

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie



# MÉMOIRE

*Présenté par*

**BOUHASSINA Hadjer**

**CHERIF Yasmine**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Infectiologie

**Thème**

***Etude de l'activité antioxydante de fromages***

Soutenu le 16 juin 2022, devant le jury composé de :

Présidente	BOUALI Waffa	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	MEDJDOUB Houria	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	KADDOUR Faiza	MAA	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2021/2022**

## ملخص

كجزء من مكافحة الأمراض، يتم إجراء الدراسات على البحث عن مصادر جديدة لمضادات الأكسدة الطبيعية. في دراستنا الحالية، تم فحص 3 أنواع من الجبن (الجبن الأحمر ، Gouda و Cheddar) لتحديد نشاطهم المضاد للأكسدة مقابل 2،2-diphenyl-1-picrylhydrazyl و إرجاع الحديد.

لتحقيق هذا الهدف، يتم تحضير ثلاثة مستخلصات من كل جبن باستخدام ثلاثة مذيبات: الأسيتون والميثانول والماء.

كشفت نتائج التحليلات أن الجبن الأحمر ( edam ) كان له أعلى انخفاض في كلا الاختبارين، لكن النوعين الآخرين من الجبن أعطوا نفس نتائج التخميض تقريباً (DPPH ، FRAP) وظلوا أقل أهمية من edam.

يمكننا أيضًا أن نستنتج من خلال دراستنا أن الميثانول هو المذيب المناسب للجبن الأحمر وأن الماء أكثر ملاءمة للجودة والجبن لطريقة DPPH. فيما يتعلق بأسيتون FRAP هو أفضل مخفف للجبن 3.

لذلك تظهر هذه الدراسة أن الجبن 3 له قوة مهمة مضادة للأكسدة ولكن الجبن الأحمر هو الأفضل.

**كلمات مفتاحية:** DPPH, FRAP, جبن احمر, شدار ، غودا،

## Résumé

Dans le cadre de la lutte contre les maladies dégénératives, des études sont menées sur la recherche de nouvelles sources d'antioxydants naturels. Dans notre présente étude 3 types de fromages (fromage rouge, gouda et cheddar) ont été examinés pour déterminer leur activité anti radicalaire vis-à-vis le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle et leur pouvoir réducteur du fer.

Afin d'atteindre cet objectif, trois extraits sont préparés à partir de chaque fromage en utilisant trois solvants à savoir l'acétone, le méthanol et l'eau.

Les résultats des analyses ont révélé que le fromage rouge (edam) a la réduction la plus élevée dans les deux tests cependant les deux autres types de fromage ont donné approximativement les mêmes résultats de réduction (DPPH, FRAP) et qui restent moins importants que l'edam.

Nous pouvons déduire également à travers notre étude que le méthanol est le solvant approprié pour le fromage rouge et l'eau est plus adéquate pour le gouda et le cheddar pour la méthode du DPPH. Concernant le FRAP l'acétone est le meilleur diluant pour les 3 fromages.

Donc cette étude montre que les 3 fromages ont un pouvoir antioxydant important mais le fromage rouge est le meilleur.

**Mots clés :** Fromage rouge, Cheddar, Gouda, Activité antioxydante, DPPH, FRAP

## **Abstract**

As part of the fight against degenerative diseases, studies are carried out on the search for new sources of natural antioxidants. In our present study 3 types of cheeses (red cheese, gouda and cheddar) were examined to determine their antiradicalar activity vis-à-vis the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and their fer reducing power.

In order to achieve this goal, three extracts are prepared from each cheese using three solvents, namely acetone, methanol and water.

The results of the analyzes revealed that red cheese (Edam) has the highest reduction in the two tests, however the other two types of cheese have approximately gave the same reduction results (DPPH, FRAP) and which remain less important than the 'Edam.

We can also deduce through our study that methanol is the appropriate solvent for red cheese and water is more adequate for Gouda and cheddar for the DPPH method. Regarding the FRAP Acetone is the best diluent for the 3 cheeses.

So this study shows that the 3 cheeses have good antioxidant power but red cheese is the best.

**Key words :** Red cheese, Gouda, Cheddar, activity antioxidant, DPPH, FRAP

# Remerciements

Nous remercierons tout d'abord ALLAH le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il nous a donné pour l'achèvement de ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à «Mme MEDJDOUB H », Maitre de conférences B à l'université de Tlemcen, notre encadreur; et nous cesserons jamais de la remercier pour sa patience, ses précieux conseils, sa grande disponibilité pour l'aboutissement de ce travail.

Nous adressons nôt plus sincères remerciements à «Melle BOUALI W », Maitre de conférences A à l'université de Tlemcen qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de jury ainsi que pour son aide et sa présence.

Nos remerciements vont aussi à «Mme KADDOUR F», Maitre assistante A à l'université de Tlemcen, Faculté de médecine, pour l'honneur qu'elle nous fait de bien vouloir faire partie de ce jury autant qu'examinatrice, nous tenons à vous exprimer tout notre respect.

Ce travail n'aurait pu aboutir sans l'aide de nombreuses personnes. Nous exprimons toute notre sympathie à l'ensemble des membres du laboratoire2 de pole Biochimie, Faculté SNV-STU.

Enfin nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants qui ont suivi notre parcours pendant cinq ans d'études.

# Dédicace

- ❖ Je tiens tout d'abord à remercier mes très chers parents pour l'aide le soutien et surtout les conseils tout au long de ma vie. Qu'Allah les protège et les garde pour moi.
- ❖ A mes très chers frères qui m'ont toujours soutenu.
- ❖ A mon binôme avec qui j'ai partagé des années d'études.
- ❖ A tout mes amis et famille sans exception.
- ❖ À tous ceux que j'aime dans ce monde.

Hadjer

# D é d i c a c e

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à:

- ❖ mes parents et mes beaux parents qui m'ont soutenus et encouragé durant ces années d'études que dieu les gardes pour moi.
- ❖ mon mari pour sa compréhension et sa patience et surtout ses encouragements pour que je finisse mes études.
- ❖ mes très chers Frères ânes et Youcef et mes beaux-frères Sarah et Fayçal
- ❖ ma raison de vivre ma fille Fadia
- ❖ mon binôme avec qui j'ai partagé des moments inoubliables
- ❖ Que Dieu nous garde si tendre et aimants les uns envers les autres

## Yasmine

# Sommaire

Introduction.....	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : généralités sur les fromages</b>	
1 Définition .....	2
2 Intérêts de la consommation des fromages .....	2
3 Les types de fromages.....	2
3.1 Fromages frais ou à pate fraiche.....	3
3.2 Fromages à pate molle .....	3
3.3 Fromages à pate pressée .....	3
4 Les fromages étudiés.....	4
5 Bactéries lactiques .....	5
5.1 Définition.....	5
5.2 Les bactéries lactiques utilisées en fromagerie.....	5
5.3 Rôles et propriétés des bactéries lactiques .....	6
5.3.1 Acidification et égouttage .....	6
5.3.2 Fermentation du citrate.....	6
5.3.3 Production d'expolysaccharides .....	6
5.3.4 Protéolyse .....	7
5.3.5 Lipolyse.....	7
6 Les ferments lactiques.....	7
6.1 Définition.....	7
6.2 Types de ferments lactiques .....	7
6.2.1 Ferments mésophiles .....	8
6.2.2 Ferments thermophiles .....	8
6.2.3 Rôle de la fermentation .....	8
<b>Chapitre II : stress oxydant et antioxydant</b>	
1 stresss oxydant .....	9
2 Les radicaux libres .....	9
3 Les espèces réactives de l'oxygène.....	10
3.1 Le peroxyde d'hydrogène.....	11
3.2 Le radical hydroxyle HO●.....	11
3.3 L'anion superoxyde (O <sub>2</sub> ·-) .....	11



4	Espèces réactives de l'azote.....	12
4.1	Peroxynitrite (OONO <sup>-</sup> ).....	12
4.2	Monoxyde d'azote(NO.).....	12
5	Les antioxydants .....	12
5.1	Antioxydants enzymatiques.....	12
5.1.1	La superoxyde dismutase(SOD).....	12
5.1.2	La catalase .....	13
5.1.3	La glutathionperoxydase .....	13
5.2	Antioxydants non enzymatiques.....	13
5.2.1	Les vitamines.....	13
	□ La vitamine E( $\alpha$ -tocophérol) .....	13
	□ La vitamine A.....	13
5.2.2	Les polyphénols.....	13
5.2.3	Les oligo-éléments .....	14
	□ Sélénium .....	14
	□ Zinc.....	14

## **Partie expérimentale**

### **Matériel et méthodes**

1	Lieu et objectif du travail.....	15
2	Echantillons.....	15
3	Préparation des extraits .....	15
4	Estimation de l'activité antioxydant .....	16
4.1	Piégeage du radical DPPH.....	16
4.2	Pouvoir réducteur du fer (FRAP) .....	17

### **Résultats et interprétation**

1	Piégeage du radical DPPH.....	18
1.1	Fromage rouge .....	18
1.2	Gouda.....	18
1.3	Cheddar.....	19
1.4	Représentation récapitulative .....	20
2	Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	20
2.1	Fromage rouge.....	20
2.2	Gouda.....	21

2.3	Cheddar.....	22
2.4	Représentation récapitulatif.....	22
	Discussion .....	24
	Conclusion.....	26

**Références bibliographiques**

## Liste de figures :

<b>Figure 1</b> : Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Camille et Mireille, 2011).....	10
<b>Figure 2</b> :Anion superoxyde et ses dérivés (Afonso <i>et al.</i> , 2007). .....	11
<b>Figure 3</b> : Echantillons des fromages .....	15
<b>Figure 4</b> :Préparation des neuf extraits.....	16
<b>Figure 5</b> : Forme réduite du radical DPPH• .....	16
<b>Figure 6</b> : Variation des pourcentages de réduction de DPPH par les trois extraits du fromage rouge.....	18
<b>Figure 7</b> : Variation des pourcentages de réduction de DPPH par les trois extraits du Gouda .....	19
<b>Figure 8</b> : Variation des pourcentages de réduction de DPPH par les trois extraits du Cheddar .....	19
<b>Figure 9</b> : résultats de la réduction du DPPH .....	20
<b>Figure 10</b> : Modifications de l'inhibition de la réduction du fer par trois extraits de fromage rouge.....	21
<b>Figure 11</b> : Modifications de l'inhibition de la réduction du fer par trois types d'extraits de gouda .....	21
<b>Figure 12</b> : Changements dans l'inhibition de la réduction du fer par trois extraits de fromage cheddar .....	22
<b>Figure 13</b> : résultats de réduction du fer "FRAP" .....	23

## Liste de tableaux :

<b>Tableau 1</b> : la différence entre les fromages utilisés(Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail).....	4
<b>Tableau 2</b> : principales sources des radicaux libres (endogènes et exogènes) (Delattre <i>et al.</i> , 2005).....	10

## Liste des Abréviations

**CE<sub>50</sub>**: Concentration efficace50

**CO<sub>2</sub>** : dioxyde de carbone

**DPPH**: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**ERO**: espèces réactives de l'oxygène

**FeCl<sub>3</sub>**: chlorure ferrique

**FRAP**: ferric reducing antioxidant power

**K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>**: ferricyanure de potassium

**NADPH**: nicotinamide adenosine dinucleotide phosphate

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>**: Anion Superoxyde

**OH<sup>•</sup>**: Radical hydroxyle

**pH**: potentiel d'hydrogène

**ROO<sup>•</sup>**: Radical peroxyde

**SOD**: Superoxyde dismutase

**UV**: ultraviolet

# *Introduction*

La nutrition est la fonction de tout organisme. Il le fait par la nourriture. De plus en plus de scientifiques se concentrent sur le régime optimal, le régime qui vous maintient en bonne santé et prévient les maladies. C'est ainsi que les gens se concentrent sur la nutrition à base d'antioxydants (**Pasma, 2010**).

Le stress oxydatif est causé par un déséquilibre entre les substances pro-oxydantes et antioxydantes, qui sont produites par le phénomène des radicaux libres, omniprésents chez tous les êtres vivants. Il a été impliqué dans de nombreuses maladies, dont les maladies cardiaques, respiratoires, neurodégénératives et gastro-intestinales, le cancer, le vieillissement et la douleur (**Durand et al., 2013 ; Taha et Blaise., 2012**).

Le fromage est la plus ancienne méthode de maintien de la qualité nutritionnelle du lait. Le fromage fondu est un aliment énergétique riche en protéines et en minéraux. Cet aliment hautement digestible joue un rôle très important dans la nutrition pour tous les âges (**Eck et Gillis, 2006**). Au cours des dernières décennies, il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des effets du fromage sur la santé.

Afin de mieux contextualiser cette étude qui s'intéresse aux bienfaits du fromage artisanal, une synthèse bibliographique a été réalisée sur la composition du fromage, l'intérêt de consommation et la présence d'antioxydants dans le fromage ainsi que des généralités sur les bactéries et les ferments lactiques.

La deuxième partie est consacrée à l'évaluation de l'activité antioxydante de trois qualités de fromages à savoir le Cheddar, fromage rouge et gouda ; ainsi deux tests d'évaluation du pouvoir antioxydant sont réalisés, activité anti radicalaire par piégeage du DPPH et le pouvoir réducteur du fer (méthode de FRAP).

Le présent travail a été effectué au niveau des laboratoires pédagogiques, pole Biochimie de la faculté SNV-STU.

*Synthèse*  
*bibliographique*

*Chapitre I :*  
*généralités sur les*  
*fromages*



## 1 Définition

Selon le décret français du 30 décembre 1988, « la dénomination « fromage » est réservée au produit fermenté, affiné ou non, obtenu à partir des matières suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre, utilisée seule ou en mélange et coagulé en tout ou en partie avant l'égouttage ou après l'élimination partielle de la phase aqueuse ; le fromage est obtenu par coagulation du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulant ».

## 2 Intérêts de la consommation des fromages

Le fromage est un aliment extrêmement digeste, cette propriété le rend indispensable pour les personnes de tous âges. Cet aliment est riche en haute valeur nutritionnelle en protéines, matières grasses, calcium et phosphore pour le maintien des muscles et des os et vitamines nécessaires à un métabolisme équilibré (**Nagaoka et al., 1999**).

Le calcium joue un rôle clé dans la santé des os, en particulier dans le gain de taille pendant l'enfance et l'adolescence s'accompagnant d'une minéralisation accrue de l'os nouvellement formé (**Esterle, 2010**) et prévenant le risque d'ostéoporose ainsi que modulant l'activité plaquettaire et prévenant la carie dentaire (**Eck et Gillis, 2006**).

L'hypercholestérolémie est l'un des facteurs de risque des maladies cardiaques. Il a été démontré que certains peptides dérivés de la protéolyse du lait réduisent les taux de cholestérol sérique, contribuant ainsi à réduire le risque de maladies cardiovasculaires (**Nagaoka et al., 1999**).

L'hydrolysat de protéines de lait (caséine, protéines sériques) affecte le système immunitaire en augmentant l'activité et la prolifération des cellules immunitaires Lymphocytes, synthèse d'anticorps et régulation des cytokines (**Gill et al., 2000**).

## 3 Les types de fromages

On distingue plusieurs types de fromages (**Guiraud, 2003**) :

### 3.1 Fromages frais ou à pâte fraîche

Ce sont des fromages égouttés obtenus par centrifugation ou filtration. Ils vivent essentiellement une fermentation malolactique (mais le plus souvent avec une légère présure) et n'a pas mûri (pas d'affinage). Ils ont une humidité élevée (70 à 75%) ; exemples : petit swiss, fromage demi-sel, etc. (**Guiraud, 2003**)

### 3.2 Fromages à pâte molle

Ce sont des fromages obtenus par l'action de la présure, après affinage fermentation malolactique, mais sa pâte n'est ni cuite ni pressée. L'égouttage est lent, par simple découpage et éventuellement batonnage. Leur humidité est moyenne (50 à 55%). Leur protection est améliorée par le froid. On distingue :

- Les fromages à pâte molle « moussée », généralement à croûte moisie (camembert, brie, carré de l'Est, etc.)
- Les fromages à pâte molle et à croûte lavée (Munster, Livarot, Pont-l'Evêque, etc)
- Les fromages à pâte molle persillées (à moisissures internes) (Roquefort et autres « bleus », etc.). (**Guiraud, 2003**)

### 3.3 Fromages à pâte pressée

Ce sont des fromages obtenus par l'action de la présure. Après, affinage par fermentation malolactique, découpe du caillé et égouttage, brassage et pression. Leur humidité est moyenne (45 à 50% pour les pâtes non cuites) ou faible (35 à 40% pour les pâtes cuites ou très brassées). Leur conservation est améliorée par le froid. On distingue :

- Les fromages à pâte ferme non cuite (pâte pressée et broyée) (cantal, etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte lavée (St Paulin, Reblochon, etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte moisie (St Nectaire, Tomme de Savoie, etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte artificielle (Edam, etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée cuite avec ouverture (Emmenthal, Comté etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée cuite sans ouverture (Beaufort, etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée très dure (très brassés) (Cheddar, etc.). (**Guiraud, 2003**)

### 3.4. Fromages fondus

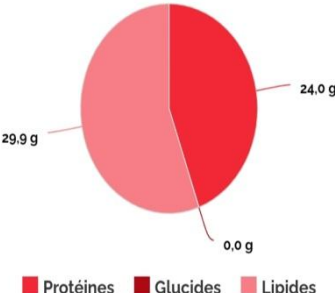
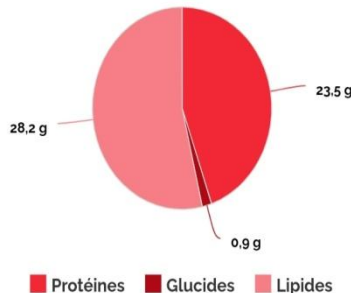
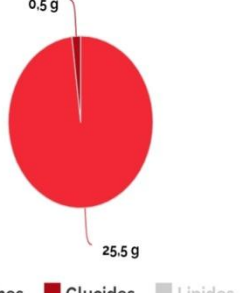
## Chapitre I : Généralités sur les fromages

Il s'agit de préparations issues de la fonte de fromages généralement à pâte pressée. (Guiraud, 2003)

### 4 Les fromages étudiés

Le tableau 1 résume quelques différences entre les trois de fromage, gouda, Edam (fromage rouge) et cheddar.

**Tableau 1:** la différence entre les fromages utilisés ([Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail](#))

	<u>Gouda</u>	<u>Edam</u>	<u>Cheddar</u>
<u>Aperçu</u>	Le gouda se présente sous une forme ronde, pèse environ 15 kg et contient un extrait sec d'au moins 48 % de matières grasses (généralement environ 51 %). Il y a 81% de gouda blanc, les autres types sont jaunes, rouge et orange.	L'edam est un fromage des Pays-Bas traditionnellement vendu sous forme de boules de fromage jaune pâle enveloppées dans une épaisse pellicule de paraffine jaune ou rouge. Le nom vient de la ville d'Edam dans la province de la Hollande du Nord, une très ancienne région agricole.	Le cheddar est un fromage jaune pâle fabriqué à partir de lait de vache avec une saveur distincte. Il est originaire du village anglais de Cheddar dans le Somerset. Il existe différentes variétés dans plusieurs pays : Royaume-Uni, Irlande, Canada, États-Unis, Afrique du Sud, Nouvelle-Zélande, Australie et Suède.
<u>Type</u>	à pâte pressée non cuite	à pâte pressée non cuite et à croûte artificielle	à pâte pressée très dure
<u>composition</u>	 <p>24,0 g 29,9 g 0,0 g</p> <p>■ Protéines ■ Glucides ■ Lipides</p>	 <p>23,5 g 28,2 g 0,9 g</p> <p>■ Protéines ■ Glucides ■ Lipides</p>	 <p>0,5 g 25,5 g</p> <p>■ Protéines ■ Glucides ■ Lipides</p>
<u>Apport nutritionnel</u>	100 grammes représentent 363 calories	100 grammes représente 351 calories	100 grammes représente 403 calories

### 5 Bactéries lactiques

#### 5.1 Définition

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes en forme de coques ou de bâtonnets, Gram-positif, incapables de produire la catalase (certaines souches possèdent une pseudo-catalase) ; généralement immobiles et asporulées (**Dellagioet al., 1994**). En présence d'oxygène elles sont incapables de faire la phosphorylation oxydative. De nombreuses bactéries lactiques ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés, facteurs de croissance, peptides, bases puriques et pyrimidiques, des vitamines B et des acides gras. Elles ont également une activité aromatique très importante d'où leur utilisation en agroalimentaire (**Leveau et al., 1991**).

Sur la base des caractéristiques de fermentation, les bactéries lactiques sont homofermentaires ou hétérofermentaires (**Dortu, 2008**), et tolèrent des pH acides. Cette dernière propriété est utilisée en agroalimentaire pour acidifier le milieu et empêcher le développement des bactéries pathogènes et d'altérations (**Nielsen et al., 2008**).

#### 5.2 Les bactéries lactiques utilisées en fromagerie

Elles appartiennent principalement à trois genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* qui se différencient, entre autre, par leur activité acidifiante. Il existe, cependant, de grandes différences d'activité acidifiante entre espèces d'un même genre et entre souches de la même espèce. Ces différences sont naturellement utilisées par le fromager pour obtenir le degré d'acidification attendu pour chaque type de fromage.

Les lactobacilles utilisés pour leur activité acidifiante sont thermophiles. Généralement, *L. delbrueckii* sub sp. *Bulgaricus* acidifie plus rapidement que les autres lactobacilles. Bien que *Lactococcus raffinolactis* ait été proposé du fait de ses aptitudes technologiques, *Lactococcus lactis* est la seule espèce de lactocoque utilisée industriellement en fromagerie (**Holler et steele, 1995**).

*Streptococcus thermophilus* est le seul streptocoque habituellement utilisé en fromagerie. En règle générale, *S.thermophilus* acidifie rapidement le lait, mais il n'abaisse pas le pH au-dessous de 4,8 (**Accolas et al., 1980 ; Pernoud et al., 2004**).

D'emploi moins fréquent, les *Leuconostoc*s sont essentiellement utilisés pour leur production de composés aromatiques (diacétyl, acétoïne) et de CO<sub>2</sub> utile pour assurer

l'ouverture de certains fromages cela est encore plus vrai pour les entérocoques qui possèdent de multiples propriétés métaboliques d'intérêt et sont capables de se développer dans une large gamme de température (**Giraffaet al., 1997**)

Enfin, les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs, dénommés « *Non starter lactic acid bacteria* » constituent une part importante de la flore lactique secondaire comme ferment de fromagerie (**Broome et al., 1990 ; Peterson et Marshall, 1990**)

### 5.3 Rôles et propriétés des bactéries lactiques

#### 5.3.1 Acidification et égouttage

La croissance des bactéries lactiques dans le lait puis le caillé entraîne la consommation du lactose et l'excrétion de l'acide lactique conduisant à l'abaissement du pH. Cette fonction acidifiante des bactéries est déterminante dans le processus d'élaboration des fromages (**Guittonneau, 1923 ; Alais, 1984**)

#### 5.3.2 Fermentation du citrate

Elle est accompagnée de la production de CO<sub>2</sub>, surtout abondante en présence de lactose et de galactose. Cette propriété est utilisée dans les fromages à pâte persillée pour lesquels il est recherché la formation de cavités dans le fromage qui servent d'habitat à *P. roqueforti*. Il est également possible de sélectionner des souches, voire des mutants de *Lactococcus lactis* produisant de forte quantité de CO<sub>2</sub> (**El Attar et al., 2000**). Inversement cette production de CO<sub>2</sub> est indésirable dans les fromages à pâte pressée dont le cheddar (**Mullan, 2000**).

#### 5.3.3 Production d'expolysaccharides

Cette production est notoirement instable, en particulier dans le cas des bactéries lactiques mésophiles, car ce caractère est généralement porté par un plasmide. Il existe de grandes différences de production de polysaccharide entre souches de la même espèce. Ainsi, pour *S. thermophilus*, il a été montré que seules quelques souches possèdent cette propriété et que la viscosité maximale de la culture sur lait varie de 1 à 8 (**Bouillanne et Desmazeaud, 1980**).

### 5.3.4 Protéolyse

La protéolyse constitue l'un des phénomènes majeurs de l'affinage des fromages. Elle agit aussi bien sur la texture de la pâte que sur sa saveur et son arôme (Fox, 1993). La trame protéique, obtenue après coagulation du lait et égouttage du caillé, surtout si elle est fortement minéralisée, possède un caractère ferme et élastique. Les protéases bactériennes participent à la dégradation partielle de cette trame protéique, ce qui conduit, en fin d'affinage, à une texture moins élastique et plus fondante (Desmazeaud *et al.*, 1976 ; Alais, 1984)

### 5.3.5 Lipolyse

La lipolyse de la matière grasse du lait libère des acides gras qui participent, soit par eux-mêmes, soit parce qu'ils sont à l'origine d'autres composés aromatiques, tels qu'alcools, cétones, esters, lactones, aux caractéristiques sensorielles des fromages (Banks *et al.*, 1989 ; Cristianiet Monnet, 2001 ; Fensteret *et al.*, 2003). D'ailleurs, les fromages maigres sont généralement moins aromatiques que les fromages gras (Dimoset *et al.*, 1996).

## 6 Les ferments lactiques

### 6.1 Définition

Ce sont des cultures pures en proportions définies de différentes bactéries lactiques qui en se multipliant dans le lait et dans les fromages assurent deux fonctions essentielles (Alais, 1975) :

- Abaisser le pH en transformant le lactose en acide lactique. Cette acidification est un facteur de la coagulation du lait ;
- Contribuer aux caractères organoleptiques des fromages en libérant des systèmes enzymatiques qui participent aux principaux phénomènes de l'affinage des caillés (protéolyse en particulier).

### 6.2 Types de ferments lactiques

Les ferments lactiques peuvent être classés en se basant sur leur température de croissance (Carminatiet *et al.*, 2010) en :

### 6.2.1 Ferments mésophiles

Les bactéries lactiques qui constituent ces ferments ont une température optimale de croissance qui varie selon les souches entre 25°C et 30°C et peuvent atteindre une température maximale de fermentation de 38°C à 40°C. Les ferments mésophiles sont habituellement utilisés dans la fabrication de plusieurs variétés de fromages, en particulier les fromages frais, de certains laits fermentés et du beurre (**Chamba, 2008 ; Carminatiet al., 2010**).

### 6.2.2 Ferments thermophiles

La température optimale de croissance se situe entre 40°C et 50°C. Les ferments thermophiles sont souvent utilisés pour la fabrication des yaourts, certains laits fermentés et quelques fromages à pâte cuite (**Mäyrä-Mäkinen et Bigret, 2004 ; Carminatiet al., 2010**).

### 6.2.3 Rôle de la fermentation

La pasteurisation du lait réduit fortement la microflore indigène. Le rôle principal des ferments est par conséquent d'initier et conduire le procédé de fermentation selon les propriétés souhaitées dans le produit fini. Les ferments contribuent également aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et sensorielles des produits et à leur sûreté. L'impact sur la qualité du produit est fortement dépendant de la souche utilisée et varie entre les souches selon leurs activités et voies métaboliques (**Carminatiet al., 2010**).

***Chapitre II : stress  
oxydant et  
antioxydant***



### 1 stress oxydant

Le stress oxydant est un déséquilibre de la balance entre la formation des espèces réactives à l'oxygène (ERO) et les antioxydants en faveur des premières (**Pincemilet *al.*, 2003**). Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale, d'activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine,...). En fin, une alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant.

De nombreux travaux indiquent que le stress oxydant est impliqué dans le développement de plusieurs pathologies (maladies cardiovasculaires, cancer, diabète,...) (**Pincemilet *al.*, 2002**).

### 2 Les radicaux libres

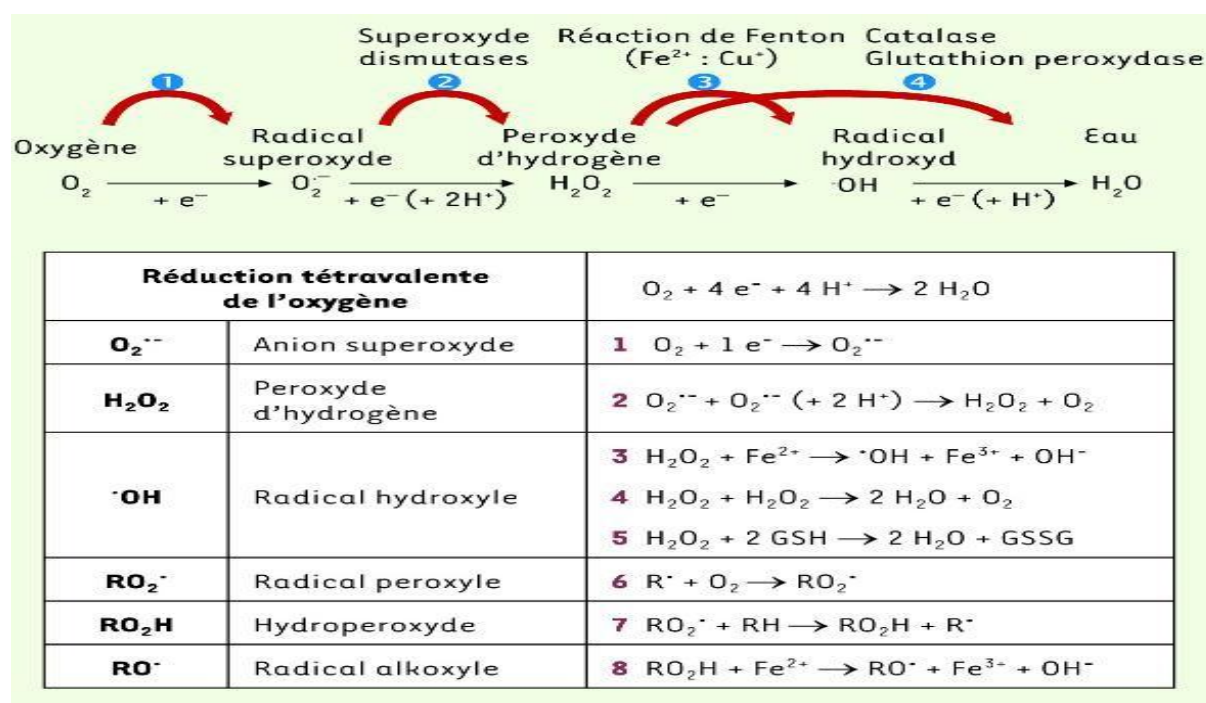
Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié (**Afonso *et al.*, 2007**). La présence d'un électron célibataire confère souvent à ces molécules une grande instabilité ; elles ont la possibilité de réagir avec de nombreux composés (**Amzal, 2010**). Elles peuvent entraîner des lésions tissulaires en captant des électrons d'une molécule stable pour essayer d'apparier leurs propres électrons, laissant ainsi la molécule originale dans un état instable (**Filaire et Tomi,2012**).

**Tableau 2:** principales sources des radicaux libres (endogènes et exogènes) (Delattre *et al.*, 2005).

Sources de radicaux libres	
Endogènes	Exogènes
<ul style="list-style-type: none"> <li>– NADPHoxydase</li> <li>– Chaîne respiratoire mitochondriale</li> <li>– Peroxysomes</li> <li>– Cytochromes P450</li> <li>– Xanthineoxydase</li> <li>– Cyclo-oxygénases</li> <li>– Lipo-oxygénases</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Toxiques environnementaux</li> <li>– Radiations ionisantes</li> <li>– Radiations UV</li> <li>– Champ électrique</li> <li>– Xénobiotiques pro-oxydants</li> <li>– Cytokines pro-inflammatoires</li> </ul>

### 3 Les espèces réactives de l'oxygène

De manière générale, toute réaction biochimique faisant intervenir de l'oxygène moléculaire est susceptible d'être à l'origine d'une production des radicaux libres oxygénés



**Figure 1 :** Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Camille et Mireille, 2011)

### 3.1 Le peroxyde d'hydrogène

Il peut générer des radicaux libres en réagissant avec des métaux de transitions et peut diffuser à travers les membranes (Amzal, 2010).

### 3.2 Le radical hydroxyle HO•

L'espèce la plus réactive dans l'attaque des molécules biologiques produite à partir de peroxyde d'hydrogène dans la réaction de Fenton en présence de  $Fe^{2+}$  ou  $Cu^{2+}$  (Wilson et Salamatian, 2003).

### 3.3 L'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ )

Il est naturellement produit dans toutes les cellules des êtres vivants. C'est la forme réduite de l'oxygène moléculaire; il est le premier radical formé lors du transport des électrons au niveau de la chaîne respiratoire (Gardès-Albert, 2006).



Figure 2 : Anion superoxyde et ses dérivés (Afonso *et al.*, 2007).

### 4 Espèces réactives de l'azote

#### 4.1 Peroxynitrite (OONO<sup>-</sup>)

Un agent oxydant puissant qui n'est pas un radical libre. Il peut générer le radical dioxyde de nitrogène (NO<sub>2</sub>) et capable d'oxyder les protéines et les bases azotiques des brins d'ADN (Massionet *al.*, 2002).

#### 4.2 Monoxyde d'azote (NO.)

C'est une espèce radicalaire produite par les systèmes enzymatiques (NO synthases). Il est responsable d'une grande diversité d'effets sur l'organisme, lorsqu'il est engendré en grandes quantités non régulées, il provoque le stress oxydatif (Massionet *al.*, 2002).

### 5 Les antioxydants

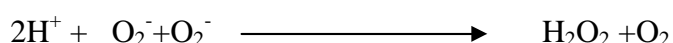
Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente en concentration très faible dans le milieu où elle intervient (Berger, 2006). Ce sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées (Pelli et Lyly, 2003).

Il existe deux grands groupes d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques généralement d'origine alimentaire.

#### 5.1 Antioxydants enzymatiques

##### 5.1.1 La superoxyde dismutase(SOD)

Est l'enzyme antioxydant le plus important dans la défense contre le stress oxydatif. C'est une métalloprotéine capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation (Favier, 2003).



La SOD transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui est éliminé par la glutathion peroxydase ou catalase, empêchant ainsi la formation d'ERO plus agressives comme la peroxynitrite ou le radical hydroxyle (Afonso *et al.*, 2007).

### 5.1.2 La catalase

C'est un enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène, produit par la réaction de dismutation, en eau et en oxygène qui sont des composés stables (**Mandell, 2013**).



### 5.1.3 La glutathionperoxydase

Enzyme à sélénium présent à la fois dans le cytosol et la mitochondrie, transforme le peroxyde d'hydrogène mais aussi les peroxydes lipidiques. Le peroxyde d'hydrogène et les lipoperoxydes sont réduits en présence de glutathion (**Wilson et Salamatian, 2003**).

## 5.2 Antioxydants non enzymatiques

### 5.2.1 Les vitamines

- **La vitamine E( $\alpha$ -tocophérol)**

La vitamine E Constitue le principal antioxydant biologique de sérum lipidique. C'est un important protecteur cellulaire contre des dommages oxydants ; elle serait régénérée par la vitamine C (**Rontaniet al., 2008**).

- **La vitamine A**

La vitamine A dérive du carotène. Cet antioxydant protège les membranes cellulaires, piège directement les radicaux libres. Les lipides favorisent la résorption de la vitamine A (**Sarazin et al., 2000**).

### 5.2.2 Les polyphénols

Ce sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux. Ils sont présents dans tous les organes de la plante. Ils sont considérés comme des substances chimiques à effets antioxydants et anti-inflammatoires. Ce sont des piègeurs potentiels d'espèce radicalaire, qui sont donc capable d'inhiber la peroxydation lipidique, de prévenir l'athérosclérose (**Bonnefont-Rousselot, 2012**). Les fromages ne contiennent que des petites quantités en polyphénols (1,298 $\mu$ g/g) mais possèdent une activité antioxydante importante (**Sharma et al., 2011**).

### **5.2.3 Les oligo-éléments**

- **Sélénium**

Est un élément antioxydant ; il participe à la destruction des radicaux libres. Le sélénium a des propriétés antioxydantes. Une carence modérée en sélénium semble accroître la sensibilité à diverses maladies (cancers, maladies cardiovasculaires) (**Roussel et Favier, 2009**).

- **Zinc**

Le zinc est important pour les mécanismes de défense de l'organisme contre les maladies inflammatoires. Il joue un rôle important dans la prévention des maladies chroniques et dégénératives liées au vieillissement par la limitation des molécules hautement réactives. Les principales sources alimentaires du zinc sont les céréales, les produits laitiers et les produits carnés (**Pelli et Lyly, 2003**).

*Partie*  
*expérimentale*

# *Matériel et méthodes*



### **1 Lieu et objectif du travail**

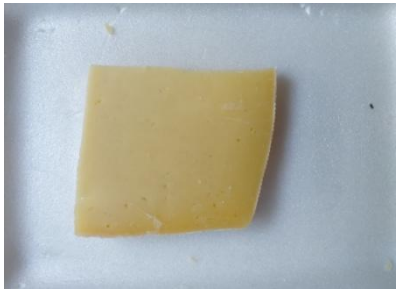

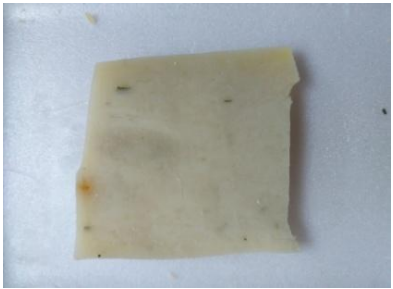
Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de biochimie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou BakrBelkaïd - Tlemcen.

Notre travail réalisé sur trois qualités de fromages, Cheddar, fromage rouge et gouda, a deux objectifs:

- Evaluer le pouvoir antioxydant des trois fromages
- Choisir le meilleur solvant d'extraction des molécules antioxydantes à partir du fromage

### **2 Echantillons**

Trois types des fromages artisanaux ont été utilisés dans la présente étude (Gouda ; cheddar ; fromage rouge) chaque type est représenté par 3 échantillons.

<b><i>Fromage</i></b>	<b>Gouda</b>	<b>Fromage rouge</b>	<b>Cheddar</b>
<b><i>Aperçu</i></b>			

**Figure 3 :** Echantillons des fromages

### **3 Préparation des extraits**

L'extraction a été effectuée par extirpation de 1gramme de chaque fromage. 10 ml des solvants (acétone ; méthanol ; H<sub>2</sub>O) ont été ajoutés séparément aux échantillons. Les mélanges ont subi une incubation dans l'obscurité pendant 24 heures à température ambiante.



Figure 4 :Préparation des neuf extraits

#### 4 Estimation de l'activité antioxydant

##### 4.1. Piégeage du radical DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante et est un radical libre stable qui absorbe la lumière visible à des longueurs d'onde de 515 à 520 nm (Bozinet *al.*, 2008). La méthode DPPH• présente plusieurs avantages car elle est simple et rapide.

Dans ce test, l'antioxydant réduit le DPPH° (diphénylpicrylhydrazyl), qui a une couleur violette, en un composé jaune, le DPPH-H (diphénylpicrylhydrazine) (Figure 3), dont le pouvoir colorant est inversement proportionnel à l'activité de l'antioxydants présents dans le milieu.

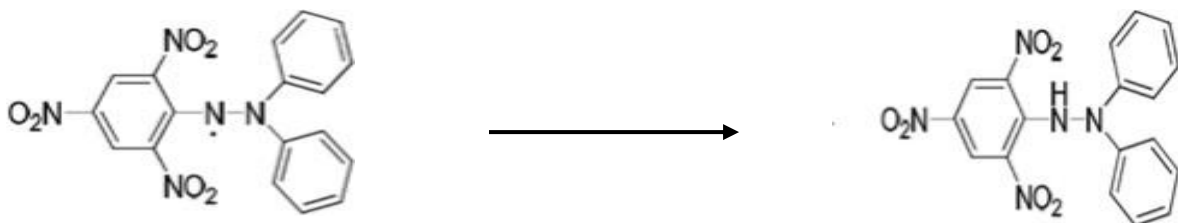


Figure 5 : Forme réduite du radical DPPH•

Le protocole expérimental suivi est rapporté par (**Gülçinet *et al.*, 2010**) :

A 1 mL de chaque extrait est ajouté 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH<sup>•</sup> à  $6.34 \times 10^{-5}$  M (0,006 g dans 50 ml de méthanol) ; le blanc contient le méthanol.

Un contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 1 mL du méthanol avec 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH<sup>•</sup> à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 40 min et à température ambiante, la lecture des absorbances a été effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$\text{PI} = (\text{Acontrôle} - \text{Aextrait} / \text{Acontrôle}) \times 100$$

**PI** : pourcentage d'inhibition, **Acontrôle** : absorbance du contrôle négatif, **Aextrait** : absorbance de l'extrait.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif de ce test.

#### 4.2 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction d'oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer (**Huang *et al.*, 2005**). Le pouvoir réducteur est basé sur la réaction chimique de réduction du Fe<sup>3+</sup> présent dans le ferricyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en Fe<sup>2+</sup>.

Cette méthode rapportée par **Meira *et al.*, (2012)** consiste à mélanger 1ml de l'extrait avec 2,5 ml de tampon phosphate à pH 6,6 et 2,5 ml d'une solution de K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> à 1% (m/v). Le mélange obtenu est incubé pendant 20 mn à 50°C.

Après l'incubation 2,5ml d'acide trichloracétique sont ajoutés et on procède à une centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 minutes (remarque : cette dernière étape peut ne pas être nécessaire).

2,5ml de surnageant sont mélangés avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml de Chlorure ferrique. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS avec un blanc préparé semblablement en remplaçant l'extrait par l'eau distillée.

L'extrait dont l'absorbance est élevée est considéré comme meilleur.

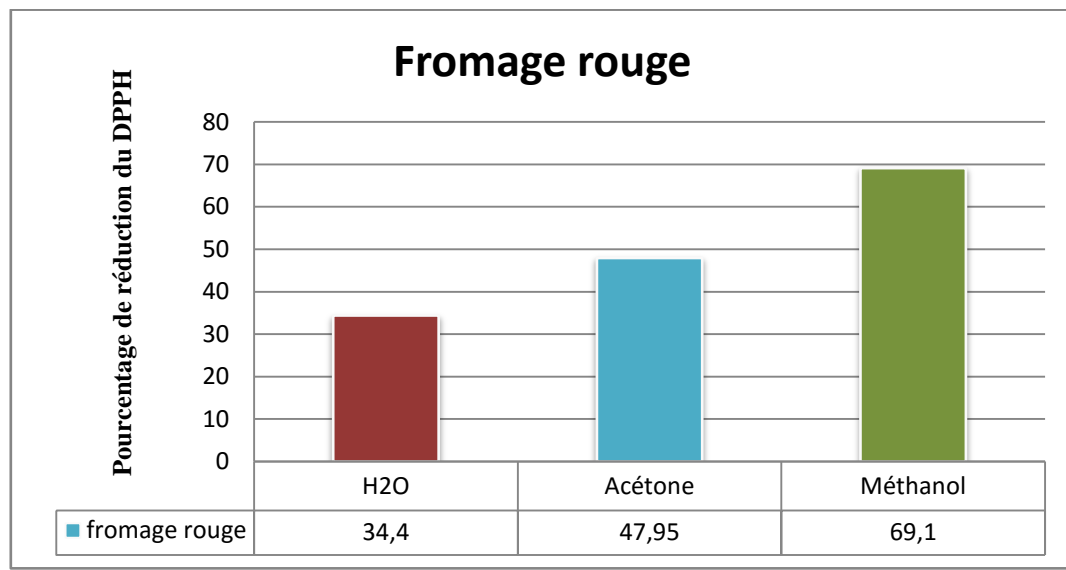
*Résultats et  
interprétation*

### 1 Piégeage du radical DPPH

Les résultats de la réduction de DPPH par les extraits des différents fromages sont illustrés sur les figures ci-dessous.

#### 1.1 Fromage rouge

La figure 6 montre les pourcentages de réduction de DPPH par les extraits de fromage rouge préparés par macération dans trois solvants, l'eau, l'acétone et le méthanol.



**Figure 6 :** Variation des pourcentages de réduction de DPPH par les trois extraits du fromage rouge

† Toutes les valeurs représentent la moyenne de trois essais (n=3).

Les valeurs montrent que l'extrait méthanoïque provoque la réduction la plus importante à la concentration de 10%, suivi par l'extrait acétonique et aqueux. Nous pouvons déduire que le méthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des molécules bioactives à partir du fromage rouge.

#### 1.2 Gouda

La figure 7 montre le pourcentage de réduction du DPPH d'un extrait de gouda préparé dans trois solvants : eau, acétone et méthanol.

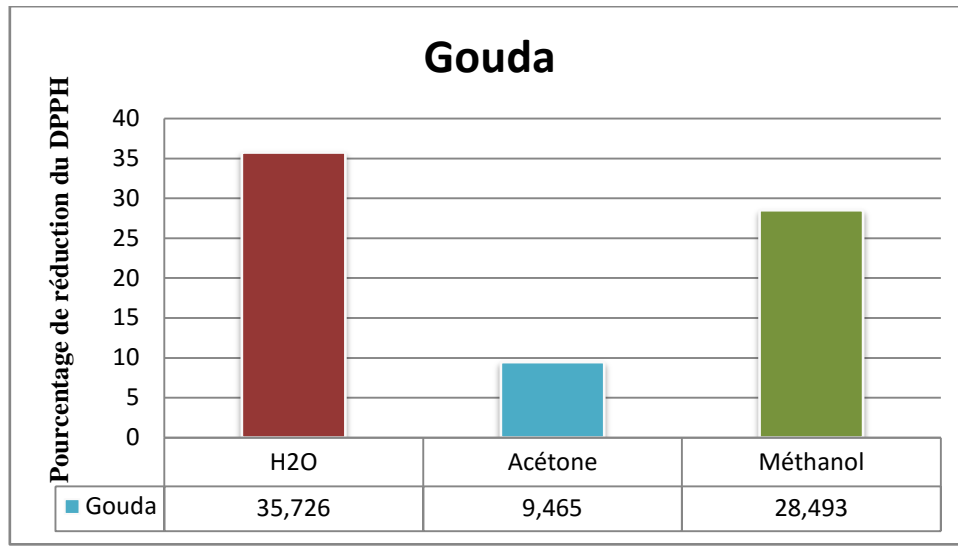


Figure 7 : Variation des pourcentages de réduction de DPPH par les trois extraits du Gouda

Les valeurs montrent que l'extrait à l'eau a provoqué la plus grande réduction à une concentration de 10 %, suivi des extraits au méthanol et à l'acétone. D'après cela nous pouvons dire que l'eau est le meilleur solvant pour extraire les molécules antioxydant du fromage Gouda.

### 1.3 Cheddar

La figure 8 montres le pourcentage de réduction du DPPH pour des extraits de fromage cheddar préparés dans les trois solvants utilisés dans cette étude.

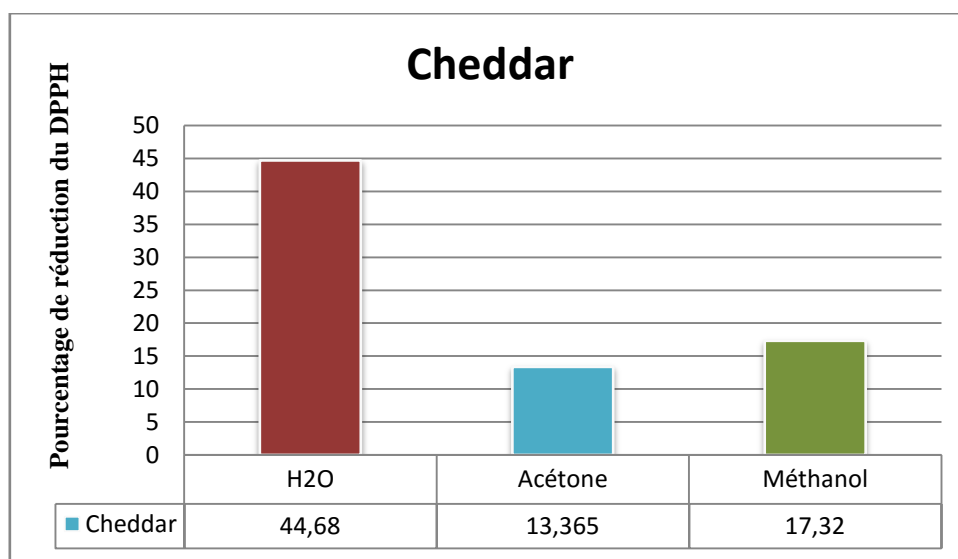
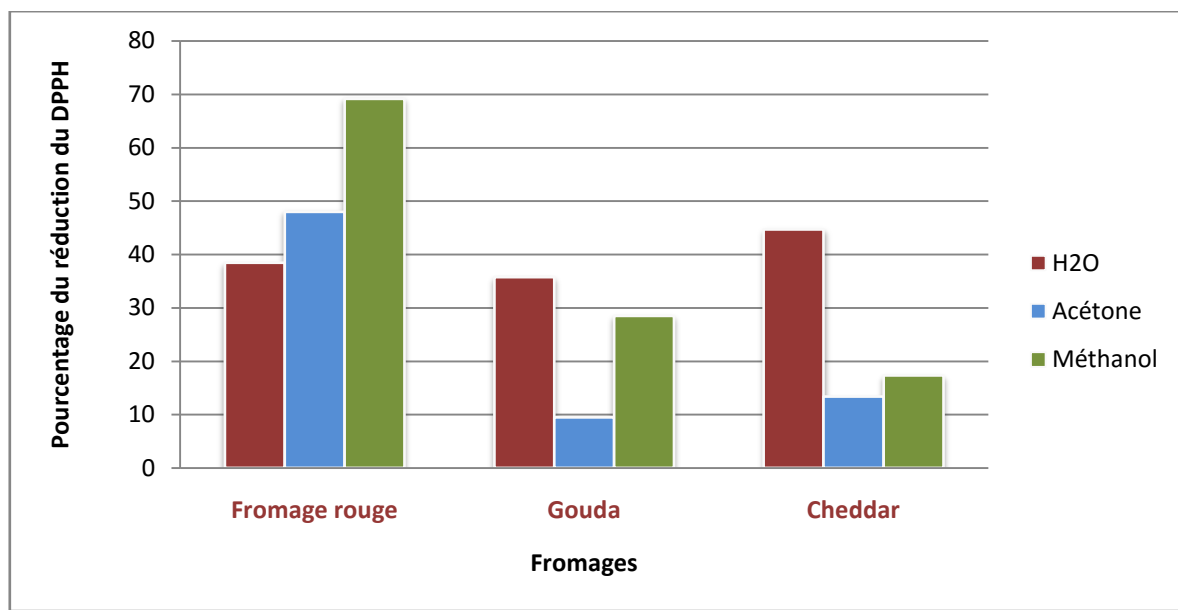


Figure 8 : Variation des pourcentages de réduction de DPPH par les trois extraits du Cheddar

Ces valeurs concernant le gouda montrent qu'à une concentration de 10%, l'extrait aqueux provoquait la plus grande réduction, suivi des extraits de méthanol et d'acétone. De cela, nous pouvons dire que l'eau est le solvant le plus adéquat pour découvrir l'effet antioxydant du cheddar.

### 1.4 Représentation récapitulative

La figure 9 représente un histogramme récapitulatif qui montre les pourcentages des 3 fromages que nous avons utilisés en fonction des solvants.



**Figure 9** : résultats de la réduction du DPPH

Nous avons remarqué à partir de cette présentation que le fromage gouda et le cheddar ont presque les mêmes résultats concernant le pourcentage d'inhibition vis à vis les 3 solvants.

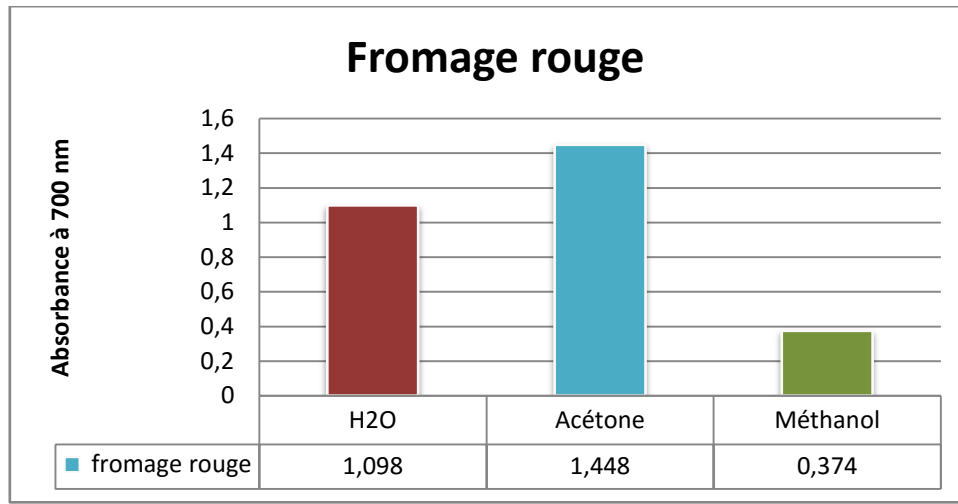
Nous pouvons voir que le meilleur est l'eau contrairement au fromage rouge ou ce qu'on appelle Edam, l'eau a eu le pouvoir le plus faible et le méthanol est le solvant approprié pour ce dernier.

## 2 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Les graphiques ci-dessous montrent les résultats de réduction du fer par la méthode du FRAP pour les extraits des différents fromages.

### 2.1 Fromage rouge

La figure 10 montre l'absorbance à 700 nm de 3 extraits du fromage rouge préparés par macération dans les 3 solvants : l'eau, l'acétone et le méthanol.

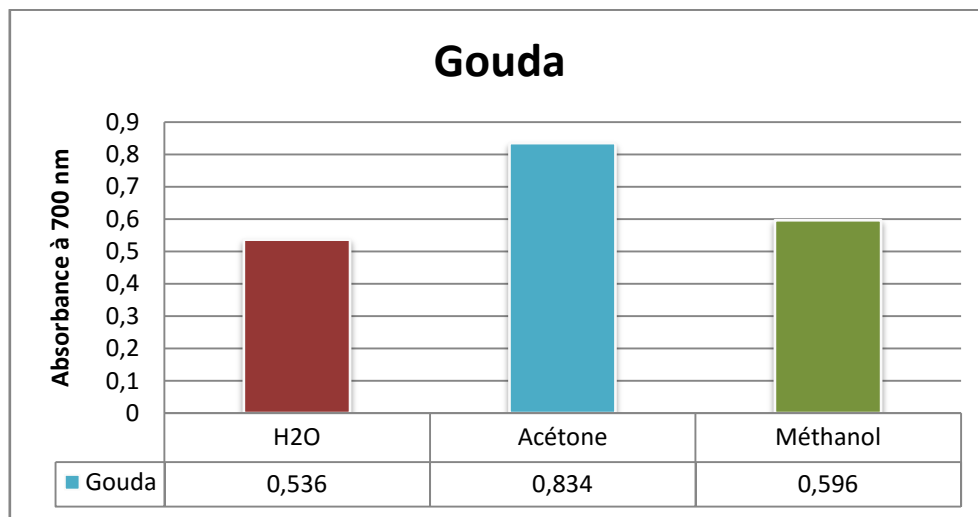


**Figure 10:** Modifications de l'inhibition de la réduction du fer par trois extraits de fromage rouge

Les valeurs montrent que l'extrait acétonique provoque la réduction la plus élevée ce qui nous permet de déduire que l'acétone est le meilleur solvant pour l'extraction des molécules bioactives à partir du fromage rouge.

## 2.2 Gouda

Le graphique 11 montre les résultats de l'absorbance à 700 nm de macération des extraits de gouda dans les 3 solvants utilisés.



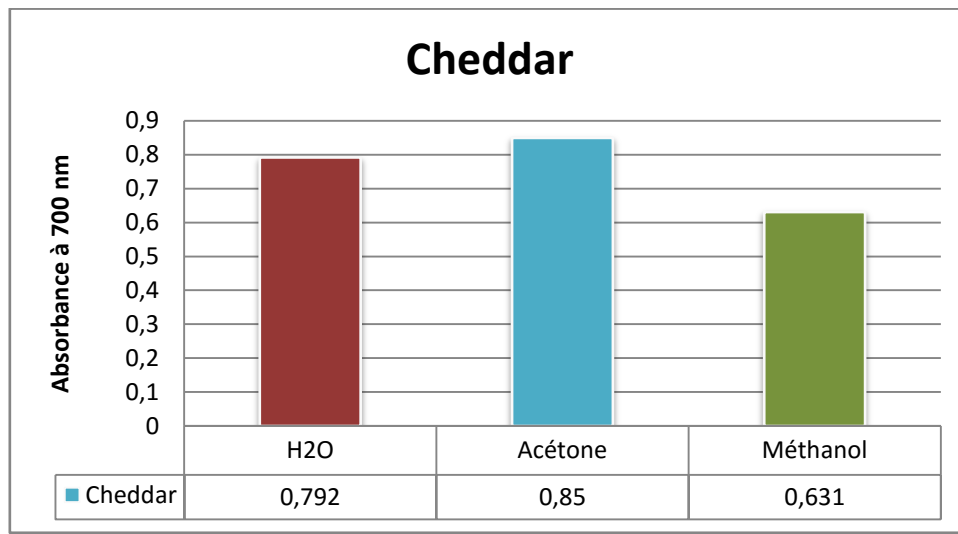
**Figure 11 :** Modifications de l'inhibition de la réduction du fer par trois types d'extraits de gouda

Pareil pour ce fromage, le graphique de l'extrait du gouda montre que l'acétone a un pouvoir réducteur important par rapport à l'eau et le méthanol



### 2.3 Cheddar

La figure 12 montre l'absorbance à 700 nm de 3 extraits du Cheddar préparé par macération dans les 3 solvants : l'eau, l'acétone et le méthanol.

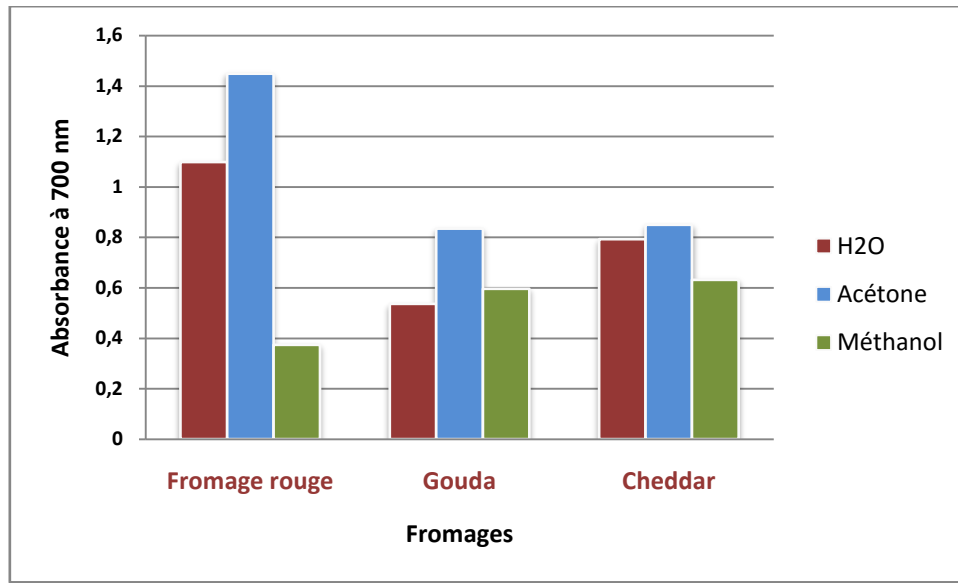


**Figure 12:** Changements dans l'inhibition de la réduction du fer par trois extraits de fromage cheddar

Nous pouvons déduire que pour l'extraction des molécules antioxydants à partir du cheddar l'acétone est le meilleur solvant.

### 2.4 Représentation récapitulatif

La figure 13 représente un histogramme récapitulatif qui montre les résultats de l'absorbance à 700 nm des 3 fromages que nous avons utilisés en fonction des 3 solvants.



**Figure 13:** résultats de réduction du fer "FRAP"

Nous avons déduit que le gouda et le cheddar ont particulièrement le même pouvoir. Ce qui est remarquable que l'extrait méthanolique a un pouvoir beaucoup moins faible dans le fromage rouge par rapport aux autres types.

Nous pouvons retenir à partir de la figure 13 que le meilleur solvant pour les 3 fromages dans la méthode de FRAP est l'acétone suivi par l'H<sub>2</sub>O.

# *Discussion*

### Discussion

Tous les aliments contiennent des nutriments dont chacun joue un rôle précis et qui contribuent à la prévention des pathologies liées au vieillissement parce qu'ils possèdent la propriété d'empêcher les réactions d'oxydation en chaînes provoquées par les ERO ou sont capables de les piéger (**Walther et al., 2008**).

Notre objectif à travers cette étude est d'estimer le pouvoir antioxydant de 3 types de fromages artisanaux (fromage rouge, Gouda et Cheddar) et la meilleure adoption du solvant pour en extraire les molécules bioactives.

Afin d'atteindre notre objectif, deux tests ont été conçus FRAP et DPPH sur 3 échantillons de fromage. Trois extraits sont préparés à partir de chaque fromage en utilisant trois solvants à savoir l'acétone, le méthanol et l'eau.

Pour les neuf extraits préparés, nous avons obtenu les résultats suivants :

Concernant l'edam (fromage rouge), à partir de la méthode du DPPH les valeurs montrent que l'extrait méthanolique provoque la réduction la plus importante bien que pour le résultat du FRAP l'acétone a incité la réduction la plus élevée.

Pour le fromage Gouda les résultats ont dévoilé que l'eau est le meilleur solvant pour l'extraction des molécules bioactives pour la technique de DPPH. Cependant pour le FRAP l'extrait acétonique est celui qui a une réduction importante.

A propos du cheddar, les graphiques ont indiqué que l'extrait aqueux provoque la plus grande réduction du DPPH alors que pour le FRAP l'acétone est le meilleur solvant pour l'extraction des molécules antioxydants.

En effet, les mêmes résultats ont été rapportés par **Apostolidis et al., (2007)** dans une étude effectuée sur trois types de fromages (cheddar, feta et roquefort) pour déterminer l'activité antiradicalaire de ces fromages qui est comprise entre 25 et 90%.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH dans les fromages dépend du degré de protéolyse et du type de culture bactérienne impliquée dans la maturation des fromages utilisés pour la fabrication des fromages (**Meira et al., 2012**).

Selon l'étude réalisée par **Maeira et al., (2012)** sur le pouvoir réducteur du fer par certains types de fromages montre que la réduction varie entre 0,13 et 0,42 unités (absorbance

à 700 nm) selon le fromage (feta, cheddar et roquefort). En comparant ces valeurs avec les nôtres sachant que les deux études sont réalisées dans les mêmes conditions d'extraction, nous pouvons constater que nos échantillons de fromages ont une réduction plus importante pour la méthode de FRAP et qui varie entre 0,4 et 1,4 unités (absorbance à 700 nm).

Donc cette étude montre que le fromage rouge a le meilleur potentiel antioxydant qui peut être liées à la présence des herbes de Provence.

# *Conclusion*

### Conclusion

Cette étude vise à déterminer la capacité antioxydante de trois qualités de fromage artisanal.

Les différentes méthodes utilisées ont permis de déterminer que les molécules bioactives de ces fromages peuvent protéger l'organisme et lutter contre le stress oxydatif de plusieurs manières : par piégeage des radicaux libres ou par réduction. Tous les extraits de fromage analysés semblent capables d'inhiber ou de retarder le phénomène d'oxydation. Le fromage rouge a donné les meilleurs pouvoirs, piégeage du DPPH et réduction du fer.

Les fromages étudiés constituent donc une source potentielle d'antioxydants. Par conséquent, leur consommation régulière est bénéfique pour l'organisme en raison de leurs effets protecteurs contre les maladies dégénératives, métaboliques ou cardiovasculaires.

Cette étude n'a pas exploré toutes les propriétés de ces fromages. Il serait intéressant de compléter notre analyse par :

- Un contrôle qualitatif et quantitatif des extraits afin d'identifier les molécules bioactives de ces fromages;
- Une mesure de la biodisponibilité des molécules responsables de l'activité antioxydante.

*Références*  
*bibliographiques*



**Accolas JP, Hemme D, Desmazeaud M, Vassal L, Bouillane C, Veaux M** (1980). Les levains lactiques thermophiles : propriétés et comportement en technologie laitière. *Lait*, 58 : 118-132.

**Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A.** (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydedismutase : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme* 74:636-643.

**Alais C** (1984). Science du lait. Principe des techniques laitières, Sepaic, Paris, France.

**Alais,** (1975) Science du lait principal des techniques laitières

**Amzal H.** (2010). Etude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Thèse de doctorat. Université Mohammed V agdal. Rabat.

**Apostolidis E., Kwon Y-I., Shetty K.** (2007). Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8:46–54.

**Banks JM, Brechany EY, Cristie WW,** 1989. The production of low fat cheddar-type cheese, *J soc dairy technol*, 42 : 6-9.

**Berger M-M.** (2006). Nutritional manipulation of oxidative stress. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 20 :48-53.

**Bonnefont-Rousselot D.** (2012). Micronutriments et risque cardiovasculaire. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 26 :14-21.

**Bouillanne C et Desmazeaud MJ** (1980) étude de quelques caractères de souches de *Streptococcus thermophilus* utilisées en fabrication de yoghurt et proposition d'une méthode de classement 60 : 458-473.

**Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Ijic, R.** (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food chemistry*, 111(4),925-929.

**Broome MC, Krause DA, Hickey MW** (1990). The use of non-starter lactobacilli. *Aust J dairytechnol*, 5 : 67-73.

**Camille Migdal, Mireille Serres** (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant Reactiveoxygenspecies and oxidativestress, Université Lyon 1, EA 41-69, Laboratoire de

recherche dermatologique, pavillon R, Hôpital Édouard Herriot, 69437 Lyon Cedex 03, France  
,27: 405-412.

**Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. et Reinheimer J., (2010).** Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. In: Biotechnology of lactic acid bacteria : Novel Applications (Mozzi F., Raya R.R. et Vignolo G.M.); Pp 177.

**Chamba F.J., (2008).** Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 787-813.

**Cristiani G, Monnet V (2001).** Food micro-organisme and aromatic ester synthesis *Sci aliments*, 21 : 211-230.

**Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques). *Tac & doc*.

**Dellagio F., de Roissard H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D., (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques (De Roissard H. et Luquet F.M.). Loriga, Uriage. 1 : 25-116.

**Desmazeaud MJ, Gripon JC, Le bars, bergère JL (1976).** Etude du role des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages, 56 : 379.

**Dimos A, Urbach GE, Miller AJ (1996).** Changes in flavour and volatiles of full-fat and reduced-fat cheddar cheeses during maturaton. *Int dairy J*, 6 : 981-995.H

**Dortu, C. (2008).** Isolement d'une bactérie lactique produisant de la sakacin G et utilisation sur des matrices alimentaires. Thèse de doctorat en sciences agronomiques et ingénierie biologique Faculté des sciences universitaire agronomiques de Gembloux.

**Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013).** Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5),218-224.

**Eck A., Gillis J-C.(2006).** Fromage. Lavoisier, Tec& Doc. Paris. 3eme Edition. p 696-767.

**El attar A, Monnet C, Corrieu G (2000).** Method for the selection of *lactococcus lactis* mutants producing excess carbon dioxide. *J dairyres*, 67 : 641-646.

- Esterle L. (2010).** Calcium et santé osseuse chez l'enfant et l'adolescent. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture* 23 :65-69.
- Favier A. (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Le stress oxydant. *Mécanismes biochimiques* : 108- 116.
- Fenster KM, Parkin KL, Steele JL (2003)** intracellular esterase from *lactobacillus casei* LILA : nucleotide sequencing, purification and characterization .*J dairy Sci*, 86 : 2818-2825.
- Filaire E., Toumi H. (2012).** Rôle de dérivés réactives de l'oxygène et de l'exercice physique sur le métabolisme osseux :amis ou ennemis. *Revue du Rhumatisme* 79 :341-346.
- Fox PF, Law J (1991).** Enzymologie of cheese ripending. *Food biotechnol*, 5 :239-262.
- Gardès-Albert M. (2006).** Aspects physico-chimiques des espèces réactives de l'oxygène  
Physico-chemical aspects of reactiveoxygenspecies. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 64:365–372.
- Gill H, Chen X, Sun C, Zhang Y, Gross M-L. (2000).** Imminoregulatory peptides in bovine milk. *British Journal of Nutrition.*; 84 : 111-117.
- Giraffa G, Carminati D, Neviani E (1997).** Entrococci isolated from diary products : a review of risks and potential technological use.*J food Sci*, 2 : 127-135.
- Guiraud J.P. (2003).** *Microbiologie alimentaire*, édition DUNOD, Tec et Doc Lavoisier, Paris, 652 p
- Guittonneau G (1923).** Les principes d'une technique rationnelle en industrie laitière. Le role des micro-organismes en laiterie. Ed le lait, lyon.
- Gulçin I., Bursal E., Sehitoglu M-H., Bilsel M., Goren A-C. (2010).** Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 48 :2227–2238.
- Holler BJ, Steele JL (1995).** Characterization of lactococci other than *lactococcus lactis* for possible use as starter cultures. *Int dairy J*, 5 : 275-289.
- Huang, D.J., Ou, B.X., & Prior, R.L. (2005).** The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6),1841-1856.

**Leveau J.Y., Boiux M. et De Roissart H.B.** (1991). La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 2e Ed., Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 3: 240P.

**Mandell G-L.** (2013). Catalase, Superoxydedismutase, and Virulence of *Staphylococcus Aureus*. Journal of Clinical Investigation **55**:561-566.

**Massion P., Jean-Charles Preiser J-C., Balligand J-L.**(2002). Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères ? Nutrition Clinique et Métabolisme **16** :248–252.

**mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M.**, (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 73, 102

**Meira S-M-M., Daroit D-J., Helfer V-E., Corrêa A-P-F., Segalin J., Carro S., Brandelli**

**Meira S-M-M., Daroit D-J., Helfer V-E., Corrêa A-P-F., Segalin J., Carro S., Brandelli A.** (2012). Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. Food Research International **48**: 322–329.

**Mullan WMA** (2000). Causes and control of early gas production in cheddar cheese. Int j dairy technol,33 :63-68.

**Nagoaka S-K., Miwa M-E., Kuzuya Y., Hori G., Yamamoto K.**(1999). Soy protein peptic hydrolysate with bound phospholipids decreases micellar solubility and cholesterol absorption in rats and caco 2 cells. Journal of Nutrition **129** :1725-1730. urnal of Nutrition.; **84** : 111-117.

**Nielsen D.S., Jacobsen T., Jespersen L., Koch A.G., Arneborg N.**( 2008). Occurrence and growth of yeasts in processed meat products -Implications for potential spoilage. Meat Science, vol. 80, p. 919.

**Pasma M.-N.** (2010). Evaluation des activités antioxydantes des extraits aqueux de quelques épices et légumes de l'ouest-Cameroun. Mémoire du diplôme de professeurs de l'enseignement secondaire deuxième grade. Université de Yaoundé I.

**Pelli K., Lyly M.** (2003). Les antioxydants dans l'alimentation. Flair & Flow. Paris. 3<sup>ème</sup> Edition. p 6-28.

**Pernoud S, Fremaux C, sepulcre A, corrieu G, Monnet C** (2004). Effect of the metabolism of urea on the acidifying activity of *sterptococcus thermophilus*. J dairy Sci, **80** :799-805.

**Peterson SD, Marshall RT** (1990). Nonstarter lactobacilli in cheddar cheese : a review j dairy sci, 73 : 1395-1410.

**Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., De fraigne J-O NN.** (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydantePhysiological action of antioxidantdefences. Nutrition Clinique et Métabolisme **16** :233-239.

**Pincemail J., Lecomte J, Collart E, Castiaux J-P, Defraigne J-O.** (2003). Stress oxydant, antioxydants et exercice physique. Médecine Interne.**6** :1-3.

**Roussel A-M., Hininger-Favier I.** (2009). Eléments-trace essentiels en nutrition humaine : chrome, sélénium, zinc et fer. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). Endocrinologie-Nutrition **10** : 10-359.

**Sarazin M., Alexandre Ch., Thomas T.** (2000). Influence des apports en oligoéléments, protéines, lipides, glucides et vitamines sur le métabolisme osseux. Revue Rhumatisme **67** : 486-97.

**Sharma K D., Stähler K., Smith B., Melton L.** (2011). Antioxidant capacity, polyphenolics and pigments of broccoli-cheese powder blends. Journal Food Science Technology**48**:510–514.

**St-Gelais D., Collet T.** (2002). Fromages. In «Science et technologie du lait ». Presses Internationales Polytechnique. p 349- 415.

**Taha, R., & Blaise, G. A. (2012).**Update on the pathogenesis of complex regional pain syndrome: role of oxidative stress. Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie, 59(9),875-881.

**Wal J-M.** (2011). Allergénicité des protéines laitières. Innovations Agronomiques **13** :25-43.

**Walther B., Schmid A., Sieber R., Wehrmüller K.,** (2008). Cheese in nutrition and health. Dairy Science Technology**88** :389–405.

**Wilson A., Salamatian L.** (2003). Les Radicaux Libres : Une question d'équilibre. Université de Versailles Saint-Quentin-enYvelines.

(1) [Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail](#)

## ملخص

كجزء من مكافحة الأمراض، يتم إجراء الدراسات على البحث عن مصادر جديدة لمضادات الأكسدة الطبيعية. في دراستنا الحالية، تم فحص 3 أنواع من الجبن (الجبن الأحمر ، Gouda و Cheddar) لتحديد نشاطهم المضاد للأكسدة مقابل 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl - و إرجاع الحديد.

لتحقيق هذا الهدف، يتم تحضير ثلاثة مستخلصات من كل جبن باستخدام ثلاثة مذيبات: الأسيتون والميثانول والماء.

كشفت نتائج التحليلات أن الجبن الأحمر ( edam ) كان له أعلى انخفاض في كلا الاختبارين، لكن النوعين الآخرين من الجبن أعطوا نفس نتائج التخليص تقريبًا (FRAP ، DPPH) وظلوا أقل أهمية من edam.

يمكننا أيضًا أن نستنتج من خلال دراستنا أن الميثانول هو المذيب المناسب للجبن الأحمر وأن الماء أكثر ملاءمة للجبن لطريقة DPPH. فيما يتعلق بأسيتون FRAP هو أفضل مخفف للجبن 3.

لذلك تظهر هذه الدراسة أن الجبن 3 له قوة مهمة مضادة للأكسدة ولكن الجبن الأحمر هو الأفضل.

**كلمات مفتاحية:** DPPH ,FRAP ,جبن احمر,شدار ، غودا،

## Résumé :

Dans le cadre de la lutte contre les maladies dégénératives, des études sont menées sur la recherche de nouvelles sources d'antioxydants naturels. Dans notre présente étude 3types de fromages (fromage rouge, gouda et cheddar) ont été examinés pour déterminer leur activitéanti radicalaire vis-à-vis le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyleet leur pouvoir réducteur du fer.

Afin d'atteindre cet objectif, trois extraits sont préparés à partir de chaque fromage en utilisant trois solvants à savoir l'acétone, le méthanol et l'eau.

Les résultats des analyses ont révélé que le fromage rouge (edam) a la réduction la plus élevée dans les deux tests cependant les deux autres types de fromage ont donné approximativement les mêmes résultats de réduction (DPPH, FRAP) et qui restent moins importants que l'edam.

Nous pouvons déduire également à travers notre étude que le méthanol est le solvant approprié pour le fromage rouge et l'eau est plus adéquate pour le gouda et le cheddar pour la méthode du DPPH. Concernant le FRAP l'acétone est le meilleur diluant pour les 3 fromages.

Donc cette étude montre que les 3 fromages ont un pouvoir antioxydant important mais le fromage rouge est le meilleur.

**Mots clés :** Fromage rouge, Cheddar, Gouda, Activité antioxydante, DPPH, FRAP

## Abstract

As part of the fight against degenerative diseases, studies are carried out on the search for new sources of natural antioxidants. In our present study 3 types of cheeses (red cheese, gouda and cheddar) were examined to determine their antiradical activity vis-à-vis the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and their fer reducing power.

In order to achieve this goal, three extracts are prepared from each cheese using three solvents, namely acetone, methanol and water.

The results of the analyzes revealed that red cheese (Edam) has the highest reduction in the two tests, however the other two types of cheese have approximately gave the same reduction results (DPPH, FRAP) and which remain less important than the 'Edam.

We can also deduce through our study that methanol is the appropriate solvent for red cheese and water is more adequate for Gouda and cheddar for the DPPH method. Regarding the FRAP Acetone is the best diluent for the 3 cheeses.

So this study shows that the 3 cheeses have good antioxidant power but red cheese is the best.

**Key words :** Red cheese, Gouda, Cheddar, activity antioxidant, DPPH, FRAP