie **(Orecchioni, 2013)**. Les plantes médicinales sont donc très importantes dans la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, soit comme matière première dans la synthèse des médicaments, soit comme modèle directement utilisable **(Kahlouche, 2014 ; Belkhodja, 2016)**.

Dans ce contexte, nous avons choisi une plante médicinale nommée Laurier (*Laurus nobilis* L) qu'est l'une des plantes médicinales les plus utilisées en Algérie. Elle attire beaucoup l'attention des chercheurs pour son importance économique, sa richesse en composition bioactive et ses propriétés thérapeutiques.

I.2. Espèce *Laurus nobilis* L.

I.2.1. Famille des Lauracées

D'après le botaniste français Antoine-Laurent de Jussieu **(1748-1836)**, pour reconnaître facilement une plante appartenant à la famille des Lauracées, il faut s'attarder sur sa morphologie. Les caractéristiques principales de la détermination des espèces appartenant à la famille des Lauracées sont : avoir un fort pouvoir aromatique, le fruit est une drupe, les drupes sont des fruits charnus et ne contenant qu'une seule graine, ne poussent que dans des climats tropicaux ou au minimum méditerranées et ne se trouvent pas à l'état naturel en régions tempérées même si certaines espèces comme *Laurus nobilis* supportent de petites gelées **(Barla et al, 2007)**.

Les plantes appartenant de la famille des Lauracées sont des plantes à fleurs représentées par 45 genres répartis en 2850 espèces différentes. Ce sont des plantes monocotylédones poussant dans les régions tempérées chaudes et tropicales du monde spécialement l'Amérique du Sud et l'Asie du Sud. La plupart des Lauracées sont des arbres ou des arbustes, les espèces ont des fleurs jaunes, blanche ou vertes arrangées en grappes, des fruits sous forme des drupes charnues semblables. Elles sont utilisées dans la fabrication des parfums ou des savons, d'autres sont exploitées pour leurs bois ou leurs propriétés médicales (**Steven, 2001**).

I.2.2. Historique

Laurus était consacré à Apollon et aux poètes. On pensait que, en le mâchant on obtiendrait le don de la prophétie. D'après Pline c'est une plante sacrée de die à Dionysos, et selon Suétone, Jules César portait toujours une couronne de Laurier (on pense que c'était pour masquer sa calvitie). Déjà les Etrusques tressaient des couronnes avec des branches de Lauriers, tradition reprise par les Romains qui en ceignent le front des héros. Le Laurier est d'ailleurs la seule Lauracée qui pousse en Europe (**Ballabio et Goetz, 2010**). Ils disent que le laurier a été importé de l'Andalousie par Tyr et Jérusalem. Si on en tresse des couronnes au vainqueur, c'est que ses feuilles fanent très lentement. Il semble qu'il ait d'abord retenu l'attention pour ses propriétés cosmétologiques. Le Laurier ne prend ses lettres de noblesse culinaires qu'avec les Romains. Les vertus stimulantes de Laurier sont connues depuis les temps les plus reculés. Les Bédouins du désert mettent une feuille (Fig. 01) de Laurier dans leur café, pour l'aromatiser (**Peris et Blázquez, 2015**).



Figure 01 : Feuilles de *Laurus nobilis* L.

I.2.3. Origine et Répartition géographique

Laurus nobilis L. appartenant à la famille des Lauracées, originaire de l'Europe de sud et l'Afrique du nord, bien que l'espèce se rencontre, aujourd'hui dans l'ensemble des pays méditerranéens. Au fait, cette espèce se trouve dans la région méditerranéenne en particulier les pays suivants : Turquie, Grèce, Espagne, Italie, France et Algérie. Aussi, elle est répartie dans toutes les régions humides, et largement cultivée dans les pays arabes comme la Libye et le Maroc, Actuellement, elle est présente dans le Sud et l'Ouest de l'Europe, et aux Etats-Unis comme plante ornementale (Fig.02). Elle se développe sur les bords des cours d'eau, et s'accommode sur tous les types des sols (Sayyah et al, 2002).

En Algérie, le laurier se trouve notamment dans les forêts et les ravins humides, commun dans le tell de l'Algérie et de Constantine. La floraison de la plante est observée entre les mois de Mars et Avril (Beloued, 2001).

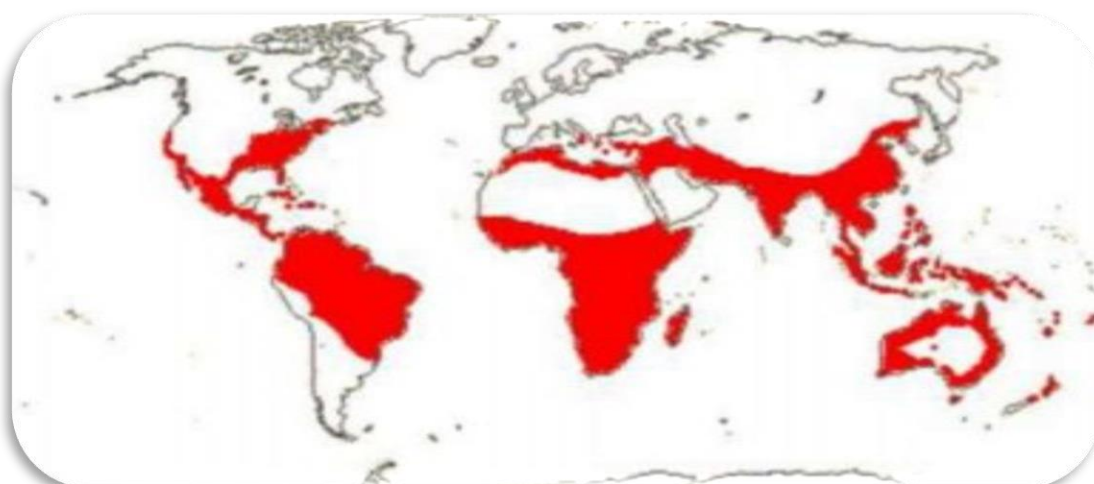


Figure 02 : Répartition géographique de *Laurus nobilis* à travers le monde.

I.2.4. Définition et Etymologie

Laurier (*Laurus nobilis* L) est la seule espèce représentant la famille des Lauracées dans la région méditerranéenne d'où elle est originaire. D'ailleurs, avant d'être Laurier sauce, il s'appelait laurier commun, laurier d'apollon ou laurier noble, un arbre vénéré par les romains et béni par les chrétiens, aux jeux pythiques grecs les vainqueurs recevaient une couronne de laurier (Vetvicka et Matousova, 1991).

Le laurier noble prend une place importante tant dans le domaine mythologique, culinaire et médicinale depuis l'antiquité, car ses feuilles renferment plusieurs substances actives (Bruneton, 1993).

I.2.5. Classification botanique et nomination

La classification botanique de *Laurus nobilis* L. Est la suivante :

Règne : Plantae

Sous /règne : Plante vasculaire

Embranchement : Spermaphyte

Sous / Embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédone

Sous / classe : Dialypétale

Ordre : Laurale

Famille : Lauracée

Genre : *Laurus*

Espèce : *Laurus nobilis* L. (Quezel et Santa, 1962)

En Algérie, le nom le plus connue et le plus populaire de cette espèce est 'El-Rand', cependant il est nommé par d'autres dénominations dans les autres pays du monde (Tab. 01).

Tableau 01 : Dénomination internationale de *Laurus nobilis* L. (Anton et Lobstein, 2005).

Pays	Dénomination vernaculaire
Français	Laurier commun, laurier sauce, laurier d'apollon, laurier franc,
Allemand	Bay, Lorbeebaum, Gewurzlörbe
Anglais	Bay, Sweet Bay, Bay laurel, True Laurel, Roman Laurel, Noble Laurel.
Arabe	الغار، الرند، ورق سيدنا موسى
Kabille	Thasselte

I.2.6. Description botanique de Laurier

Ce grand arbuste aromatique de 2 à 10 mètres de hauteur à croissance lente (environ 5m à 6m par vingt ans) et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique. Il possède une tige glabre à écorce noir à gris foncé et lisse noire (Fig.03) (Beloued, 2009).



Figure 03 : Arbuste de *Laurus nobilis* L.

I.2.6.1. Feuilles

Les feuilles du Laurier noble est persistant, aromatiques, simples, alternes et coriaces dont le pétiole mesure de 2 à 5cm, longues de 5 à 12cm et large de 2 à 6cm. Elles sont lancéolées, légèrement ondulées et entaillées au bord ; de couleur vert foncé, brillantes sur la face supérieure et verte clair au-dessous avec des nervures latérales pennées et rougeâtres (Fig.04) (Quezel et santa, 1963). Elles contiennent une huile essentielle représentant 1 à 3 % du poids sec, des alcaloïdes comme l'actinodaphnine qui sont responsables d'une activité cytotoxique (in vitro), ainsi que 18 flavonoïdes dont certains dérivés du kaempférol.



Figure 04 : Feuilles de *laurus nobilis* L.

I.2.6.2. Fleurs

Sont dioïques de 0,4 à 0,8 cm unisexuées avec une couleur jaune verdâtre, à périanthe simple soudé à la base et regroupées en 4 à 6 ombelles (Fig.05). Les fleurs mâles possèdent 8 à 12 étamines rudimentaires et les fleurs femelles sont dotées d'un ovaire hypogyne à un compartiment avec un stigmate en trois parties (**Beloued, 2005**).



Figure 05 : Fleurs de *Laurus nobilis* L.

I.2.6.3. Fruits

Sont des baies ovoïdes, soutenue par le tube périanthaire peu dilaté. De 2 cm de longueur à 1 cm de largeur, noir vernissé renfermant une seule graine libre (Fig. 06) (**Beloued, 2005**). Le mésocarpe charnu renferme de l'huile et des cellules à huile essentielle. Les cotylédons épais sont également riches en lipides ; elles contiennent 30% d'huile grasse

et environ 1% d'huile essentielle (terpènes, sesquiterpènes, alcools et cétones). Lorsque les fruits sont pressés et bouillis, le résultat est un mélange appelé huile de laurier. Elle est colorée en vert par la chlorophylle et ressemble à une pommade fondant à 36°C (**Myose et Paris, 1976**).



Figure 06 : Fruits de *Laurus nobilis* L.

I.2.6.4. Ports

Arbustes ou petit arbre aromatique glabre de 1m à 8m et peuvent atteindre parfois 20m en culture. Aussi, ils sont dressés et densément ramifiés des la base, avec une tête conique s'arrondissant en fonction de l'âge, et supportent très bien la taille dioïque (**Quezel et Santa, 1963**).

I.2.6.5. Bourgeons

Bourgeons et branches Bourgeons sont coniques, étroits (2-4 mm de long), verts et teintés de rouge. Également, ils sont des branches ascendantes, densément feuillues jeunes pousses grêles et glabres de couleur vert teinté de rouge (Fig.07) (**Stursa, 2001**).



Figure 07 : Bourgeons de *Laurus Nobilis* L.

I.2.6.6. Branches

Sont remontées en oblique avec des jeunes pousse fines, glabres et brun rougeâtre, dont les bourgeons sont étroits, verts rougeâtres et longs de 0.2 à 0.4cm (Fig.08) (Quezel et Santa, 1963).



Figure 08 : Branches de *Laurus nobilis* L.

I.2.6.7. Tiges

Les tiges des rameaux sont droites et grises dans sa partie basse et verte en haut (Iserin, 2001). Au début de sa croissance, le tronc possède une écorce vert olive à noire qui deviendra grise au fil des années. La constitution d'une écorce véritable nécessite plusieurs années (Beloued, 2005).

I.3. Usage et propriétés thérapeutiques de *Laurus nobilis*

Cette espèce est une plante médicinale utilisée en raison de ses effets potentiels pour la santé et même pour ses propriétés pharmacologiques liés à sa composition chimique. Également, ses feuilles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaire et comme aromatisant en cuisine et industrie alimentaire (Beloued, 2009).

En médecine traditionnelle, le laurier est principalement utilisé, par voie orale, pour traiter les symptômes des troubles de l'appareil digestif supérieur comme le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion, éructations et flatulence (Iserin, 2001). En outre, les feuilles sont aussi utilisées dans la médecine iranienne pour traiter l'épilepsie et le parkinsonisme (AqiliKhorasani, 1992). L'extrait aqueux est utilisé en Turquie en tant qu'antihémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac (Kivçak et Mert, 2002). L'infusion aqueuse

des feuilles est employée pendant de nombreuses années chez les femmes européennes pour soulager les douleurs du placenta (**Iserin, 2001**). La décoction de feuilles à la dose de 20g/l est utile contre les bronchites chroniques, l'hydropisie, les fermentations intestinales, l'insomnie ; laurier favorise l'apparition des règles et agit contre les règles douloureuses (**Bouchaale et al., 2015**).

Les feuilles sont aussi utilisées en usage externe pour des bains aromatiques antirhumatismaux, en gargarisme et bains de bouche contre les angines, infections bucco-pharyngées, en compresses sur les fronts contre la sinusite (**Beloued, 2009**).

Plus que l'extraction aqueuses, les huiles essentielles des feuilles de laurier sont aussi utilisées pour le soulagement d'hémorroïdes et des douleurs rhumatismales (**Sayyah et al., 2002**). Elles s'utilisent également en industrie cosmétique, en parfumerie et dans la fabrication des savons. Elles comptent parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants (**Demir, 2004**).

I.4. Pays producteurs et exportateurs de *Laurus nobilis* L.

L'Italie, la Grèce, la Turquie, la Syrie, l'Espagne, le Maroc, l'Albanie, la France, le groupement des états indépendants (autre de la Mer noire), l'Amérique centrale et l'Amérique du Sud se considèrent comme. Les principaux pays producteurs de *Laurus nobilis* L. Cependant, les pays du bassin méditerranéen, notamment la Turquie et la Syrie sont les principaux pays exportateurs (**Teuscher et al., 2005**).

I.5. Toxicité de *Laurus nobilis*

Les feuilles et l'huile essentielle de *Laurus nobilis* qu'ils ne semblent pas avoir d'effets toxiques significatifs. Mais ces effets provoquer des réactions de sensibilisation (dermatite de contact allergique) puisqu'elles renferment des lactones sesquiterpéniques dont le principal est le costunolide ; la présence des lactones sesquiterpéniques présentant un groupement méthyle exocyclique explique le potentiel de sensibilisation modéré exercé par la drogue. La plante ne perd pas son caractère allergisant après cuisson, ils peuvent donc conduire à des manifestations allergiques comme des inflammations buccale et stomacale ; les études de toxicité relatives à l'huile artisanale du fruit donnent un profil de réponse similaire à celui de l'HE des feuilles, avec une probable hépatotoxicité dose-dépendante (**Ballabio, 2010**) ; et selon la dose, les symptômes neurologiques tels que des hallucinations visuelles et auditives à des changements dans la couleur, le temps et l'espace, des

convulsions, des tremblements, léthargie, confusion, délire et la psychose peuvent apparaître qui pourrait durer jusqu'à 3 jours (**Caldas et *al.*, 2008**).

Chapitre II :
Métabolites secondaires et les
effets biologiques

Parmi les caractéristiques majeures des végétaux leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées appelant les métabolites secondaires. Ces derniers sont très importants et sont accumulés dans les plantes mais leur fonction physiologique n'est pas toujours connue (**Macheix et al, 2005**).

II.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules produisant à partir du métabolisme secondaire après un ensemble de réaction biochimiques effectuées par la cellule vivante. (**Marouf et Reynaud, 2007**). Ils ont une répartition limitée dans les différentes espèces de végétaux, et leur présence est très importante pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, comme signaux chimique, pour défendre leur producteur contre les herbivores et les pathogènes. Comme ils participent à des réponses allopathique (compétition entre les plantes pour la germination et croissance) (**Jeaun et al, 2005**). Il existe trois grands groupes des métabolites secondaires :

- ✓ Les Alcaloïdes.
- ✓ Le composé phénolique.
- ✓ Les Terpène

II.2. Localisation des métabolites secondaires

Ces produits peuvent se trouver à différents endroits dans la cellule et emmagasiner notamment dans les vacuoles. Ils sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre (**Raven et al., 2007**).

II.3. Poly phénols et flavonoïdes

II.3.1. Généralités sur les Poly phénols

Les polyphénols sont des métabolisme secondaire(phytom micronutriments) synthétisés par les végétaux, et permet aux plantes de se défendre contre les agressions environnementales (**Gee et Johnson, 2001**). Ils forment une immense famille des molécules (plus de 8000 composés naturels) divisées en plusieurs catégories: les flavonoïdes (représentent plus de la moitié des polyphénols), les tanins (produits de la polymérisation des flavonoïdes), les acides phénoliques, les coumarines, les lignines (**Dacosta, 2003**). Au fait, ils sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzène auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que d'autres groupes fonction comme :ester,

méthyle ester, glycoside (Fig 10) (Bruneton, 1999). Les molécules de cette classe sont commodément classées selon le nombre d'atomes de carbone dans les squelettes de base (Dacosta, 2003).

De nombreuses recherches ont prouvé l'impact positif de leur consommation sur la santé publique. En effet, elles encouragent la consommation des aliments d'origine végétale riches en polyphénols, car elles ont prouvé leur capacité de prévenir de nombreuses pathologies entre autre: le cancer, les maladies dégénératives et cardio-vasculaires. Ils ont un pouvoir antioxydants remarquable grâce à leurs effets protecteurs dans l'organisme (wang et al., 2008)

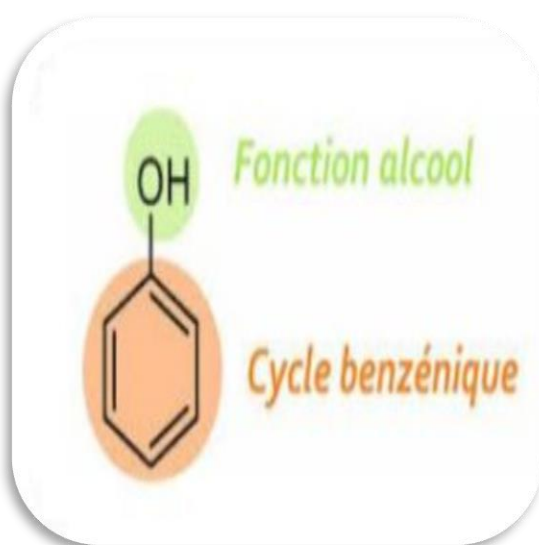


Figure 09 : Structures de base des poly phénols.

II.3.2. Généralités sur les flavonoïdes

Au sens large, ce sont des pigments quasiment universels des végétaux, et leurs molécules se répartissent en plusieurs classes, dont les plus importantes sont: les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les anthocyanidines, les isoflavones, les isoflavandiols, les chalcones, les aurones et les anthocyanes. En outre, ils constituent la classe la plus importante (en nombre) des poly phénols, dont plus de 4000 composés sont identifiés (équivalent de 50% des poly phénols) (Effendi et yajun, 2008). Les flavonoïdes ont une structure de base formé de 2 noyaux de benzène A et B reliés par un noyau C qui est un hétérocycle puranique (Fig 11) (Lobestein, 2010).

Les diverses structures des flavonoïdes se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. Ils se trouvent, généralement, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Merghaen, 2009).

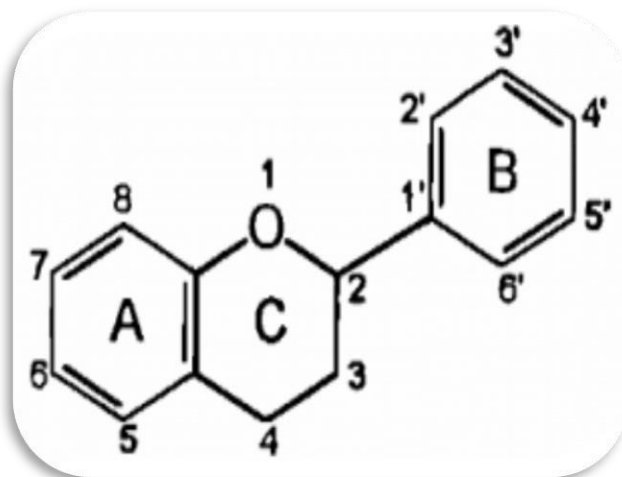


Figure 10 : Structure des flavonoïdes.

II.4. Effets biologiques et propriétés pharmacologiques de *Laurus nobilis*

Laurus nobilis est une espèce connue à l'échelle mondiale avec ses vertus thérapeutiques, elle a un pouvoir médicinal très élevé dont on cite : l'effet antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, cicatrisant, etc.

II.4.1. Effet antioxydant

Une recherche faite par Elmastaş et al. (2006) sur les extraits aqueux et éthanolique de partie aérien (feuilles) a montré la présence d'une forte activité antioxydante en émulsion d'acide linoléique (Elmastaş et al., 2006). Ainsi, l'effet antioxydant des extraits méthanoliques (bruts et dégraissés) des feuilles, d'écorces et des fruits de *Laurus nobilis* L. sur la peroxydation des lipides dans les liposomes est étudié, et a enregistré une bonne activité antioxydante pour tous les extraits mais la meilleure inhibition est observée avec l'extrait dégraissé des feuilles (Simic et al., 2003). Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle, de l'extrait éthanolique et du décocté de dix espèces de plantes médicinales dont *Laurus nobilis* L. est testé et a montré l'existence d'une activité élevée des trois extraits mais elle est plus élevée dans la fraction polaire (Ferreira et al., 2006).

II.4.2. Effet cytotoxique

Les extraits éthanol, n-hexane et aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* ont été testés pour leurs propriétés cytotoxiques en utilisant l'essai biologique de crevette de saumure (*Artemiasalina*). Seul l'extrait n-hexane exhibé une activité cytotoxique contre la crevette de saumure même si on l'avérait moins active que la colchicine. Dans le criblage phytochimique tous les extraits ont donné des résultats positifs pour les sesquiterpènes, les extraits éthanol et aqueux pour les alcaloïdes mais seulement l'extrait n-hexane était positif pour les flavonoïdes et la vitamine E. En conclusion, les glycosides flavonol pourraient être des principes actifs responsables de l'activité cytotoxique observée (**Kivçak et Mert, 2002**).

II.4.3. Effet gastroprotecteur

En Turquie, *Laurus nobilis* est utilisé pour traiter les maux d'estomac et donc des études sont menées sur ce sujet pour tester son effet anti-ulcérogène. Un extrait méthanolique et un décocté des fruits sont préparés et sont testés sur un modèle d'ulcère gastrique induit par l'éthanol chez des rats. Après la lecture des coupes histologiques et l'analyse pharmacologique, les résultats obtenus ont montré que ces deux extraits ont un bon effet gastro-protecteur (**Gerbez et al., 2002**).

II.4.4. Effet inhibiteur d'enzyme

L'activité inhibitrice de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) (enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine donnant la choline et l'acétyle) est étudiée sur l'extrait éthanolique et le décocté des feuilles de *Laurus nobilis*. Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique a donné un pouvoir inhibiteur élevé de l'ordre de 64% (1g/ml), ce qui prouve que l'espèce peut aider à traité ou soulager les patients souffrant de la maladie d'Alzheimer, puisque les drogues approuvées pour la thérapie de cette maladie agissent en contrecarrant le déficit d'acétylcholine (**Ferreira et al., 2006**).

II.4.5. Effet antidiabétique

Les feuilles de *Laurus nobilis* L. Sont rapporté d'avoir un effet antidiabétique et de renforcer en glutathion S-transférase hépatique. L'administration de 200 et 600mg/kg de doses de l'extrait méthanolique de cette partie de la plante produit une diminution significative de la glycémie (**Bechkriet Meslem, 2018**).

II.5. Méthodes d'extraction des substances bioactives

L'extraction est la séparation des parties actives des tissus végétaux, des composants inactifs ou inertes à l'aide d'un solvant sélectif. Les produits ainsi obtenus sont relativement impurs sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinées à un usage oral ou externe. Les méthodes d'extraction les plus utilisées pour extraire les molécules non volatiles sont : la macération, l'infusion et la décoction. La macération peut être effectuée avec n'importe quel solvant organique ou inorganique, par contre l'infusion et la décoction sont utilisées seulement avec l'eau (**Peris et al.,2015**).

Chapitre III :
Lait cru de vache

III.1. Généralité sur lait

L'homme consomme le lait depuis 12000 ans, on retrouve au Proche-Orient, les premières traces d'élevage des chèvres et des brebis. Le terme « lait », qui est apparu dans la langue au XIII^e siècle, vient du latin '*lac*' ou '*lactis*' qui signifie lait. Ce fut ensuite le tour des vaches d'être domestiquées dans les montagnes de la Turquie, de la Macédoine et de la Grèce. La place du lait et des produits laitiers dans l'alimentation est ensuite développée au cours des millénaires (Cniel, 2013).

En effet, la production mondiale de lait provient presque entièrement des bovins, des chèvres, des brebis et des chamelles. La présence et l'importance de chacune de ces espèces varie considérablement en fonction des pays et des régions. Divers paramètres déterminent leur présence au sein de l'élevage, à savoir : le fourrage, l'eau, le climat, la demande du marché, les traditions alimentaires et les caractéristiques socio-économiques de chaque ménage (Cniel, 2013).

Le lait est un liquide de couleur blanche (Fig 12), opaque, de saveur douce et légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, naturellement produit par les mammifères femelles. Ainsi, il fait partie des produits laitiers et c'est l'aliment le plus consommé en Europe notamment le lait de vache, malgré l'existence de plusieurs sources du lait telles que les chèvres et les brebis. Reconnaisable à sa couleur blanche et à sa saveur très subtile, le lait est un ingrédient presque incontournable de notre cuisine quotidienne (Aboutayeb, 2009).



Figure 11 : Lait cru.

III.2. Propriétés physico-chimiques du lait

La composition du lait est caractérisée par une grande complexité dans la nature et la forme de ses composants, de point de vue physique, le lait présente une hétérogénéité, puisque certains composants sont dominants de point de vue quantitatif, ce sont l'eau, la matière grasse, les protéines et le lactose ; les composants mineurs sont représentés par les matières minérales, les enzymes et les vitamines. Les propriétés physiques comme la densité absolue, la viscosité, la tension superficielle et la chaleur spécifique dépendent de l'ensemble des constituants (Vignola, 2010) ; les principales propriétés du lait sont les suivants :

- **La densité** : varie entre 1,028 et 1,035 à 15°C.
- **L'acidité** : de 15 à 17°D
- **Le point d'ébullition** : à 100.5°C.
- **Le point de congélation** : de -0,530°C à -0,575°C.
- **pH** de 6,6 à 6,8 (Yennek, 2010).

III.3. Caractéristiques organoleptiques du lait

Les paramètres organoleptiques caractérisant la qualité du lait cru sont : l'aspect, l'odeur, la saveur et la texture.

➤ Couleur

Le lait a une couleur blanc mat, dont les responsables de cette couleur sont : la grande quantité de la matière grasse et les pigments de carotène (la vache transforme le β -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait) (Fredot, 2005). Ainsi, les lipides se trouvent sous forme de globules de matière grasse, alors que les protéines se trouvent sous forme de micelles de caséines, ces amas diffractent la lumière et dispersent les rayons lumineux sans les absorber (Reumont, 2009).

➤ Odeur

Le lait a une odeur caractéristique due de la matière grasse existante qui fixe l'odeur de l'animale. Elle est liée principalement à l'alimentation animale (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend la durée de conservation du lait (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique) (Vierling, 2003).

➤ **Saveur**

Le lait normal a une saveur agréable et caractéristique, cependant, ceux chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent. Aussi, le gout amer peut transmettre au lait et donc lui donne une saveur anormale. L'apparition de cette dernière peut être due de la pullulation du lait par certains germes d'origine extra-mammaire (**Thieulin et Vuillaume, 1967**).

➤ **Viscosité**

Ce paramètre organoleptique est très important pour que le lait soit acceptable par le consommateur. Au fait, elle a une relation directe avec les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes dans le lait, dont le taux de la graisse et de la caséine influent fortement la viscosité du lait (**Rheotest, 2010**).

III.4. Importance nutritionnelle

Le lait joue un rôle très important dans l'alimentation humaine, tant au point de vue calorique que nutritionnel. Un litre de lait correspond à une valeur d'environ 750 Kcal facilement utilisable. Comparativement aux autres aliments, il constitue un élément de haute valeur nutritionnelle. L'intérêt alimentaire du lait est :

- Une source de protides d'excellente valeur biologique.
- La principale source de calcium
- Une source de matière grasse
- Une bonne source de vitamines (**Leroy, 1965**)

Le lait est également une excellente source de minéraux intervenant dans divers métabolismes humains notamment comme cofacteurs et régulateurs d'enzymes. Le lait assure aussi un apport non négligeable en vitamines connues comme les vitamines A, D, E (liposolubles) et vitamines B1, B2, B3 (hydrosolubles). Il est néanmoins pauvre en fer et en cuivre et il est dépourvu de fibres (**Cheftel, 1996**).

III.5. Compositions du lait

III.5.1. Composition interspécifique

Le lait des mammifères n'est pas identique. Au fait, le lait des ruminants a un taux élevé de protéines et se distingue par une proportion importante d'acides gras à courte chaîne. Toutefois, dans le lait de vache et de chèvre les lipides, les protéines et lactose sont

les mieux réparties. Le lait de femme est moins riche en protéines que le lait de vache, de brebis, de chèvre et de chamelle (**Cayot et Lorient, 1998**) (Tableau 02).

Tableau 02 : Composition interspécifique du lait de différentes espèces (**d'après Pereira 2014 ; Fayolle, 2015**).

Espèces	Vaches	Brebis	Chèvre	Chamelle
Matières grasses (g /kg)	36 à 37	73 à 79	32 à 38	38 à 40
Protéines (g /kg)	32 à 34	55 à 62	29 à 34	10 à 12
Lactose (g /kg)	46 à 48	44 à 49	41 à 43	60 à 70
Matières minérales (g /kg)	7	8	9	2

III.5.2. Compositions moyennes

Le lait est un liquide aqueux de composition équilibrée en lipides, glucides, protéines, sels et en vitamines Il contient :

➤ Eau

L'eau est le principal constituant du lait ; elle est de deux formes : l'eau extra micellaire 90% de l'eau totale renferme la totalité des constituants solubles, et l'eau intra micellaire 10% de l'eau totale (**Mathieu, 1998**).

➤ Glucides

Les glucides représentent le deuxième constituant après l'eau dans le lait avec une teneur de 38% de la matière sèche (**Perreau, 2014**). Le lactose est le glucide prédominant du lait (47 à 52 g/l), il est le constituant le plus stable du lait (**Roca-Fernandez, 2014**), il intervient dans la fermentation du lait et est éliminé en grande partie dans le lactosérum. Le lait peut contenir d'autres glucides comme le glucose et le galactose, mais à des faibles quantités (**Amiot et al., 2002**).

Selon la polarité électrique, on peut distinguer :

- **Les glucides neutres** : lactose, glucose, galactose.
- **Les glucides azotés** : glucosamine N-acétylée et galactosamine N-acétylée.
- **Les glucides acides liés aux glucides neutres ou azotés** : acide sialique. (**Sandra, 2001**).

➤ Matières grasses

La teneur en matières grasses du lait est la quantité de substances dans un litre ou kilo de lait séparée des autres constituants par une méthode reconnue. (Sandra, 2001). La matière grasse est sous forme de globule gras qui se trouve en émulsion dans la phase aqueuse du lait (Pointurier *et al.*, 1969). Le diamètre des globules gras est variable de 0,1 à 15 µm (Roca-Fernandez, 2014). Une émulsion reposée peut se séparer en deux phases ; il y a une remontée des globules qui est un phénomène réversible (le phénomène du crémage). Dans le lait de vache, la remontée de la crème est plus rapide que dans celui de la chèvre, ceci est dû à la présence de globulines qui favorisent l'agglutination des globules gras entre eux. (Sandra, 2001).

➤ Protéines

Le lait contient entre 3,2 et 3,5 g de protéine 80% de caséine soluble dans l'eau qui sont liées au phosphore et au calcium. La moitié est sous forme d' α -caséine, bêta, gamma, kappa. Elles coagulent à un pH = 4,8. Il existe divers types de protéines comme l'immunoglobuline et les enzymes telles que les protéases, les phosphatases, les lipases et les lysozyme (site 1) (Tableau 03)

Tableau 03 : Protéines du lait (d'après Cayot et Lorient, 1998).

	Protéines	Concentration massique
Caséines insolubles 80% protéines totales	Caséines α_1	10 g/l
	Caséines β	9,3 g/l
	Caséines κ	3,3 g/l
	Caséines α_2	2,6 g/l
	Caséines γ	0,8 g/l
Protéines solubles du lactosérum 20 % des protéines totales	β -lactoglobuline	2 à 4 g/l
	α -lactalbumine	1,0 à 1,5 g/l
	Immunoglobuline	0,4 à 1 g/l
	Sérum-albumine bovine	0,4 g/l
	Lactoferrine	0,2 g/l

➤ **Éléments minéraux**

La teneur du lait en minéraux est de 5%. Cette teneur est sous l'influence de plusieurs facteurs tels que l'espèce, la race, le stade de lactation et l'alimentation (**Hupperts et Kelly, 2009**). Le lait de vache est pratiquement riche en macroéléments cationiques et anioniques comme le phosphore, le calcium le potassium et le magnésium (**Fayolle, 2015**). Le lait contient aussi des oligo-éléments indispensables tels que le fer, le zinc, le cuivre l'iode et le fluor (**Sandra, 2010**). Les minéraux se présentent sous forme de sels minéraux dans le lait (phosphates, chlorures, potassium, calcium et magnésium). Une partie des sels minéraux se trouvent sous forme soluble, et une partie se trouve dans la phase colloïdale insoluble en association avec les caséines (**Hupperts et Kelly, 2009**). Les minéraux se répartissent entre les deux phases soluble et colloïdale ; le calcium et le magnésium (alcalino-terreux) sont distribués entre les deux phases, alors que le sodium et le potassium (alcalins) sont présents en totalité dans la phase soluble du lait (**Sandra, 2010**). Les équilibres minéraux sont influencés par l'élévation et la diminution de la température ; l'abaissement de la température entraîne une solubilisation partielle du calcium micellaire, alors que son augmentation entraîne une diminution du calcium soluble qui passe dans la phase micellaire (Tableau 04).

Tableau 04 : Éléments minéraux du lait cru (**Jeant et al., 2007**) .

Éléments minéraux	Concentration (mg-kg)
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphates inorganique	1905-2085
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

➤ Composés azotés protéiques

Le lait est riche en lysine (acide aminé et fait partie des protéines) comme tous les aliments d'origine animale. Il a une valeur biologique et un CUD (Coefficient d'utilisation digestive) de 97%, ce qui fait des protéines de très bonne qualité (site 1).

➤ Lipides

Le lait cru est du lait entier, il contient 3, 6 g de lipides, il est composé de 97 à 99% de triglycérides avec 2/3 acides gras saturés, 1/3 acides gras mono-insaturés et 3% acides gras poly-insaturés. On retrouve des acides gras saturés à longue chaîne tel que l'acide palmitique, stéarique et des acides gras à chaîne courte tel que l'acide butyrique qui lui donne une saveur caractéristique aux dérivés du lait (beurre). La proportion des acides gras à chaîne courte et moyenne lui confère une bonne digestibilité ; des lécithines qui permettent de maintenir les globules de graisses en solution et des stérols avec 15 mg de cholestérol (site 1) (Tableau 05).

Tableau 05 : Constituants lipidiques du lait cru (Fao, 1998).

Constituants lipidique	Proportions	Localisation
Triglycérides	96-98	Globule gras
Di glycérides	0, 3-1, 6	Globule gras
Mono glycérides	0, 0-0, 1	Globule gras
Phospholipides	0, 2-1	Membranes des globules gras et lactosérum
Cérébrosides	0, 0-0, 08	Membrane des globules gras
Stéroïdes	0, 2-0, 4	Globules gras
Acides gras libres	0, 1-0, 4	Membranes des globules gras et lactosérum
Esters du cholestérol	Traces	Membrane des globules gras
Vitamines	0, 1-0, 2	Globule gras

III.5.3. Compositions biologiques

➤ Vitamines et énergie

Le lait contient des vitamines liposolubles et des vitamines hydrosolubles :

- Les vitamines liposolubles sont : vitamines A, D, E et K ; ces vitamines sont soit associées à la matière grasse soit au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie.
- Les vitamines hydrosolubles du groupe B et vitamine C ; ce sont les vitamines de la phase aqueuse du lait (**Perreau, 2014**). La teneur du lait en vitamine C est relativement faible. Les teneurs en vitamines dépendent beaucoup de l'alimentation. Les vitamines du groupe B synthétisées par les bactéries du rumen sont stables par apport à d'autres vitamines (**Fayolle, 2015**). Les vitamines liposoluble sont seules d'origine alimentaire (**Sandra, 2010**). De plus, l'énergie donnée pour 100 ml de lait est 260 kJ(site 1).

➤ Enzymes

Dans le lait de vache, environ 20 enzymes ont été caractérisées. Quarante autres enzymes ont été démontrées via leur activité. On trouve des enzymes indigènes de lait dans les micelles de caséine, dans des globules gras du lait, dans le sérum du lait ou des cellules somatiques. Ces enzymes peuvent être utilisées comme indices de la santé animale ou de l'histoire thermique du lait, elles peuvent entraîner une détérioration de la qualité ou induire des changements souhaitables dans le lait et les produits laitiers comme elles peuvent également offrir des effets protecteurs (**Fox, 2003a**). Les principales enzymes laitières indigènes importantes sur le plan technologique sont : la plasmine, la lipoprotéine lipase, la phosphatase alcaline et la lactoperoxydase (**Tamime, 2009**).

III.6. Micronutriments contenus dans le lait

Parmi les nutriments contenus dans le lait en bonne quantité, nous pouvons citer les suivants :

➤ Calcium

Le lait est une excellente source de calcium qui représente le minéral le plus abondant dans le corps. Le calcium est majoritairement entreposé dans les os, dont il fait partie intégrante. Il contribue à la formation des os et des dents, ainsi qu'au maintien de leur santé. Le calcium joue aussi un rôle essentiel dans la coagulation du sang, le maintien de la pression sanguine et la contraction des muscles, dont le cœur(site01).

➤ **Phosphore**

Le phosphore est le deuxième minéral le plus abondant dans l'organisme après le calcium. Ce minéral joue un rôle essentiel dans la formation et le maintien de la santé des os et des dents. De plus, il participe à la croissance et à la régénération des tissus, aide à maintenir le pH du sang à la normale et est l'un des constituants des membranes cellulaires (site01).

III.7. Valeurs nutritionnelles et caloriques du lait

Le tableau ci-après représente la qualité nutritionnelle et calorique du lait écrimé, du lait demi-écrimé et du lait entier (Tableau 05).

Tableau 06 : Valeurs nutritionnelles et caloriques du lait (site 2).

Poids/ Volume	Lait esrimé/100ml	Lait demi écrémé, 100 ml	Lait entier, 100ml
Calories	33	46, 4	65
Protéines	3, 51 g	3, 2 g	3, 25 g
Glucides	4, 64 g	4, 9 g	4, 85 g
Lipides	0, 06 g	1, 5 g	3, 63 g
Fibres alimentaires	0, 0 g	0, 0 g	0, 0 g

III.8. Facteurs de variations de la qualité du lait

La composition du lait et ses caractéristiques technologiques sont sous l'influence d'un grand nombre de facteurs, liés à l'animal ou au milieu (Coulon *et al.*, 1991).

III.8.1. Facteurs liés à l'animal

La performance d'un animal est définie comme étant la résultante de son potentiel génétique(génotype) et les conditions d'élevage dans lesquelles il est entretenu (environnement). Ainsi, pour avoir une production laitière élevée, il ne suffit pas d'avoir un animal avec un potentiel génétique élevé, mais il faut aussi lui fournir des conditions d'élevage adéquates pour extérioriser son potentiel (Boujenane, 2003).

III.8.2. Facteurs physiologiques

➤ Stade de lactation

La composition du lait est influencée par le stade de lactation. Certains auteurs ont mis en évidence des variations dans les teneurs en matières grasses et en protéines. Les teneurs en matières grasses et en matières protéiques évoluent d'une façon inverse de la production laitière. Les teneurs sont maximales au cours des premiers jours de lactation, diminuent durant le 2^{ème} mois de lactation puis s'accroissent jusqu'à la fin de lactation. Le temps de coagulation augmente au début de lactation, reste stable au milieu puis il diminue ou bien il augmente de nouveau en fin de lactation selon certains auteurs. La teneur en lactose est aussi influencée par le stade de lactation ; la synthèse du lactose débute avant la mise basse en quelques jours. La production et la teneur du lait en lactose suit la même allure que la production laitière : un pic entre 30 et 60 jours de lactation puis une diminution régulière sur la suite de la lactation (**Miglioret *et al.*, 2006, Malchiodiet *et al.*, 2014**).

➤ Effet de l'âge

Le numéro de lactation intervient dans l'épanouissement de l'activité sécrétoire de la mamelle. Le sommet de la production laitière est atteint à partir de la 5^{ème} lactation (**Yennek, 2010**). Les taux butyreux supérieurs à la moyenne chez des vaches primipares et des taux protéiques inférieurs chez des vaches multipares. (**Coulon *et al.*, 1998**) notent que le rapport caséines ; protéines diminue avec l'âge, notamment après la 4^{ème} lactation, il peut passer de 82, 5% dans la lactation numéro 1 à 81, 7% durant la 5^{ème} lactation ; ceci peut être expliqué, selon les mêmes auteurs, par l'altération des capacités de synthèse du tissu sécréteur et l'augmentation de la perméabilité tissulaire, en particulier sous l'effet des mammites survenues au cours des lactations précédentes. La teneur en lactose diminue avec l'âge et le nombre de lactations (**Miglioret *et al.*, 2006**). Selon certains auteurs (**Malchiodiet *et al.*, 2014 ; Lucy *et al.*, 2009**), la concentration en lactose est plus faible de 1, 9 à 3, 1% entre des vaches multipares par rapport à d'autres primipares. L'augmentation de l'âge au vêlage entraîne chez les primipares une diminution de lactose de 0, 3% entre un vêlage à 20 mois ou 52 mois.

➤ Effet de l'état de santé de l'animal

Les maladies qui peuvent entraîner des chutes notables dans la production et la composition du lait dans les élevages laitiers sont les mammites cliniques, les troubles digestifs, et la rétention placentaire. Une infection mammaire perturbe le fonctionnement de

la glande et la composition du lait produit. Ces perturbations résultent de l'infection elle-même, suite à la présence de bactéries pathogènes (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*) dans la glande mammaire infectée et de la réaction inflammatoire de défense (**Rezamand et al., 2007**). Ce processus se traduit par différentes lésions et modifications des tissus (**Pyorala, 2003**).

III.9. Microbiologie du lait

III.9.1. Qualité bactériologique du lait

Le lait contient un nombre variable de cellules ; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène qui sont la plupart des microorganismes contaminants. Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont des bactéries mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère) et diverses substances protéiques (**Institut des techniques des élevages, 2009**).

L'importance et la nature des bactéries contaminantes du lait, dépendent de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages, mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (**Robinson, 2002**).

Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par millilitre, les bactéries conditionnent la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première (**Institut des techniques des élevages, 2009**).

➤ Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10³ germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées caténines qui ont une activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite). La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la

sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles. Il s'agit de microcoques, mais aussi Streptocoques lactiques et Lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Guiraud, 2003).

➤ Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la collecte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement entérobactéries, *Pseudomans*, *Flavobacterium*, microcoques, *Bacillus*, etc., ou par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière. Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et éventuellement d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (Leyral et Vierling, 2007). D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : Streptococcus pyogènes, *Corynebactérium pyogènes*, *Staphylocoques*, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en présence d'anomalies du pis : *Salmonella*, *Brucella*, agent de la fièvre de Malte et exceptionnellement *Listeriamonocytogenes* ; *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium tuberculosis*, agents de la tuberculose, *Bacillus anthracis*, *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre, et quelques virus. Hormis les maladies de la mamelle, le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (Cuq, 2007).

III.9.2. Micro-organismes du lait

Le lait est un milieu idéal pour la croissance de nombreux organismes, ayant une teneur élevée en eau, en nutriments et un pH presque neutre (6,4 à 6,8). Une offre abondante de nourriture et d'énergie est disponible sous forme de sucres (Fayolle, 2015), graisses, citrate

et composés azotés tels que les protéines, les acides aminés, l'ammoniac, l'urée et autres composés azotés non protéiques (**Frank et Hassan, 2003**).

Les microorganismes présents dans le lait peuvent être classés en deux groupes : pathogène ou d'altération et les microorganismes utiles ou d'intérêt technologique. Les organismes pathogènes sont ceux qui sont capables d'induire une intoxication alimentaire, constituant ainsi une menace pour la santé publique (**Tamime, 2009**).

En raison de leurs enzymes élaborées (protéases, peptidases, lipases, estérases, oxydases, polymérases, galactosidases), les organismes d'altération sont capables d'hydrolyser les composés du lait comme les protéines, les graisses et le lactose afin de produire des composés appropriés à leur croissance. De telles réactions peuvent entraîner une détérioration du lait quise manifeste par des odeurs et des changements de texture et d'apparence (**Frank et Hassan, 2003**).

➤ Moisissures

Sans importance dans le lait liquide, elles intéressent un grand nombre d'autres produits laitiers. Il produit des lipases et des protéases. Utilise du pénicillium pour recouvrir la croûte du fromage à pâte molle. Les mêmes moisissures peuvent également être indésirables en cas de développement excessif (**FAO, 1995**). Les moisissures sont des champignons filamenteux pluricellulaires, la taille des spores varie de 4 à 10 μm de large et jusqu'à 500 μm de long (si pluricellulaires). Les filaments, de 2 à 5 μm de large, sont de longueur très variable (**Callon et al., 2011**).

➤ Bactéries

Prédominant parmi les micro-organismes présents dans le lait. Les cellules bactériennes sont de petite taille (généralement pas plus de quelques parties de millimètre, c'est-à-dire quelques micromètres ou micromètres). Les formes les plus courantes sont des cellules sphériques (coques) ou des bâtonnets (bacilles), plus ou moins régulières ou incurvé (**Callon et al., 2011**). En raison de la grande diversité des bactéries présentes dans le lait et en se basant sur un certain nombre de propriétés importantes qu'elles ont en commun, on les divise en deux catégories : bactéries saprophytes et les bactéries pathogène (**FAO, 1995**).

➤ Levures

Ce sont des champignons dans lesquels l'état unicellulaire prédomine. La forme la plus courante est de forme ovale ou sphérique, dont la taille varie de 2 à 3 μm , jusqu'à 20 à 50

μm de longueur et 1 à 10 μm de largeur (**Callon *et al.*, 2011**). Bien qu'il soit souvent présent dans le lait, il est rarement impliqué dans les réactions qui se produisent dans le lait et seuls quelques-uns sont capables de fermenter le lactose. Certaines sont utilisées dans la production des laits fermentés et en fromagerie et certaines d'autres peuvent être néfastes (**Fao, 1995**).

Partie Expérimentale

Chapitre IV:
Matériels et méthodes

Ce travail entre dans le cadre de la valorisation des substances d'origine naturelle, il a pour but de tester l'efficacité d'une plante médicinale dans la prolongation de la durée de vie du lait cru réfrigéré. L'espèce utilisée est *Laurus nobilis* L. récoltée dans la région de Mila. L'étude est mise en place le 29 janvier 2023 et est terminée le 30 Mars 2023. Les expérimentations sont faites au niveau des laboratoires pédagogiques du Centre universitaire Abd-Elhafid Boussouf, Mila.

IV.1. Matériel

IV.1.1. Matériel végétal

Les feuilles de Laurier (Fig13) sont utilisées comme source de substances bioactives, et sont récoltées le mois de Janvier 2023 dans la région de Bouhatem, la wilaya de Mila (Fig 14). La récolte est effectuée manuellement et très soigneusement. Elles sont, ensuite, séchées à l'ombre pendant 15 jours et conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité pour une future utilisation.



Figure 12 : Feuilles de *Laurus nobilis* récoltées dans la région de Bouhatem, Mila.

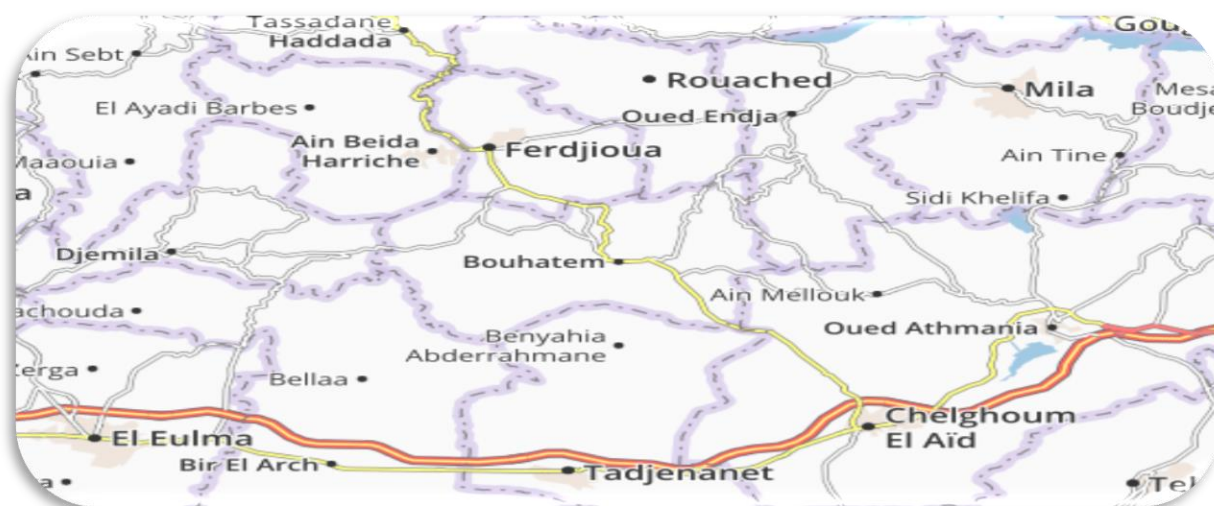


Figure 13 : Région d'échantillonnage de laurier à Bouhatem, Mila.

IV.1.2. Les souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont ramenées de laboratoire de microbiologie appliquée de l'université Ferhat Abbas, Sétif, elles sont toutes de référence et de la collection ATCC (*American Type Culture Collection*): dans l'essai: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonasaeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 2856, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Ces bactéries sont conservées à froid jusqu'à l'utilisation.

IV.1.3. Antibiotique

Dans notre étude, nous avons utilisé la Gentamicine à 10 μ g pour comparer les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de laurier sur les différentes souches bactériennes testées, elle appartient à la famille des aminoglycosides.

IV.1.4. Échantillon du lait

L'échantillon du lait cru est collecté d'une ferme localisée dans la région de Mila (Fig15), il est prélevé à partir d'une vache saine et se nourris des fourrages et herbes verts.



Figure 14 : Échantillon du lait cru (photo personnel).

IV.1.5. Matériels et produits de laboratoire utilisés

Muller Hinton (MH) à 38g/l eau distillée, gélose nutritive (GN) à 28g/l eau distillée, eau distillé, eau physiologique (NaCl) à 0.9%, Acide gallique à 2µg/ml MeOH, Folin-Ciocalteu 10% (dilution dans l'eau distillée), Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5% préparée dans l'eau distillé, Trichlorure d'Aluminium (AlCl_3) à 2% préparée dans le MeOH, DMSO, autoclave, étuve, plaque agitatrice, plaque chauffante, vortex, réfrigérateur, bec Bunzen, bain marie, Spectrophotomètre, balance de précision, flacons en verre, tubes à vis, mortier, entonnoir, éprouvette, bécher, erlenmeyer, fiole de jauge, pipette graduée, verre de montre, pipette Pasteur, boîtes de Pétri, Eppendorf, pointes, micropipette, portoirs, spatule, pissette d'eau distillée, barreau aimanté, pince, écouvillons, anse à platine et disques de papier filtre (Annexe 01, 02, 03).

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Préparation du matériel végétale

IV.2.1.1. Séchage

Après la récolte, les feuilles de *L. nobilis* nettoyées, rincées avec l'eau de robinet pour éliminer les impuretés et de se débarrasser de toute poussière et matières étrangères comme le sable, le sol et d'autre. Elles sont ensuite séchées pendant 2 semaines dans un endroit sec, bien aéré et à l'abri des rayons solaires pour préserver au maximum l'intégrité des molécules bioactives (Fig 16).



Figure 15 : Feuilles de *Laurus nobilis* sèches (photo personnel).

IV.2.1.2. Broyage et Tamisage

La matière végétale séchée (feuilles) de l'espèce utilisée est ensuite broyée à l'aide d'un mortier. Le broyat est conservé jusqu'au moment de l'utilisation dans un flacon en verre à l'abri de lumière (Fig17).



Figure 16 : Feuilles de *L. nobilis* séchées et coupées en petits morceaux (photo personnel).

IV.2.1.3. Préparation de l'extrait aqueux de laurier

57.2 g de la matière végétale coupée sont mis en macération avec 370ml eau distillée pendant 24 heures, le mélange est agité de temps en temps. Après les 24 heures, le mélange est filtré en utilisant le papier filtre standard. Cette opération (macération + filtration) est faite 3 fois successives. Les trois filtras ou extraits obtenus sont mélangés et répartis dans des boîtes de Pétri, ces dernières sont mises dans une étuve réglée à 37°C pendant 15 jours pour sécher l'extrait obtenu. L'extrait sec obtenu est gratté avec une spatule suivie d'un léger broyage manuel avec le mortier pour avoir une poudre très fine (Fig 18). Le produit final de

l'extraction est pesé et conservé dans un petit flacon sombre en verre hermétiquement fermé jusqu'à l'utilisation.



Poudre de *L. nobilis*(57.2g)



Macération : l'eau distillé+
l'extrait



Filtration de l'extrait sur
papier filtre (3 fois)



Partage du filtrat sur des
boîtes de pétris



Extrait séché dans l'étuve
(à 37°C)



Gratté l'extrait



Boîtes de Pétri grattées



Broyage manuel



Extrait final

Figure 17 : Différentes étapes de l'extraction aqueuse des feuilles de *Laurus nobilis*.

IV.2.1.4. Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est la masse des composés extraits par le solvant utilisé. Il est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse de la matière végétale utilisée, et il est en pourcentage.

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rd \%} = (\text{Pe/Pm}) * 100$$

Dont :

Rd : rendement exprimé en pourcentage ;

Pe : poids de l'extrait sec obtenu en gramme ;

Pm : poids de la matière végétale utilisée en gramme.

IV.3. Dosage des poly phénols totaux

IV.3.1. Principe du dosage

Le dosage est effectué en suivant la méthode colorimétrique basée sur le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est formé d'acidephospho-tungestique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_4$) qui sont réduits lors de l'oxydation des composés phénoliques en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et demolybdène (MO_8O_3). Cette solution absorbe à une longueur d'onde de 750 nm est proportionnelle à la concentration des polyphénols présents dans l'extrait végétal (Singleton et al., 1999).

IV.3.2. Protocole du dosage

0.5ml de l'extrait aqueux à différentes concentrations est mélangé avec 2,5ml du réactif Folin-Ciocalteu à 10%. Après 10 minutes d'incubation à l'obscurité, 2ml de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5% sont ajoutés au mélange. L'absorbance est mesurée à 760nm après 2 heures d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité (Fig19). L'acide gallique est utilisé comme standard.

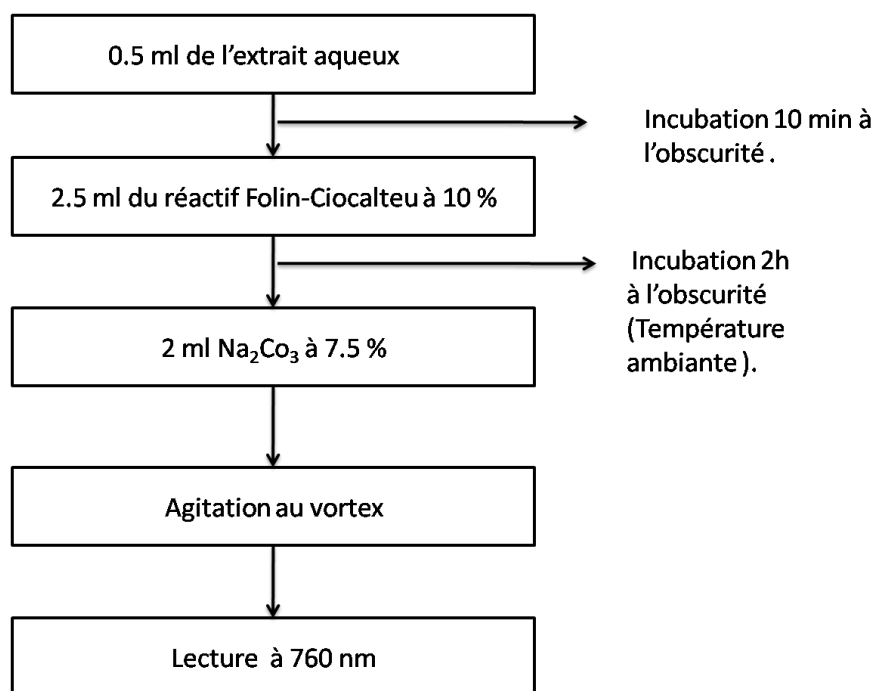


Figure 18 : Protocole de dosage des poly phénols.

IV.4. Dosage des flavonoïdes

IV.4.1. Principe du dosage

Un groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes qui forment en contact avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3) un complexe très stable (réaction avec les groupements hydroxydes (OH) des phénols). Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde égale à 415nm (**Chia-chi *et al.*, 2002**).

IV.4.2. Protocole du dosage

La détermination de la teneur en flavonoïde des extraits est effectuée en utilisant la méthode de Trichlorure d'aluminium (**Djeridaneet *al.*, 2006**). Dans des tubes, 1ml de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2% est ajouté à 1ml de l'extrait aqueux à différentes concentrations. Le mélange est incubé pendant 10 minutes à l'obscurité et l'absorbance est ensuite lue à 430nm (Fig 20). La quercétine est utilisée comme standard.

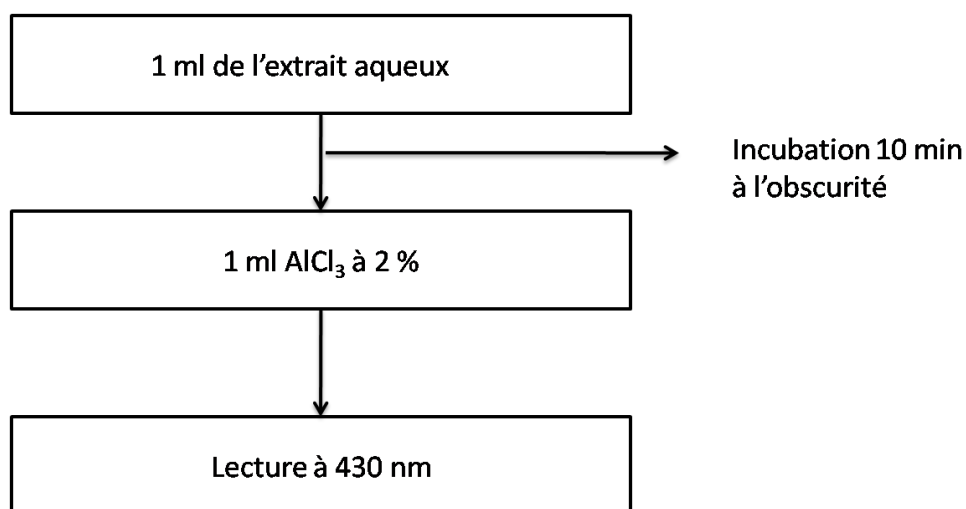


Figure 19 : Protocole de dosage des flavonoïdes.

IV.5. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux est effectuée en utilisant la méthode de diffusion sur gélose (Aromatogramme) sur une panoplie de souches bactériennes variant entre Gram positif et Gram négatif. La méthode repose sur la capacité de l'extrait de se diffuser dans la gélose et inhiber la croissance de la souche bactérienneensemencée préalablement en surface. L'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque contenant l'extrait indique son efficacité. La méthode est réalisée suivant plusieurs étapes.

IV.5.1. Préparation des milieux de culture

Deux milieux de culture sont utilisés dans ce test. Le milieu de Muller Hinton préparé avec une concentration de 38 g/l eau distillé est utilisé pour réaliser le test d'Antibiogramme et d'Aromatogramme, cependant le milieu de Gélose nutritive préparé avec une concentration de 28 g/l eau distillée est utilisé pour l'activation des souches bactériennes à tester avant 24 heures de la réalisation du test. Les deux milieux sont bouillis environ 15 minutes, puis mis dans des flacons en verre, ensuite mis dans l'autoclave pour la stérilisation et après conservés jusqu'à l'utilisation (Fig 21).

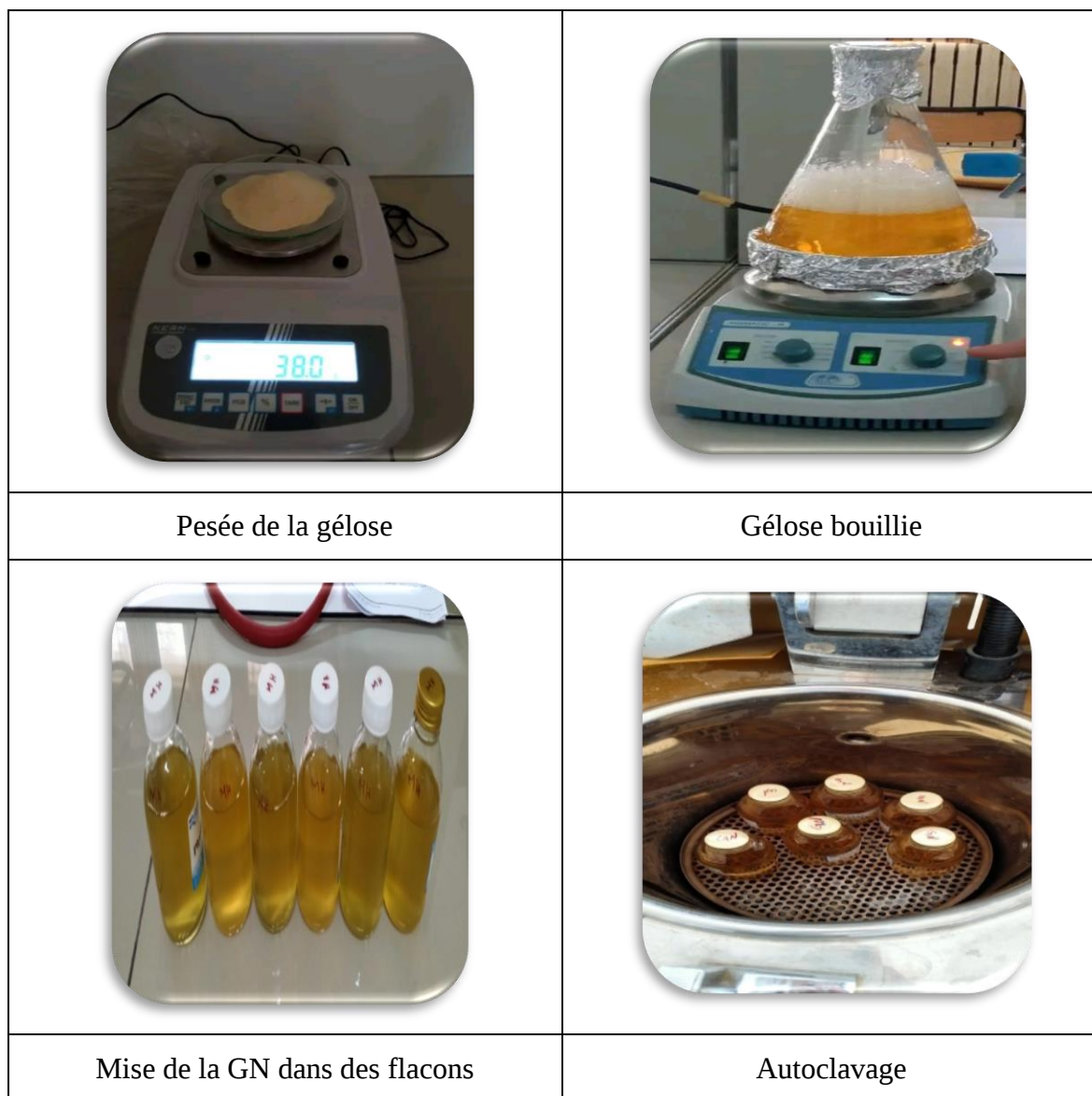


Figure 20 : Préparation du milieu de culture.

IV.5.2. Préparation de différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis*

L'extrait aqueux est préparé dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) à une concentration de 100mg/ml. A partir de cette dernière, une série de concentration successives est réalisé : 2.5, 5, 10, 20, et 40 µg/ml (Fig 22).



Figure 21 : Dilutions successives de l'extrait aqueux.

IV.5.3. Préparation des inocula

Les inocula ou les suspensions bactériennes sont préparés dans l'eau physiologique à partir des cultures bactériennes jeunes de 18 à 24 heures (activation sur GN). Au fait, à l'aide d'une anse de platine stérile, quelques colonies bien isolées et identiques de chaque souche bactérienne à tester sont alors raclées, déchargées dans un tube contenant de l'eau physiologique puis fortement agiter pour homogénéiser la suspension. L'absorbance de ce dernier est lue à 625nm et elle doit être entre 0.08 et 0.1.

IV.5.4. Ensemencement

Un écouvillon stérile est entré dans la suspension bactérienne devant le bec-Bunsen (condition de stérilité) et essoré pour diminuer le volume du liquide absorbé. Ensuite, les boîtes de Pétri préalablement coulées avec la gélose Mueller Hinton sont ensemencées en surface par écouvillonnage (en utilisant l'écouvillon chargé en bactérie)(Fig 23). L'ensemencement est effectué en trois reprise en tournant à chaque fois la boîte avec certains degrés.



Entrer l'écouvillon dans la
suspension bactérienne

Essorer l'écouvillon

Ensemencement en surface

Figure 22 : Ensemencement par écouvillonnage.

IV.5.5. Réalisation de l'aromatogramme et incubation

Des disques de 6mm de diamètre préparé en utilisant papier Wattman 04 et stérilisés en autoclave sont déposés en surface de la gélose MH de l'ordre de 6 disques par boîte. Ces disques sont ensuite imbibés par 10 μ l de l'extrait aqueux (chaque disque contient 10 μ l d'une seule concentration). Un seul disque imbibé avec 10 μ l de DMSO est utilisé comme témoin négatif pour chaque souche bactérienne (Fig 24).

A la fin de la manipulation, les boîtes sont fermées, laissées sur paillasse un certain temps pour la diffusion de l'extrait et puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.



Dépôt des disques

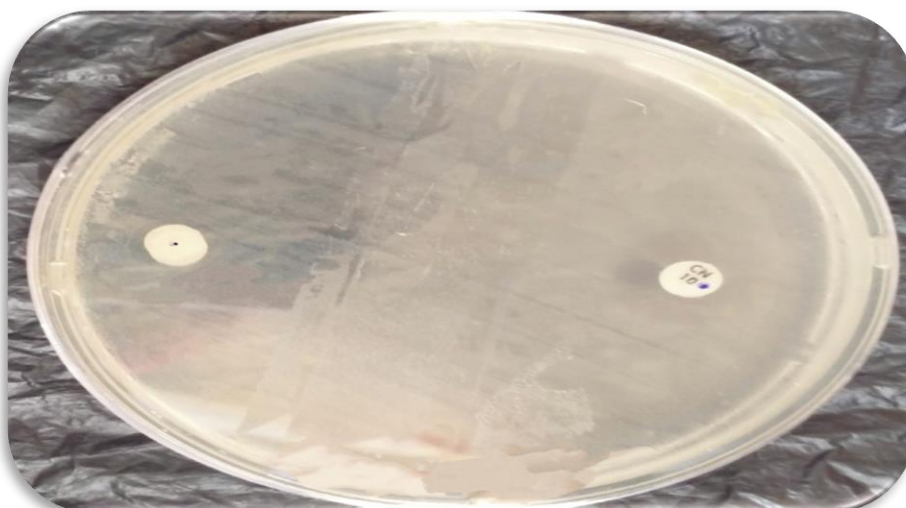
Imbiber les disques avec
10µl de : Extrait ou DMSO

Fermeture et repos

Figure 23 : Application des disques et incubation.

IV.5.6. Antibiotogramme

L'antibiogramme est réalisé de la même manière que celle de l'aromatogramme avec certaine modification. Au fait, dans l'antibiogramme les disques imbibés par l'extrait sont remplacés par des disques d'antibiotiques, l'antibiotique utilisé est celui de la Gentamicine (10µg) (Fig 25)

**Figure 24 :** Dépôt des disques d'antibiotiques.

IV.5.7. Lecture

Après 24 heures d'incubation dans l'étuve, les zones d'inhibition formées autour des disques sont mesurées à l'aide d'une règle ou pied à coulins.

IV.6. Échantillonnage du lait

IV.6.1. Prélèvement

L'échantillon de lait cru utilisé dans ce test est ramené d'une ferme située dans la région de Mila, Nord Est de l'Algérie. Quatre mamelles sont utilisées dans l'échantillonnage avec quelques caractéristiques (Tab07). Le lait prélevé est collecté dans des flacons stériles d'une façon aseptique, les extrémités des trayons sont nettoyées, les 3 premiers jets sont éliminés. Le prélèvement est ensuite acheminé immédiatement dans une glacière vers le laboratoire du centre universitaire. Dès son arrivée au laboratoire, l'échantillon a fait l'objet d'une série d'analyse microbiologique.

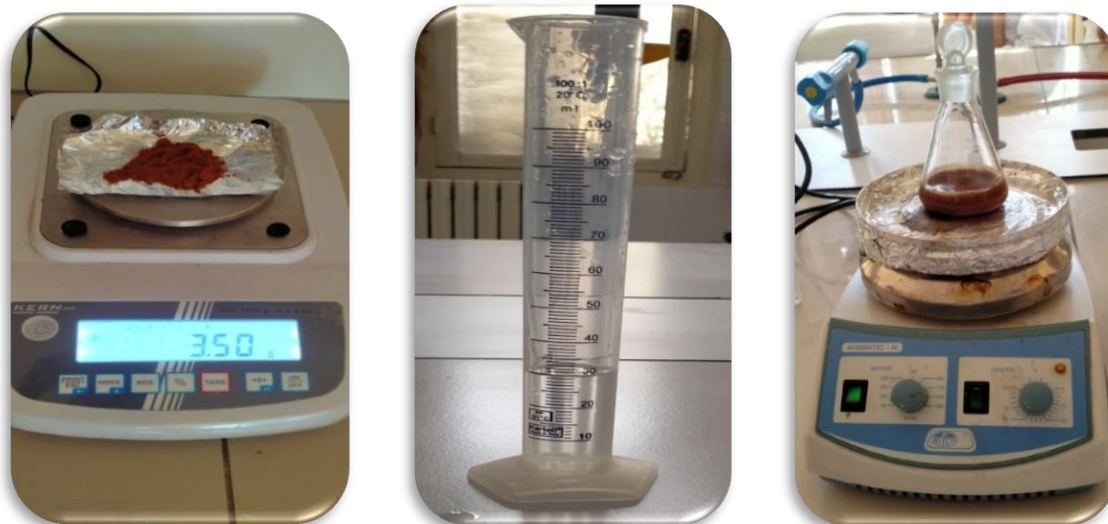
Tableau 07 : Quelques caractéristiques de la vache utilisée

Nom	Montbéliarde
Couleur	Rouge
Age	2 ans
Production journalier	13L deux traite par jour
État de santé	Saine

IV.6.2. Évaluation de la qualité bactériologique du lait

IV.6.2.1. Préparation des échantillons du lait additionné de l'extrait aqueux à différentes concentrations

3.5g de la poudre de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis* est pesé à l'aide une balance de précision, et est mis dans un erlenmeyer et puis ajouter 35mL de l'eau distillée stérile. Le mélange est agité par une plaque agitatrice pour l'homogénéisation (fermer l'erlenmeyer par le bouchon), la concentration donc de la solution mère est 100mg/ml (Fig 26).



La pesée de l'extrait aqueux

35ml eau distillée stérile

Extrait aqueux prêts à
l'utilisation à 100mg/ml**Figure 25 :** Protocole de préparation de la solution mère de l'extrait aqueux de *L.nobilis*.

Trois concentrations sont préparées par la suite, 10mg/ml, 5mg/ml et 2.5mg/ml, et ajoutées aux trois flacons de lait comme il est mentionné dans le tableau 08. Chaque flacon contient 100ml de lait additionné de l'extrait (Fig 27). Les flacons sont conservés dans le réfrigérateur à +4°C pendant toute la période de l'expérience.

Tableau 08 : Méthodologie de la préparation des trois échantillons du lait

Les concentrations (mg /ml)	Les volumes de SM (ml)	Les volumes de lait (ml)
C1 = 10 mg/ml	10	90
C2 = 5mg/ml	5	95
C3 = 2.5 mg/ml	2.5	97.5

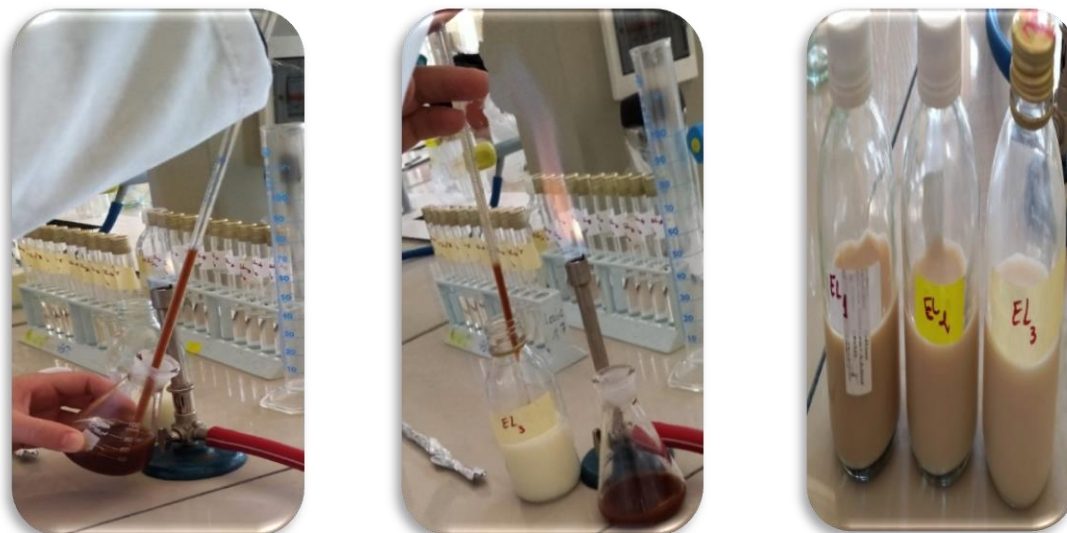


Figure 26 : Addition de l'extrait aqueux au lait.

IV.6.2.2. Préparation de la Gélose nutritive et de l'eau physiologique

La gélose nutritive (BN) est préparée avec une concentration de 28g/l, alors que l'eau physiologique est préparée avec une concentration de 0.9%. La GN est mise dans des flacons en verre alors l'eau physiologique est mise dans des tubes à vice dans l'ordre de 9ml dans chaque tube (Fig 28). Les deux milieux sont stérilisés à l'autoclave. La GN est utilisée par la suite dans le dénombrement de la flore totale du lait, cependant l'eau physiologique est utilisée pour la préparation des dilutions décimales du lait additionné d'extrait aqueux à différentes concentrations.



Figure 27 : Préparation de la GN et de l'eau physiologique.

IV.6.2.3. Préparation des dilutions décimales

Après agitation du flacon contenant le lait et l'extrait, 1ml de ce mélange est mis dans un tube contenant 9ml de l'eau physiologique pour obtenir une concentration bactérienne de 10^{-1} . A partir de cette concentration, quatre dilutions décimales sont faites jusqu'à 10^{-5} . Cette méthode est faite avec les trois flacons échantillon du lait additionné de l'extrait végétal et chaque jour de dénombrement. La préparation est faite pour deux répétitions et donc, 30 tubes sont obtenus (Fig. 29).



Figure 28 : Préparation des dilutions décimales.

IV.6.2.4. Suivi de la cinétique de croissance bactérienne

La cinétique de la croissance bactérienne est suivie pendant 10 jours. Le 1^{er} test est fait le jour du prélèvement du lait de la ferme (26 mars 2023), les tests suivants sont réalisés le J2, J4, J6 et J8 et à chaque fois on répète le même travail réalisé dans le J0 (Fig 30). Toutes les expériences sont effectuées devant le bec-Bunsen.

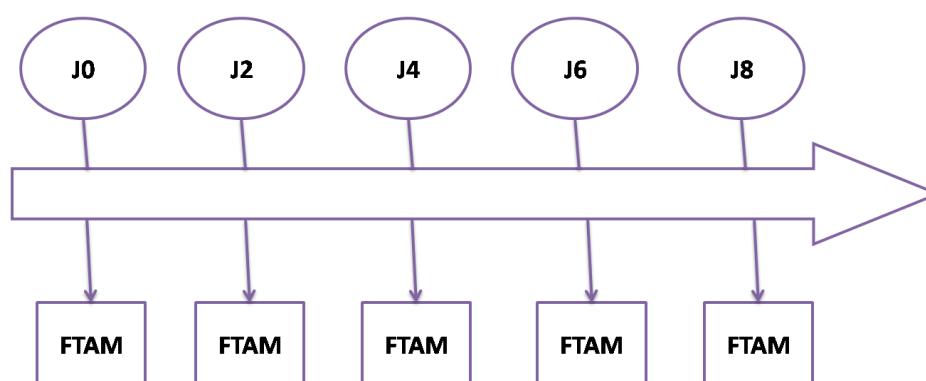


Figure 29 : Suivi de la croissance bactérienne.

IV.6.2.5. Ensemencement du lait à différentes concentrations

Les cinq dilutions sont ensemencées dans la GN dans la masse. Au fait, 100µl de chaque dilution est mis dans une boîte de Pétri, ensuite un volume de 15ml à 20ml de la GN en surfusion est ajouté dans la boîte de Pétri. A la fin, une agitation est faite avec des mouvements circulaires pour bien mélanger et disperser les cellules bactériennes dans la gélose (Fig 31). Les boîtes sont laissées sur paille jusqu'à la solidification de la GN et

puis sont incubées dans l'étuve à une température de 30°C pendant 48 heures. Le teste est réalisé en duplicata.

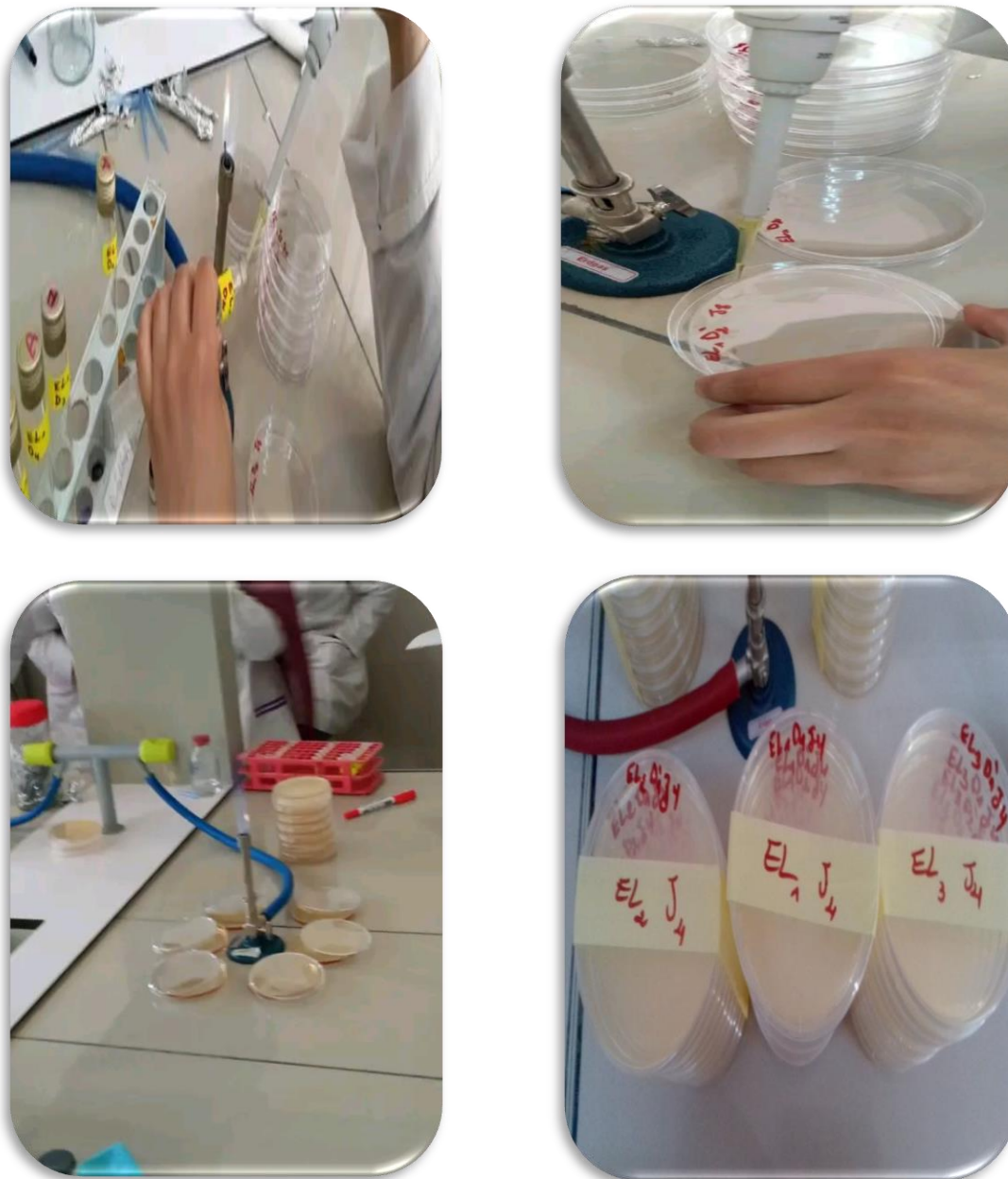


Figure 30 : Ensemencement du lait dans la GN.

IV.6.2.6. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Après 24 heures d'incubation, le nombre des colonies dans chaque boîte Pétri est compté. Le nombre des colonies obtenu pour chaque dilution reflète la qualité microbiologique générale du lait. Le comptage est utilisé en utilisant un conteur de colonies.

Chapitre V :
Résultats et Discussion

V.1. Résultats

V.1.1. Rendement d'extractions

La méthode d'extraction utilisée dans cette étude permet l'extraction complète des composés bioactifs solubles dans l'eau distillée, et au même temps, elle doit éviter leur modification chimique. Au fait, le rendement de l'extrait aqueux obtenue est calculé selon la formule donnée précédemment (voir section 2.1.4) et il est égale à 17.65 % (Fig.32).



Figure 31 : Rendement de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis* obtenu par macération.

V.1.2. Teneur des Poly phénols et Flavonoïdes

V.1.2.1. Teneur des poly phénols

Les poly phénols sont des molécules bioactives très recherchées car ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques. La détermination de la teneur en poly phénols de l'extrait aqueux de notre espèce a été réalisée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu, dont l'addition de ce dernier provoque l'apparition d'une couleur bleue (Fig.33), ce qui confirme la présence des composés phénoliques dans l'extrait végétale.

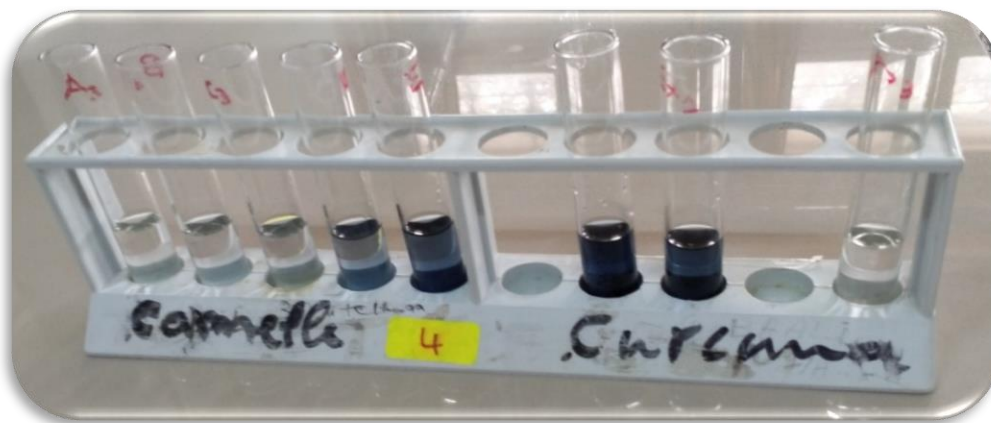


Figure 32 : Résultats de la réaction entre le Folin-Ciocalteu et les poly phénols.

Dans ce test, l'acide gallique est utilisé comme standard. La courbe d'étalonnage (Fig.34) est tracée en utilisant plusieurs concentrations successives : 5µg/ml, 10µg/ml, 20µg/ml, 40µg/ml et 80µg/ml dont les absorbances sont lues à 760nm. Le coefficient de corrélation est très proche à 1, $R^2 = 0.9978$, ce qui prouve la corrélation élevée des points avec lesquels la droite est tracée et donc la bonne manipulation.

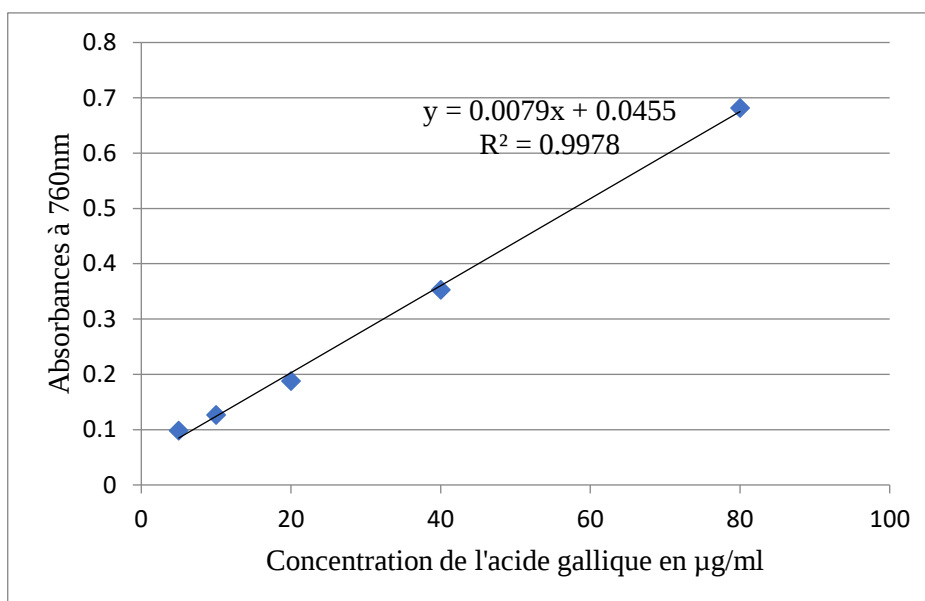


Figure 33 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

V.1.2.2. Teneur des flavonoïdes

En phytothérapie, les flavonoïdes provenant du métabolisme végétal sont des molécules très intéressantes et donc il est préférable de les doser. Le dosage des flavonoïdes est réalisé en utilisant la méthode de Trichlorure d'Aluminium, dont le contact entre ce dernier et les flavonoïdes provoque l'apparition d'une couleur jaune (Fig.35).

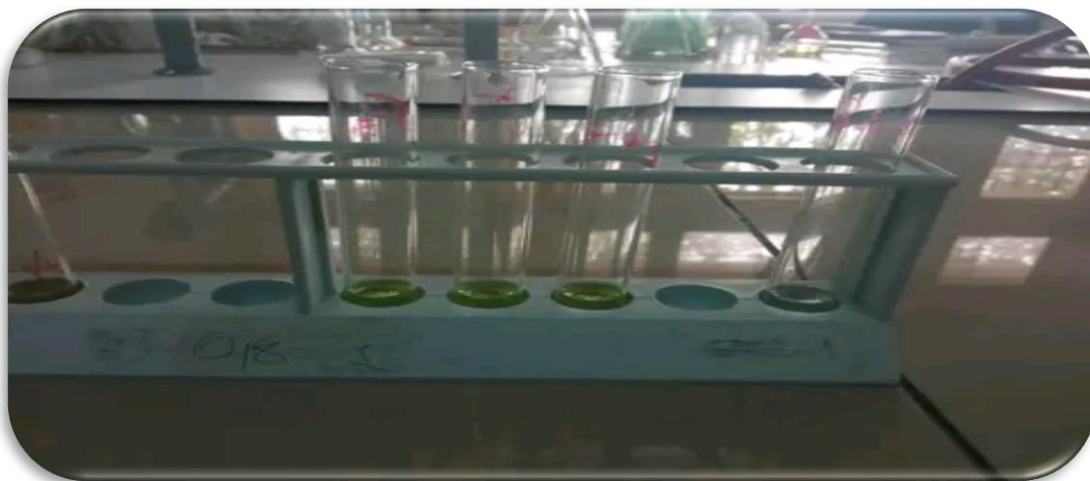


Figure 34 : Résultats du dosage des flavonoïdes.

Dans ce test, la quercétine est utilisé comme standard. La courbe d'étalonnage (Fig.36) est tracée en utilisant plusieurs concentrations successives :2.5µg/ml, 5µg/ml, 7.5µg/ml, 10µg/ml, 15µg/ml et 20µg/ml dont les absorbances sont lues à 540nm. Le coefficient de corrélation est très proche à 1, $R^2 = 0.999$, ce qui prouve la corrélation élevée des points avec lesquels la droite est tracée et donc la bonne manipulation.

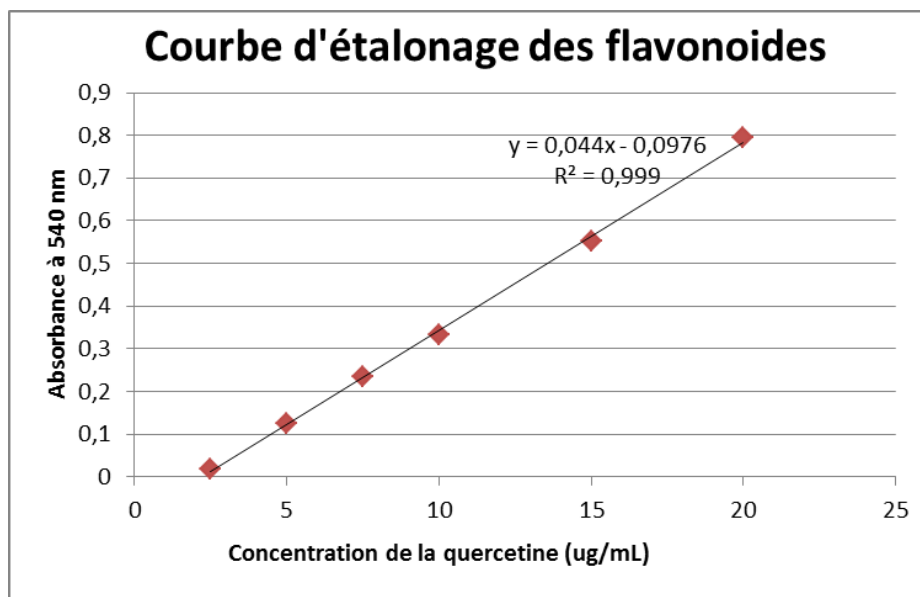


Figure 35 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau 09 : Teneur en poly phénols et flavonoïdes dans l'extrait étudié.

L'extrait	Teneur en Poly phénols	Teneur en Flavonoïdes
Aqueux	173.33 $\pm$ 6.696 μ g EAG/mg	9.04 $\pm$ 0, 415 μ g EQ/mg

Selon le tableau 09, les résultats du dosage montrent que l'extrait aqueux est le plus riche en poly phénols avec une concentration de 173.33 $\pm$ 6.696 μ g EAG/mg, tandis que le dosage des flavonoïdes a donné des valeurs faibles variées de 9.04 $\pm$ 0, 415 μ g EQ/mg.

V.1.3. Activités antibactériennes

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *L. nobilis* est effectuée en utilisant la méthode de diffusion sur gélose ou la méthode des disques sur cinq souches bactériennes : *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Staphylococcus aureus* ATCC2856, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

La méthode des disques est intensivement employée pour étudier l'effet antibactérien des substances naturelles. Cette analyse est basée sur l'utilisation des disques imbibés par la solution de l'extrait à tester à différentes concentrations (une concentration pour chaque disque): 2.5mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml et 40mg/ml. La lecture des résultats est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition apparues autour des disques et qui sont exercées par l'extrait. La valeur des diamètres exprimée en millimètre détermine la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes testées (Tab.10).

Tableau 10 : Diamètre des zones d'inhibition exercées par l'extrait à différentes concentrations.

Souches	Concentrations (mg/ml) et diamètre d'inhibition (mm)						
	A	B	C	D	E	T ⁺	T ⁻
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6	6	6	6	6	20, 5	6
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	6	6	6	6	6	21, 98	6
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2856	6	6	6	6	6	6	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6	6	6	6	6	21, 51	6
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	6	6	6	6	6	17, 04	6

A : 40mg/ml ; B : 20mg/ml; C: 10mg/ml; D: 5mg/ml ; E : 2.5mg/ml ; T⁺: Gentamicine; T⁻: DMSO

D'après le tableau 10, le diamètre des zones d'inhibitions exercées par l'extrait aqueux vis-à-vis la souche bactérienne *E. coli* ATCC 25922 est égale à 6mm et il représente le diamètre du disque du papier Wattman. Ce diamètre est obtenu avec toutes les concentrations utilisées et même toutes les répétitions. La gentamicine est utilisée comme témoin positif et elle a donné un diamètre de 20.5mm. Le DMSO est utilisé comme témoin négatif et il a donné un diamètre de 6mm (Fig.37).

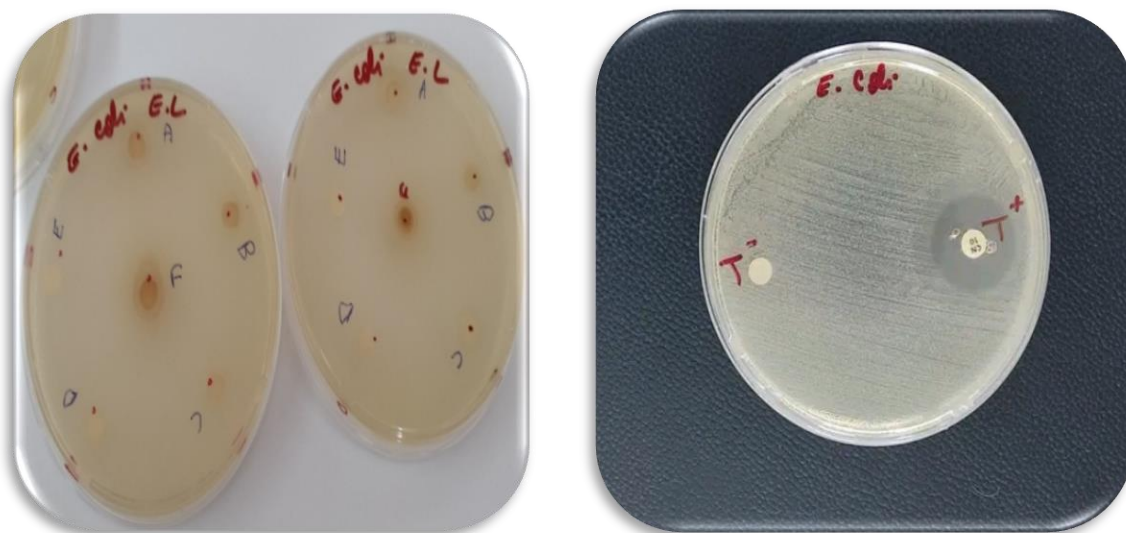


Figure 36 : Effet antibactérien de l'extrait aqueux de *L.nobilis* contre *E.coli* ATCC25922.

Aussi, selon le tableau 10, le diamètre des zones d'inhibitions exercées par l'extrait aqueux vis-à-vis la souche bactérienne *S. aureus* ATCC 25923 est égale à 6mm, ce diamètre est le même exercé par le témoin négatif utilisé, le DMSO. Il représente le diamètre du disque du papier Wattman. Cette zone est obtenue avec toutes les concentrations utilisées et même toutes les répétitions. La gentamicine est utilisée comme témoin positif et elle a donné un diamètre de 21.98mm (Fig.38).

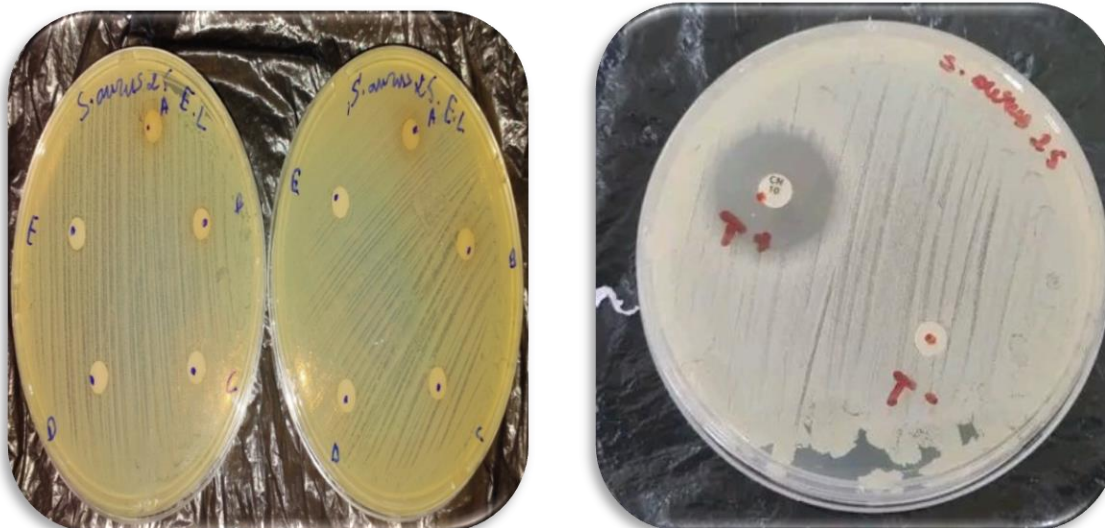


Figure 37 : Effet antibactérien de l'extrait aqueux de *L.nobilis* contre *S.aureus* ATCC25923.

Le tableau 10 montre également que le diamètre des zones d'inhibitions exercées par l'extrait aqueux vis-à-vis la souche bactérienne *S. aureus* ATCC2856 est 6mm, et c'est le même diamètre exercé par le DMSO utilisé comme témoin négatif (6mm est le diamètre du disque utilisé comme support de l'extrait). Ce diamètre est obtenu avec toutes les concentrations utilisées et même toutes les répétitions. La gentamicine est utilisée comme témoin positif et elle n'a donné aucun effet (une bactérie résistante) (Fig.39).

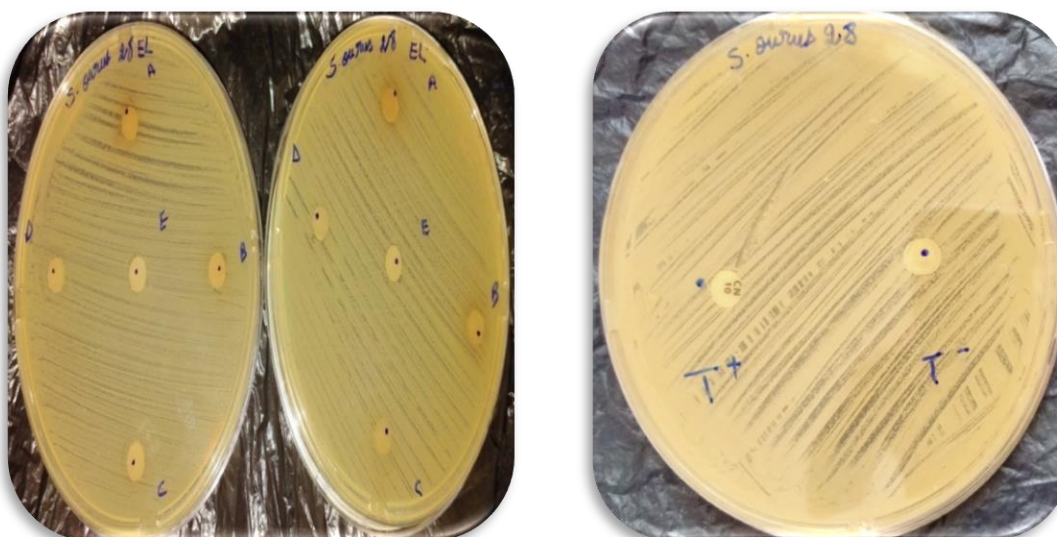


Figure 38 : Effet antibactérien de l'extrait aqueux de *L.nobilis* contre *Staphylococcus aureus* ATCC2856.

Pseudomonas aeruginosa ATCC27853 est aussi testée dans ce travail, et d'après de tableau 10 elle est entièrement résistante vue l'absence complète d'une zone d'inhibition autour du disque chargé avec l'extrait. Ce résultat est aussi obtenu avec toutes les concentrations utilisées, les deux répétitions et même par le témoin négatif, le DMSO. La gentamicine est utilisée comme témoin positif et elle a donné un diamètre de 21.51mm (Fig.40).

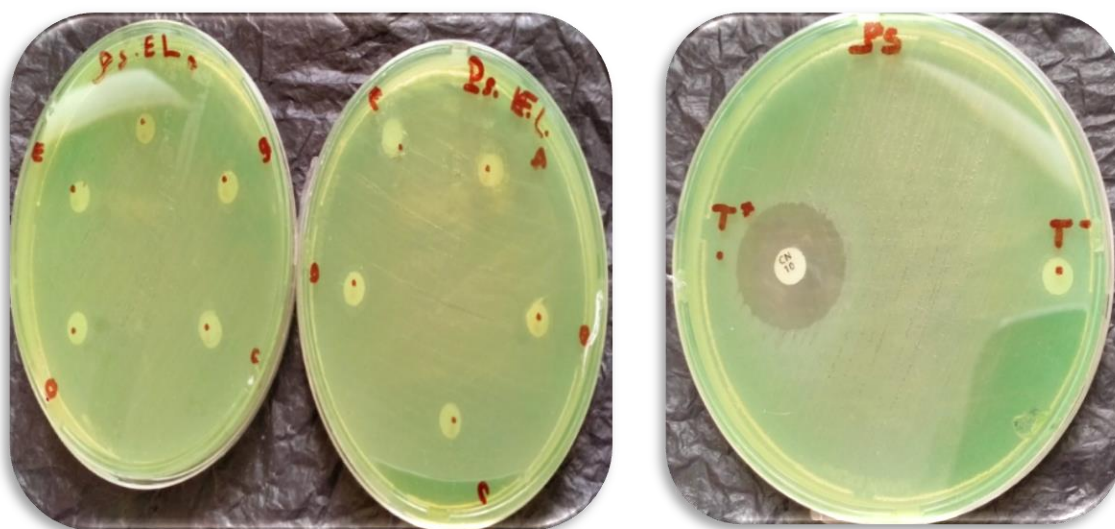


Figure 39 : Effet antibactérien de l'extrait aqueux de *L.nobilis* contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853.

La figure ci-après (Fig.41) montre les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux, du témoin négatif (DMSO) et du témoin positif (la gentamicine) sur *Enterococcus faecalis* ATCC29212. L'extrait est entièrement inefficace contre la souche étudiée. La gentamicine utilisée comme témoin positif a donné un diamètre de 17.04mm.

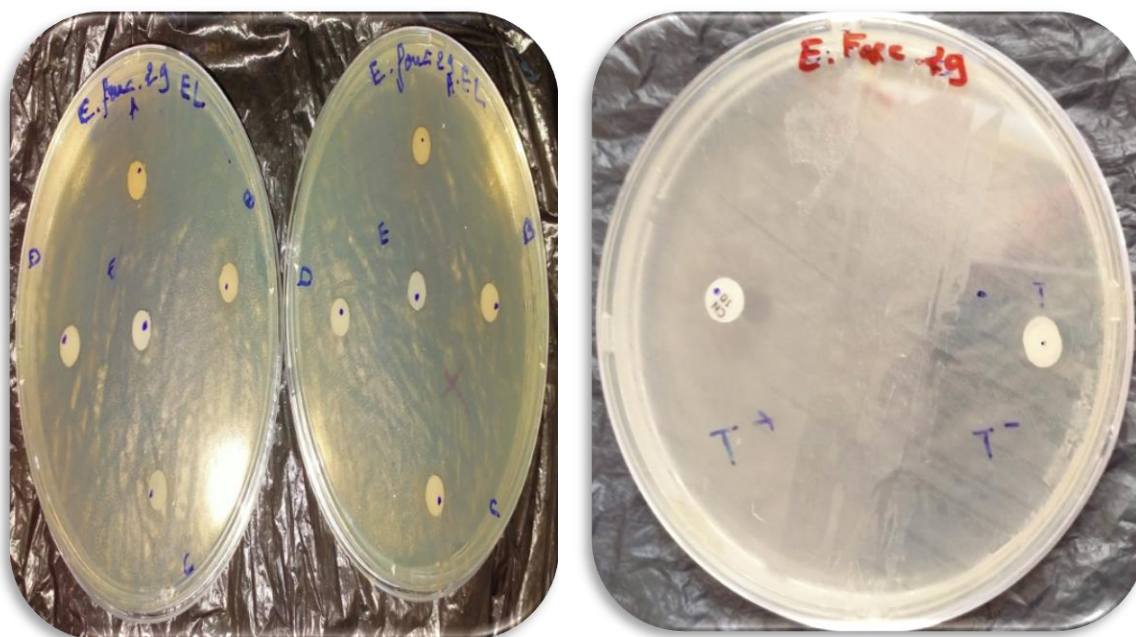


Figure 40 : Effet antibactérien de l'extrait aqueux de *L. nobilis* contre *E. faecalis* ATCC29212.

V.1.4. Cinétique de la croissance de la flore totale aérobie mésophile

Le lait qui est l'objet de ce travail est conservé dans le réfrigérateur pendant 10 jours, dont le but est de suivre la croissance de la flore totale aérobie mésophile (FTAM). L'extrait aqueux est ajouté au lait en 3 concentrations : 2.5mg/ml, 5mg/ml et 10mg/ml, et le dénombrement de la FTAM est fait le long de la période d'incubation, J₀, J₂, J₄, J₆ et J₈, pour tester la capacité de notre extrait d'allonger la durée de vie du lait cru réfrigéré. Un témoin négatif, lait sans aucune supplémentation, est aussi utilisé pour comparer les résultats.

D'après la figure42, on constate que tous les échantillons de lait cru analysés donnent des cultures bactériennes positives sur la gélose nutritive. Les cultures bactériennes ont des caractéristiques phénotypiques différentes. Les colonies ont des tailles différentes variant entre grandes, moyennes et petite, leur couleur varie entre blanche et jaune, alors que leur forme est ronde soit régulière ou irrégulière. Certaines souches (colonies) poussent en surface, alors que d'autre se trouvent ancrées dans la gélose sous forme de lentilles.

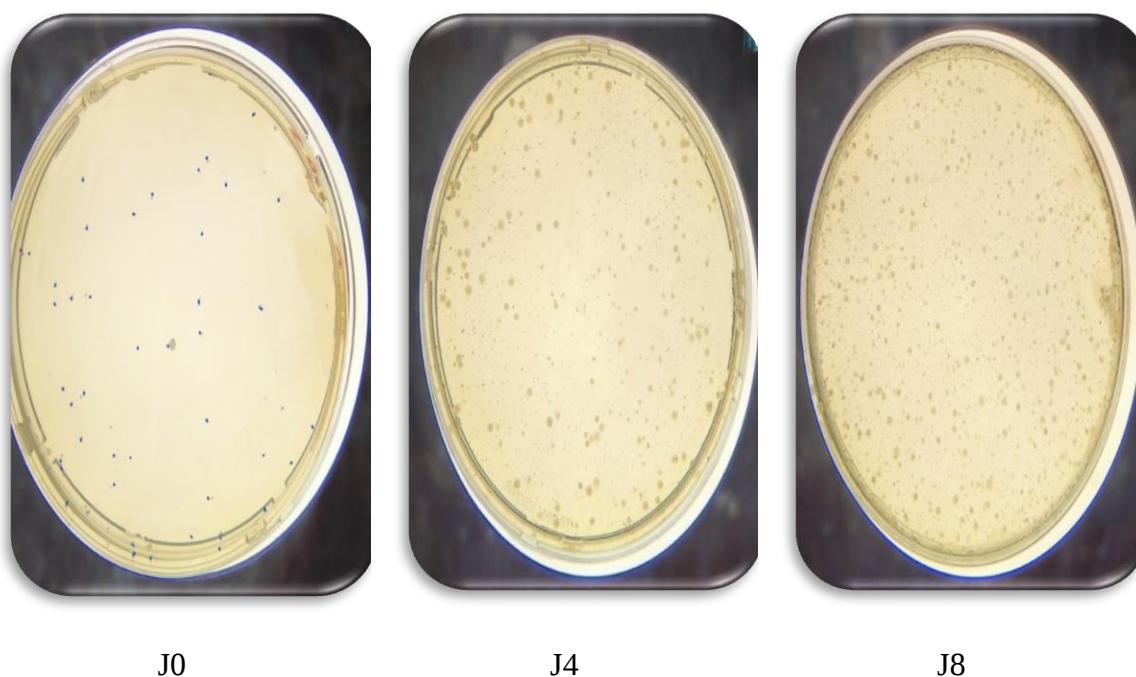


Figure 41 : Exemples des résultats obtenus du dénombrement de la FTAM dans le lait traité par l'extrait aqueux de *Laurus nobilis*.

➤ **Évaluation de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C°**

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 43 ont montré que dans le lait cru non traité (Témoin) le nombre de la flore aérobie totale mésophile (FTAM) a augmenté entre les jours [0-8].

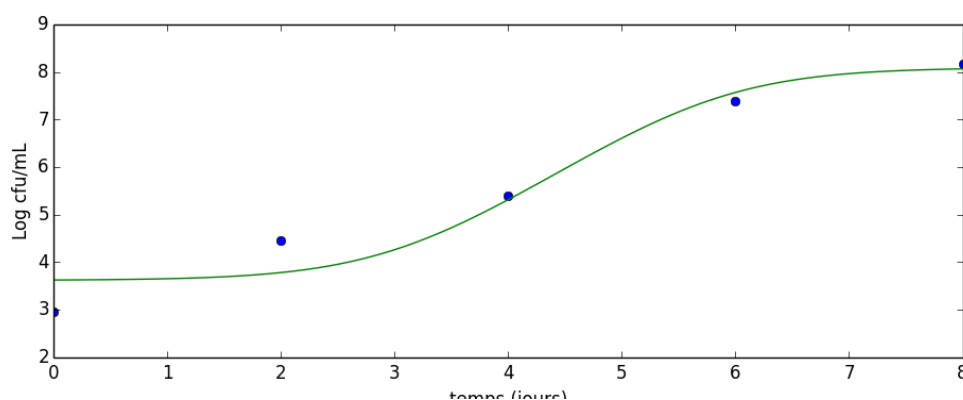


Figure 42 : L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C non additionné (Témoin).

En plus, le lait traité avec l'extrait aqueux de *L. nobilis* à concentration $C_1=2.5\text{mg/ml}$; $C_2=5\text{mg/ml}$ et $C_3=10\text{mg/ml}$ à révèle que le nombre de la flore aérobie totale mésophile est évaluée comme suit :

$C_1 = 2.5\text{mg/ml}$: il y a une augmentation continue tout au long des jours de l'expérience [0-8] (figure44).

$C_2 = 5\text{mg/ml}$: il y a une augmentation entre les jours [0-8] (figure45).

$C_3 = 10\text{mg/ml}$: il y a une augmentation progressive tout au long des jours de l'expérience entre les jours [0-8] (figure46).

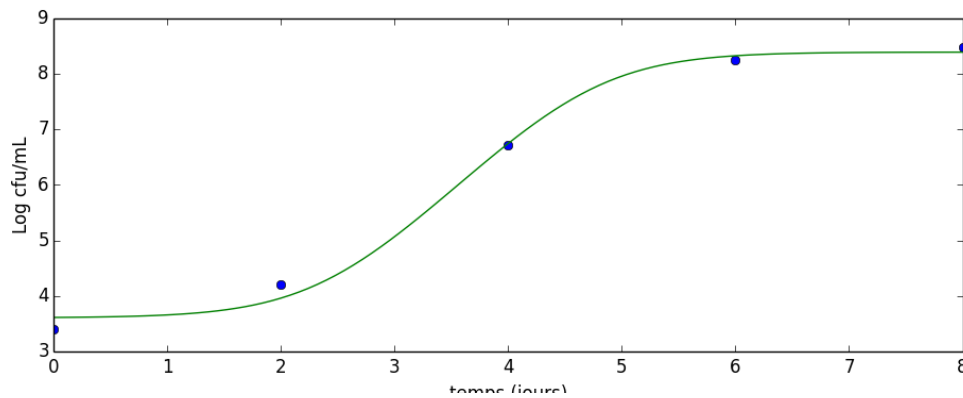


Figure 43 : L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné d'extrait de *L. nobilis* à 2.5mg/ml.

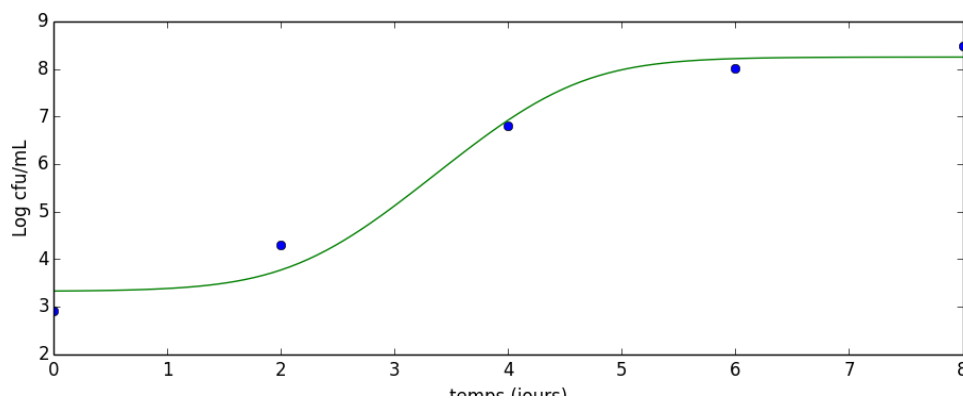


Figure 44 : L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné d'extrait de *L. nobilis* à 5mg/ml.

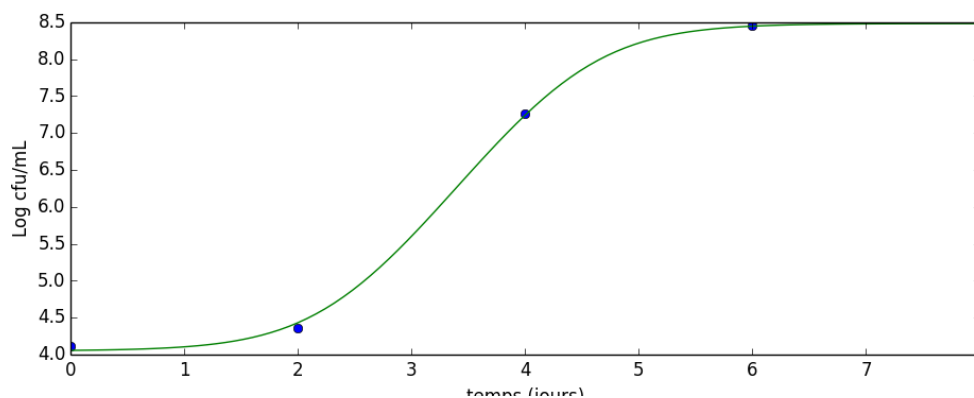


Figure 45 : L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné d'extrait de *L. nobilis* à 10mg/ml.

V.2. Discussion

V.2.1. Rendement d'extraction

D'après la recherche bibliographique, il existe plusieurs travaux sur l'extraction des molécules bioactives et le calcul de leurs rendements. Au fait, la macération à froide des feuilles de *Laurus nobilis* dans l'eau distillé a donné un rendement égal à 17.65% (**Bouderara, 2013**), sachant que l'extraction aqueuse a été fait sur un broyat fin obtenu par mouture des feuilles sèches de la plante sélectionnée (*Laurus nobilis*). En fait, l'utilisation d'un matériel végétal sec est recommandée du moment que les substances qui s'y trouvent, entre autres les flavonoïdes peuvent être soumises à une dégradation enzymatique quand ce matériel est frais ou non séché (**Benbrinis, 2012**). De plus, les fermentations microbiennes causées par l'humidité peuvent être la cause de cette dégradation (**Seidel, 2005**). Le séchage de la plante ou de ses parties à l'obscurité prévient les transformations chimiques telles que l'isomérisation et la dégradation causées par les radiations ultraviolettes de la lumière solaire (**Jones et Kinghorn, 2005**).

L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction en rendant l'échantillon plus homogène, en augmentant la surface de contact avec le solvant et en facilitant sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage. Nous rappelons que le rendement d'extraction en extrait aqueux de *Laurus nobilis* a été de (17.65%) de la matière sèche de la plante. Ce rendement prouve que quantitativement le *Laurus nobilis* renferme plus aqueux que certaines plantes, il est plus élevé que celui de laurier rose (10%) et moins élevé que celui de laurier palme (18.75%) (**Bencheqroun et al., 2012**). Notre rendement s'avère moins élevés que ceux obtenus sur la

même espèce de constituants chimiques identifiées pour les différents pays dans le monde : En Algérie (11% méthyleugenol, 10.9% linalool) ; en Croatia (10% méthyleugenol, 8.5% linalool) (**Politeo et al., 2007**). Il ya également des composants chimiques n'existent pas en Croatia et se retrouvent dans Algérie comme β -pinène ; Les résultats obtenus illustrent que nos rendements en extrait aqueux de *Laurus nobilis* est variable, cette différence serait liée au fait que l'extraction a été faite sur des feuilles sèches alors que les autres études l'ont faite sur des feuilles fraîches. Cette variabilité de rendement pourrait également être liée au processus de tarissement, période de récolte, aux facteurs édaphiques et climatiques ou alors à l'état physiopathologique de la plante, aussi elle peut être liée au type de la technique d'extraction et aux étapes de la récupération (**Wogiatzi et al., 2011**).

V.2.2. Dosage des poly phénols et flavonoïdes

D'après la bibliographie effectuée sur le dosage des composés phénolique on a constaté que Cette variation du taux de poly phénols peut être due à la diversité aux différents procédés d'extraction tels que ; le type de solvant, la température et le temps d'extraction (**Popovici et al., 2009**), parce que les poly phénols sont des classes de molécules cracratissées comme l'indique son nom par la présence de plusieurs groupes phénoliques associée en structures plus au moins complexes, sont solubles dans les solvants organiques polaires et peu solubles dans les solvants moins polaires (**Macheix et al., 2005**), ainsi, dans une étude comparative, nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par (**Biljana et Djendji, 2019**), on travaillé sur l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* L, avec la méthode de Folin Ciocalteu. On a obtenu des valeurs (173.33 ± 6.696 EAG/mg Ext), donc nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par (**Yakhlef et al., 2011**). En outre, nos résultats sont relativement supérieurs les résultats de (**Fernandes et al., 2015**) (Taux en poly phénols : $37, 26 \pm 2, 12$ EAG/mg d'extrait MeOH) et de (**Ana et al., 2015**) (Taux en poly phénols : $14, 37 \pm 0, 79$ EAG/mg d'extrait AQ). Ces différences de résultats peuvent être dues à la faible spécificité du réactif de « Folin-Ciocalteu » qui est l'inconvénient principal de ce dosage colorimétrique. Il a été montré que le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et protéines (**Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca et al., 2006**).

Et d'après la bibliographie effectuée sur le dosage des flavonoïdes on a constaté que ces différences des teneurs en flavonoïdes entre les extraits peuvent s'expliquer d'une part, par le nombre différent des structures sécrétoires dans les divers tissus végétaux d'autre part, par la sélectivité de chaque solvant utilisé pour le fractionnement, car les flavonoïdes

constituent le groupe le plus hétérogène des composés phénoliques, dont certaines classes sont solubles dans les solvants polaires tandis que, d'autres (les flavonoïdes aglycones) sont solubles dans les solvants apolaires donc on peut dire que *Laurus nobilis* L est riche en flavonoïdes polaires qu'apolaires (Macheixet al., 2006 ; Kaurinovic et vastag , 2019 ; Gulcin , 2020).

Les flavonoïdes totaux trouvés dans l'extrait aqueux de notre plante sont beaucoup plus élevée que celles trouvés par (Kaurinovic et vastag, 2019) (9.04 ± 0.415 EQ/mg) sur les feuilles de la même espèce avec des teneurs ($1, 56 \pm 0, 24$; $1, 07 \pm 1, 12$; $0, 76 \pm 2, 14$ EQ/mg d'extrait). Cependant, une autre étude réalisée par (Yakhlef et al., 2011) sur les feuilles de *Laurus nobilis* espèce a trouvé une faible teneur en flavonoïdes pour les extraits AQ et MeOH avec des teneurs ($4, 75 \pm 0, 03$; $0, 77 \pm 0, 07$ EQ/mg d'extrait) par rapport à nos extraits.

V.2.3. Activités antibactériennes

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux est effectuée en utilisant la méthode d'Aromatogramme sur une panoplie des souches bactériennes variant entre Gram positif et Gram négatif. La méthode repose sur la capacité de l'extrait de se diffuser dans la gélose et inhiber la croissance de la souche bactérienneensemencée préalablement en surface. L'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque contenant l'extrait indique son efficacité ; le diamètre de la zone d'inhibition diffère selon la nature de l'extrait, la concentration appliquée mais aussi le type de bactérie testée. Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux montrent des zones d'inhibition ne dépasse pas 6mm quel que soit les concentrations utilisées. Les souches montrant une grande résistance aux l'extraits étudié sont les souches de référence ; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonasaeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. L'obtention de telle activité pourrait être expliquée par les points suivants : Au cours du broyage des feuilles (Jones et Kinghorn, 2005). Les feuilles de *L.nobilis* ont été récoltées et broyées en février 2023 puis conservées à température ambiante dans une flacon en verre. La résistance des souches peut être attribuée à la capacité de l'agent antibactérien de diffuser uniformément dans l'agar (Hayouni et al, 2007). Il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue son activité intrinsèque de telle manière que dans ce cas le résultat n'a qu'une valeur relative (Balansard, 2007). L'extrait aqueux, par contre, n'a pas d'effet significatif, ce qui est le cas pour notre extrait. D'après les recherche bibliographiques le diamètre des zones d'inhibitions exercées par l'extrait

aqueux de *Laurus nobilis* vis-à-vis la souche bactérienne *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonasaeruginosa* ATCC 27853 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 est égale à 6mm et il représente le diamètre du disque du papier Wattman. Ce diamètre est obtenu avec toutes les concentrations utilisées par contre l'extrait méthanolique de même espèce donne une zone d'inhibition qui dépasse 6mm (Hayouni et al, 2007). L'investigation sur les activités antibactériennes des extraits végétaux doit être poussée plus loin, d'une part en testant les extraits sur d'autres souches et d'autre part en fractionnant les extraits dans le but de se débarrasser des substances pouvant inhiber et masquer les molécules biologiquement actives. En outre, il est important de préciser qu'un résultat observé lors de l'évaluation d'un extrait brut est la composante de deux paramètres : l'activité intrinsèque des produits actifs et leur quantité relative dans l'extrait. Par exemple, une activité avérée d'un extrait peut aussi bien être le reflet d'une faible quantité de constituants très actifs que d'une grande quantité de constituants peu actifs (Ferrari, 2002).

V.2.4. Cinétique de la croissance de la flore totale aérobie mésophile

D'après Florence, 2010 ; le temps de stockage et la température de refroidissement de lait sont influencés la qualité microbiologique de lait, dans notre étude, la densité cellulaire initiale de lait qui a été réfrigéré à 4°C avec l'addition d'extrait aqueux de *Laurus nobilis* est 3.39 log UFC /ml, 2.90 log UFC/ml et 4.11 log UFC/ml des concentrations faibles $C_1=2.5\text{mg/ml}$ et $C_2=5\text{mg/ml}$ et concentrations fortes $C_3=10\text{mg/ml}$ respectivement. Ces valeurs sont très proches du fait de la proximité des zones où le lait a été collecté : influence des climats et de la nutrition qui sont similaires. Parmi les techniques conventionnelles de lait sont le traitement UHT et la pasteurisation qu'ils sont incapables d'éviter la détérioration de celui plus de 4 jours par la résistance des bactéries psychrotrophes de lait par la production des métabolites antagonistes et des enzymes thermorésistants qui provoquent un changement remarquable de composition de lait par l'apparition des nouvelles espèces bactériennes et la dégradation des composés de lait. Des études récentes travaillent à trouver des nouvelles techniques de conservation de lait plus sûre et efficace à part le traitement thermique (réfrigération, pasteurisation et UHT) ; la congélation à l'aide de rinçage continu par le gaz N_2 prouve leur efficacité pour conserver le lait que le stockage à froid 4°C mais la flore bactérienne sera inhibée sans détruire qui pose la question de contenir des germes pathogènes qui sont capables de renaissance lorsqu'elles sont ramenées à des températures froides ou moyennes (Gschwendtner, 2016).

Conclusion

Conclusion

La région de Mila à une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des

Caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, La plante médicinale (*Laurus nobilis*) a fait l'objet d'une étude phytochimique de leur extrait et d'une évaluation de leur potentiel antibactérien.

Par la suite, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules d'origine naturelle nécessaires à la mise au point de futurs médicaments qui contribuent de manière significative à la prévention de diverses maladies. Dans le présent travail, nous sommes intéressées à l'étude phytochimique par le dosage des poly phénols et des flavonoïdes totaux, suivi par l'évaluation de l'activités biologiques (l'activité antibactérienne) de l'extrait des feuilles de la plante *laurus nobilis*. De point de vue phytochimique, nous avons réalisé d'extraction liquide –solide pour obtenir l'extrait brute.

Plusieurs études ont été concentrées sur les extraits et les huiles essentielles des plantes aromatiques pour donner des résultats considérables indiquent plusieurs propriétés biologiques et la chose certaine est que les plantes médicinales présentent des activités biologiques et thérapeutique variables selon la nature des substances renfermées. Les mécanismes d'action de ces dernières restent complexes. Il serait donc important ; l'étude in vitro est une étape nécessaire mais elle doit être complétée par une autre.

Nous rappelons que l'objectif de notre étude est l'évaluation de l'efficacité des substances naturelles sur la croissance de la flore bactérienne du lait réfrigéré par la supplémentation de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis* .

Concernant l'évaluation de la cinétique de croissance microbienne de lait aux concentrations 10mg/ml ,5mg/ml et 2.5mg/ml de l'extrait aqueux de *L.nobilis* par rapport au témoin .

Nos résultats préliminaires montrent que l'extraits brut de *Laurus nobilis* été testés par la méthode de diffusion à partir d'un disque solide, pour leur pouvoir inhibiteur contre un ensemble de bactéries ; et pour pouvoir aussi l'activité antimicrobienne contre la flore bactérienne de lait cru de vache.

Finalement l'extrait brut du Laurie testé dans ce travail a montré une bonne activité antimicrobienne. Ces résultats soutenu l'utilisation de *Laurus nobilis* comme un bio conservateur de lait cru de vache.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Aboutayeb R, (2009). Technologie du lait et dérivés laitiers, Source : <http://www.azaquar.com>.

Agabriel C., Coulon J.B., Marty G., Cheneau N. (1990). Facteurs de variation du taux protéique du lait de vache dans des exploitations du Puy-de Drome. INRA Prod, Anim. 3 (53).137-150.

Amiot J, Fournier S, Lebeuf Y, Paquin P, Simpson R, (2002). Sciences et technologie du lait ; composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait, Canada, Presses Internationales Polytechniques, 1-73p.

Ana FV, Luís F, Guido, Anabela SGC, Rita CA, and Beatriz M PPO. (2015). Monomeric and oligomeric flavan-3-ols and antioxidant activity of leaves from different Laurussp. The Royal Society of Chemistry. Vol, 11, p 12–58.

Anton r, lobsteina. (2005). Plantes aromatiques. Epice, aromates, condiments et huiles essentielles Tec & Doc, Paris (France

Aqilikhorsani MS. (1992). Collection of drugs (Materia media). Enqelab-e-Eslami.

Baba-Aïssa F., (2000). Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie.p.103-107.

Ballabio R., & Goetz P. (2010). Huile de graine/fruit de laurier *Laurus nobilis* L., *Laurus azorica* (Seub.) Franco, *Laurus novocanariensis* Rivas Mart., Lousã, Fern. Prieto, E. Dias, JC Costa et C. Aguiar. *Phytothérapie* 8(2): 141-144.

Barla A., Topçu G., Öksüz S., Tümen G., Kingston D.G.I., (2007): Identification of Cytotoxique sesquiterpènes from *Laurus nobilis* L., *Food chemistry* 104:1487-1484.

Beloued A., (2005). Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires . Alger. 124p.

Beloued. (2009). Laurier ; Description ; Habitat ; Composition chimique. Dans plantes médicinalesD'Algérie (p. 124).

Beloued A., (2001). Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications Universitaires, Alger : 5-10 p.

Biljana K, djendii V. (2019). Flavonoïdes et acides phénolique en tant que antioxydants naturels potentiels.

Bony J, Contamin V, Gousseff M, Metais J, Tillard F, Juanes X, Decruyenaere V, (2005). Facteurs de variation de la composition du lait à la Réunion INRA Anim, (4) ,255256p

Bouchaale I, Kahalerras A, Zouaoui S. (2015). Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie). Diplôme de la fine étude : Science de la nature et de la vie : Université 08 mai 1945 de Guelma. P17.

Boujenane M (2003). Evaluation génétique des laitiers des races Holstein et Montbéliarde de la société Agropplus. Mem. Ing. Agro. Instiut Agronomique et Vétérinaire Hassan 2 Raba, 73p.

Brown J. E., Khodr H., Hider R. C., Rice-Evans C. (1998) Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions. Biochem. J. 330 : 1173-1178.

Bruneton J., (1993): Pharmacognosie -photochimie, plantes médicinales. Tec & Doc . Lavoisier, Paris : 915 p.

Bruneton J., (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Tec. Et Doc . Lavoisier. 3eme édition. 1999, P: 484-488.

Caldas I, caldas m. (2008)-The laurel leaves toxicity may also be responsible for the Trance of the Delphic pythia-Toxicology Letters.Vol.180. pp.232-246, Brazil.

Callery E., (1998). Le grande livres herbes : guide pratique de la culture, du séchage et vertus de plus de 50 herbes. Konemann. P6.

Cayot P., Lorient D. (1998). Structures et techno formations des protéines du lait Technique et Documentation, Paris, 363p.

Chabrier J.Y (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Doctorat En Pharmacie. Université Henri Poincaré – Nancy 1.

Cheftel , (1996). Introduction à la biochimie, à la technologie des aliments. Vol 1. Edition : Lavoisier, Paris. pp : 43.

Cheriti A., Rouissat A., Sekkoum., Balansard G., (1995). Plantes de la pharmacopée traditionnelle dans la région d'El-Bayadh (Algérie), *Fitoterapia*, vol. *LXVI* , (6): 525- 537.

Chia-chi C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food Chemistry*. 10(03): 178-182.

Cniel, (2013). Economie laitière dans le monde.

Coulon J.B., (1991). Facteurs de variation du taux protéique du lait de vache en exploitation : réflexions à partir de résultats d'enquêtes. *INRA Prod. Anim.*, 4 (4), p.p.303 – 309.

Coulon J.B., Hurtaud C., Rémond B., Vérite R. (1998). Facteurs de variation de la proportion de caséines dans les protéines du lait de vache. *INRA Prod. Anim.*, 1998, 11 (4),299-310.

Cuq J, (2007). Microbiologie Alimentaire, Edition Sciences et Techniques du Languedoc, Université de Montpellier, 25p.

Dacosta, Y. (2003) Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.

Demir V. E. D. A. T., Gunhan T. U. N. C. A. Y., Yagcioglu A. K., & Degirmencioglu A. D. N. A .N. (2004). Mathematical modelling and the determination of some quality parameters of airdried Bay leaves. *Biosystems engineering* 88(3): 325-335.

Dubreuil L, (2000). Système de ventilation d'été. Ministère d'agriculture des pêcheries et de l'alimentation. Québec.

Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., ET Curini, M., (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Photochemistry*, 68:939. pp: 953.

FAO, (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. *Food & Agriculture Org*, Vol. 28, P 271.

FAO, (1998). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine.

Fao, (2015). la production laitière et les produits laitiers, les animaux laitiers.

Fayolle L., (2015). Le lactose, indicateur de déficit énergétique chez la vache laitière ?. Thèse de doctorat : sciences vétérinaires. Lyon : Campus vétérinaire de Lyon, 2015, 141 p.

Fernandes RPP, Trindade MA, Tonin FG, Lima CG, PugineSMP, Munekata PES. Lorenzo JM, and Melo MP. (2015). Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods : cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lambburgers. J Food Sci Technol.

Ferreira A., Proença C., Serralheiro M.L.M., Araújo M.E.M. (2006) The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. J. Ethnopharmacology. 108: 31-37.

Florence C. L., (2010). Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voie d'amélioration par l'alimentation. Thèse de doctorat : Faculté de médecine de Créteil. Créteil, 2010, 128 p.

Fox, P.F. (2003). Milk proteins: general and historical aspects. In: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*, 3rd edn (eds P.F. Fox & P.L.H. McSweeney), pp. 1-48, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Frank et Hassan, (2003). Frank, J.F., Hassan, A.N. (2003). Microorganisms associated with milk. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (eds H. Roginski, J.W. Fuquay & P.F. Fox), Academic Press, London.

Fredot E, (2005). Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier, 14-379p.

Gee J.M., Johnson I.T. (2001) Polyphenolic compounds : interactions with the gut and implications for human health. Current Medicinal Chemistry. 8 : 1-182.

Geerts P., Rammeloo J., Van Cauteren G., (2002). Laurus nobilis : le livre du laurier. Gand: Ed. Ludion; 131 p.

Gómez-Caravaca AM, Gómez-Romero M, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, and Fernández-Gutiérrez A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in

products derived from bees. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Vol. 41, p 1220- 1234.

Guiraud J, (2003). Microbiologie alimentaire, microbiologie alimentaire. AFNOR, 300p.

Handa S S., (2008). An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In:Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre For Science and High Technology, Trieste, Italy. p 21-54.

Heller R ., Esnalut R., Lance C., (2010). physiologie végétale .P,373.

Huppertz T., Kelly A.L. (2009). Properties and Constituents of Cow's Milk In:Milk Processing and Quality Management Wiley-Blackwell,Chichester UK, Malden MA, 23-47

Institut des techniques des élevages, (2009). Traite des vaches laitières. Matériel. Instalation.1ere Edition France Agricole, Produit mieux,55-506p.

Iserin P., (2001). Larousse des plantes medicinales: Identification, préparation, soins. Ed. Larousse: 10p.225-226.

Jacquet J. (1969).Les antibiotiques dans le lait et les produits laitiers. Econ, méd, anim.pp : 10, 13-17.

Jeun, J. M., Annie., F., et Chrystian, J. L. ,(2005). Les composés phénoliques des végétaux. pp 203-204.

Kaurinovic et vastag (2019). In vitro and in vivo effects of Laurus nobilis L. leaf extracts. Molecules, Vol.15, n° 5, p3378-3390.

Kivcak B., Mert T., (2002). Preliminary evaluation of cytotoxic properties of Laurus nobilis L. leafextracts. *Fitoterapia*. 73: 242-243.

Kraft K., Hobbs C., (2004). Pocket Guide to Herbal Medicine. Thieme, Stuttgart, New York. p16.

Leroy. (1965). Le producteur du lait «guide du contrôle laitier et beurrier». Edition : HACHETTE, Encyclopédie des connaissances agricoles. 245p.

Leryal G, Vierling F, (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires. 4^{ème} édition Biosciences et techniques, 87p.

Lobstein A., (2010). Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, pp 3-25.

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes.

Mahaut M., Jeantet R., Brule G. (2003). Initiation à la technologie fromagère. Techniques et Documentation – Lavoisier, Paris, 194 p.

Mahieu H, Jaouen JC, Luquet GM et Mouillet L. (1977). Étude comparative de la composition et de la contamination des laits des espèces laitières bovines, ovines et caprines. Le lait, 57, pp : 565-568.

Marouf, A., & Reynaud, J. (2007). La botanique de A à Z. Ed Dunod. Paris. 177p.

Mathieu J, (1998). Initiation à la physicochimie du lait, Paris, Technique & documentation, (Guide technologique des IAA), 220p.

Merghaen R, (2009). Eléments biochimie végétale. 1^{ère} Edition. Bachaeddine Editions. Algérie. P 65

Meyer C, Denis J.P, (1999). Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Ed : Cirad, 314p.

Michel V, (2005). International Symposium "Territories and Challenges of Regional Development", Lyon, 9-11 March.

Morel I. (1962). Enquêtes sur la présence d'antibiotiques dans le lait de trois zones de production, 1962. Lait, 42, pp : 593-601.

Myose M., Paris R., (1976). Précis des matières médicales. Ed Masson. 161-162p.

Pereira P.C. (2014). Milk composition and its role in human health Nutrition , 30, 619 627.

Peris I., & Blázquez M. A. (2015). Comparative GC-MS Analysis of Bay Leaf (*Laurus nobilis* L.) Essential Oils in Commercial Samples. International Journal of Food Properties 18: 757–762.

Perreau J.M. (2014). Conduire son troupeau de vaches laitières Editions France Agricole, Paris, 403p

Pointurier H., Adda J.. (1969). Beurrerie industrielle. La Maison Rustique, Paris, 1969.

Popovici C, Saykova I, Tylkowski B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel, Vol.4, p 25-39.

Pyorala S. (2003). Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis Veterinary Research, BioMed Central, 34(5), 565-578

Quetin JL., (2002). Le voyage insolite de la plante au médicament. Journal de Pharmacie de Belgique. Vol 20.P11.

Quezel P. et Santa S., (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I. Ed CNRS. Paris. 565p.

Quezel P. et Santa, S., (1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed CNRS. Paris. 360-361 p.

Raven PH., Evert F R., Eichhorn S E., (2007). Biologie végétale. 3^{ème} Edition. De Boeck Supérieur. PP 18-30.

Reumont P, (2009). Licencié Kinésithérapie.

Rezamand P., HOagland T.A., Moyes K.M., Silbart L.K., Andrew S.M., (2007). Energy status, lipid-soluble vitamins, and acute phase proteins in periparturient Holstein and Jersey dairy cows with or without subclinical mastitis J. Dairy Sci., 90, 5097-5107.

Rheotest M ; (2010). Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST®LK-produits alimentaires et aromatisants.

Robinson R, (2002). Dairy microbiology handbook .The microbiology of milk.

Roca-Fernandez A.I. (2014). Animal factors condition milk performance and quality of grazing dairy cows Iranian Journal of Applied Animal Science, 4(1), 1-20

Sandra I. A. S. P. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse de doctorat : sciences vétérinaires. Toulouse: École nationale vétérinaire, 2001, 102p.

Sayyah M, Valizadeh J, Kamalinejad M. (2002). Anticonvulsant activity of the leaf

Selles C., (2012). Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L, Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M. Thèse de pharmacie. 214p.

Simic M., Kundakovic T., Kovacevic N., (2003). Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*.74: 613-616.

Stursa J., (2001). Arbres et Arbustes à feuilles persistantes .Grand.Paris. P118-203.

Tamime Y.A., (2009). Milk processing and quality management. Blackwell Publishing L.td.ISBN: 978-1-405-14530-5.

Teuscher E. Et Anton R et Lobstein A., (2005). Plantes aromatiques épicées, aromates , Condiments et huiles essentielles, Edit. LAVOISIER, Paris:522p.

Thieulin G, vuillaume R, (1967). Éléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des œufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, président Wilson, Paris,71-73,388p.

Vanier P. (2005). Le lait au fil du temps, Usages culinaires, Conservation, Ecologie et environnement. pp : 65.

Vetvicka V., Matousova V., (1991). Arbres et Arbustes: 256 illustrations en couleurs. Ed GRÜND.112p.

Vierling E, (2003). Aliment et boisson- Filière et produit, 2ème édition, Doin éditeurs, centre régionale de la documentation pédagogique d'aquitaine, 11,270p.

Vignola C, (2002). Science et Technologie du lait Transformation du lait, Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada, 13-75p.

Vignola C., (2010). Sciences et technologie du lait, transformation du lait. Ed 2. Presse polytechnique de Montréal. 2010. 608 p. ISBN-10 : 2553015526.

Wang W., Wu N., Zu YG. and Fu YJ., (2008). Antioxidant activity of Rosmarinus officinalis L oil compared to its main compounds. Food chemistry. 108 (3): 1019-1022.

Yakhlef G, Laroui S, Hambaba L, Aberkane 2M-C, Ayachi A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de Thymus vulgaris et de Laurus nobilis, plantes utilisées en médecine traditionnelle. Ethnopharmacologie. Vol.9, p 209-218.

Yennek B. (2010). Effet des facteurs d'élevage sur la production et la qualité du lait de vache en régions montagneuses. Thèse de magister. Alimentation animale et produits animaux. Tizi-Ouzou. Université de Mouloud Mammeri, 2010, 141 p.

Sites web :

Site 01 : <http://passeportsante.net>

Site 02 : <http://futura-sciences.com>

Annexes

Annexes

Annexe 01 : Principales produits utilisées

Milieux de culture	Solvants utilisées
Gélose nutritif (GN)	Eau distillée
Gélose Muller Hinton (MH)	Eau physiologique

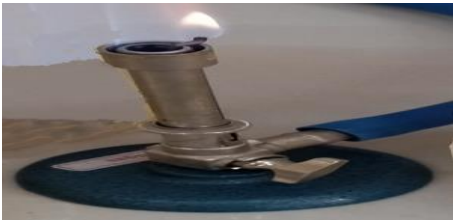
Annexe 02 : Préparation des solutions et des réactifs

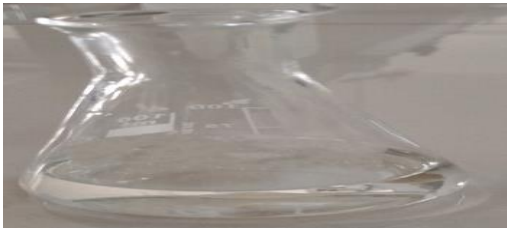
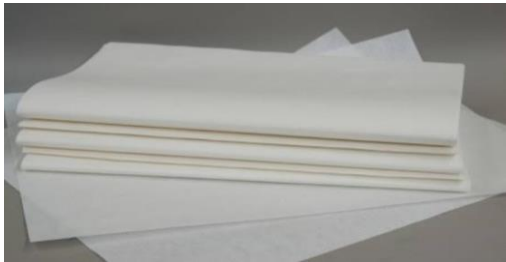
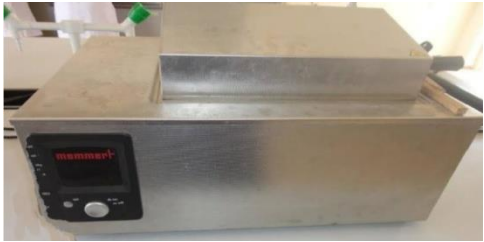
- **Acide gallique** : peser 1mg d'acide gallique dans un tube et y ajouté 500mL de MeOH.
- **Folin - ciocalteu** : prélever 10ml Folin ciocalteu et ajouté 90ml eau distillée.
- **Préparation de Na_2Co_3** : peser 7,5ml de la poudre et la préparer 100ml eau distillée.
- **Préparation d' AlCl_3** : peser 1mg de la poudre et ajouté 50ml MeOH (2%) avec agitation

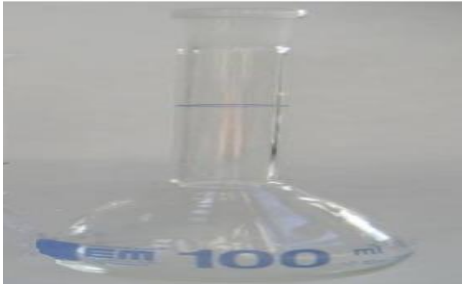
Annexe 03 : appareillages et verreries de laboratoire utilisées

Nom	Photo
Autoclave	

Etuve	
Plaque Agitatrice	
Plaque chauffante	
Vortex	
Réfrigérateur	

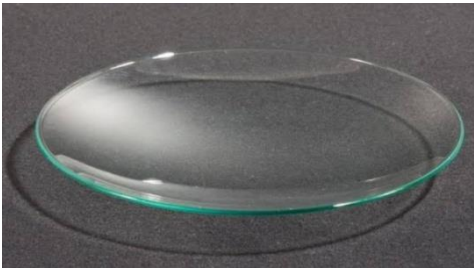
Bec benzène	
Tubes à vis	
Boîtes de Pétri	
Micropipette	
Anse à platine	

Pince	
Spatule	
Erlenmeyer	
Papier filtre	
Mortier	
Bain marie	

Spectrophotomètre	
Balance de précision	
Bécher	
Fiole	
Entonnoir	

Flacons	
Ecouvillon	
Disques	
Eprouvette graduée	
Pipette graduée	

Eppendorf	
Pointes	
Portoirs	
Pissette d'eau distillée	
Barreau aimanté	

Verre de montre	
Pipette pasteur	

Annexe 04 : Calcule les volumes de l'extrait ajoutés au lait

Comme suivant :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100\text{mg/ml. } V_1 = 10\text{mg/ml. } 100\text{ml}$$

$$V_1 = 10\text{mg/ml. } 100\text{ml} / 100\text{mg/ml}$$

$$V_1 = 10 \text{ ml.}$$

Annexe 05 : Étude résultat de la cinétique

Échantillons	Dilutions	0	0'	2	2'	4	4'	6	6'	8	8'
Témoin	D1	9	9	158	420	< 300	< 300	< 300	< 300	< 300	< 300
	D2	3	1	77	644	188	< 300	< 300	< 300	< 300	< 300
	D3	3	0	139	1896	55	464	< 300	< 300	< 300	133
	D4	3	0	311	2816	27	358	205	120	< 300	300
	D5	0	0	165	816	16	404	92	113	139	258
C1 (EL1) 10 mg/ml	D1	21	29	140	184	5544	5720	< 300	< 300	< 300	< 300
	D2	8	4	10	14	2280	2644	< 300	< 300	< 300	< 300
	D3	4	4	0	0	440	576	< 300	< 300	< 300	< 300
	D4	10	0	0	1	41	61	< 300	< 300	< 300	< 300
	D5	3	4	0	2	316	11	226	122	< 300	< 300
C2 (EL2) 5 mg/ ml	D1	10	6	205	192	4400	4480	< 300	< 300	< 300	< 300
	D2	2	1	19	15	3812	4016	< 300	< 300	< 300	< 300
	D3	0	1	0	3	692	764	< 300	< 300	< 300	< 300
	D4	1	0	1	1	71	57	< 300	< 300	< 300	< 300
	D5	1	1	0	0	5	10	111	96	296	298
C3 (EL3) 2,5 mg/ml	D1	121	140	208	248	4060	4416	< 300	< 300	< 300	< 300
	D2	19	11	14	25	1756	1780	< 300	< 300	< 300	< 300
	D3	0	1	1	2	860	1708	< 300	< 300	< 300	< 300
	D4	0	1	0	1	129	234	< 300	< 300	< 300	< 300
	D5	0	0	2	0	12	11	276	285	< 300	< 300

Résumé

Ces études ont été réalisées dans le but de valorisation des plantes médicinales et aromatiques d'origine algérienne. Pour cette raison, nous avons choisi une plante de l'est algérien plus précisément de l'état de Mila, qui appartient à la famille des lauracées (*Laurus nobilis*), l'extraction des molécules bioactives a été effectuée en utilisant la méthode de macération à froid. A l'aide de Cette méthode nous a permis d'obtenir un extrait aqueux de rendement considérable (17,65%). En plus de réalisé des tests de dosage pour déterminer le taux des poly phénols totaux et des flavonoïdes dans l'extrait aqueux, Le test du dosage des poly phénols totaux a montré que l'extrait étudié en contiennent ($173.33 \pm 6.696 \mu\text{g EAG/mg Ext}$). cependant le dosage des flavonoïdes a donné des valeurs faibles variées de $9.04 \pm 0,415 \mu\text{g EQ/mg Ext}$; et l'activité antibactérienne a également été évaluée en utilisant la méthode de diffusion contre cinq souches bactériennes de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 2856, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212).

Les résultats ont montré que l'extrait aqueux n'avait aucun effet sur les souches. Aussi, dans notre étude, en utilisant la méthode de cinétique; ont été ajoutées les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis* au lait cru de vache collecté d'une région à l'état de Mila, et les résultats ont généralement montré que l'extrait avait un effet sur la croissance de la flore bactérienne du lait réfrigéré.

Mots clés : *Laurus nobilis*, poly phénols totaux, flavonoïdes, Activité antibactérienne, cinétique.

المخلص

أجريت هذه الدراسة لغرض تثمين النباتات الطبية والعطرية ذات الأصل الجزائري. لهذا السبب، اخترنا نباتًا جزائريًا بدقة أكبر من ولاية ميله، التي تنتمي إلى عائلة Lauraceae (*laurus nobilis*)، وتم استخلاص الجزيئات النشطة بيولوجيًا باستخدام طريقة النقع البارد. أتاح لنا استخدام هذه الطريقة الحصول على مستخلص مائي كبير (17.65%). بالإضافة إلى إجراء اختبارات لتحديد معدل إجمالي البوليفينول في المستخلص المائي؛ أظهر الاختبار أن المستخلص المدروس يحتوي على (6.696 ± 173.33 $\mu\text{g EAG/mg Ext}$)، فيما أعطت مركبات الفلافونويد قيمًا مختلفة تبلغ (9.04 ± 0.415 $\mu\text{g EQ/mg Ext}$)؛ وتم أيضًا تقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة الانتشار على خمس سلالات مرجعية (*Escherichia Coli* ATCC 25922، *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923، *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853، *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212).

كما أظهرت النتائج أن المستخلص المائي لم يكن له أي تأثير على السلالات. أيضًا في دراستنا، وباستخدام تراكيز مختلفة للمستخلص المائي من *Laurus nobilis* مع حليب البقر الخام الذي تم جمعه من منطقة ميله أظهرت النتائج بشكل عام أن المستخلص كان له تأثير على نمو البكتيريا الحليب المبرد.

الكلمات المفتاحية: الفلافونويد، البوليفينول، *laurus nobilis*، نشاط مضاد للبكتيريا، الانتشار.

Abstract

This study was carried out for the purpose of valorisation of the medicinal and aromatic plants of Algerian origin. For this reason, we have chosen a more precisely Algerian plant from the state of Mila, which belongs to the Lauraceae family (*Laurus nobilis*), the extraction of the bioactive molecules was performed using the method of maceration to COLD. Using this method allowed us to obtain a considerable aqueous extract (17.65%). In addition to making dosing tests to determine the rate of the total polyols and flavonoids in the aqueous extract, the test of the poly phenols Total showed that the extract studied contain ($173.33 \pm 6.696 \mu\text{g EAG} / \text{mg ext}$). Claim the determination of flavonoids gave various values of $9.04 \pm 0.415 \mu\text{g eq} / \text{mg ext}$; and antibacterial activity has also been evaluated using the five-strain-based broadcasting method (*Escherichia Coli* ATCC 25922, *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus Aureus* ATCC 2856, *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC27853, *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212). The results showed that the aqueous extract had no effect on the strains. Also, in our study, using the method of kinetics; the different concentrations of the aqueous extract of *Laurus nobilis* with cow's raw milk collected from a region of Mila, and the results have generally shown that the extract had an effect on the growth of the bacterial flora of refrigerated milk.

Key words: *Laurus nobilis*, Total polyols, flavonoids, antibacterial activity, kinetics.