



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique



جامعة محمد البشير الإبراهيمي
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

Intitulé

**Etude physico-chimique et évaluation des propriétés
antioxydantes des extraits d'*Urtica dioica*. L, et leur application
sur du lait commercial stérilisé**

Présenté par :

- OUNOUGH Anfel
- YALAOUI Rania

Devant le jury :

Président : M . MESSAI Chafik	MCA	(Univ.Bordj Bou Arreridj)
Encadrant : M . BELLIK Yuva	MCA	(Univ.Bordj Bou Arreridj)
Examineur : M. TOUATI Nouredine	MCA	(Univ.Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nos remerciements, d'abord à Dieu le tout puissant, pour la volonté, la santé, et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces années.

*Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus respectueux, et notre profonde reconnaissance à notre encadrant Monsieur **Bellik Yuva** pour son soutien et sa compréhension pertinente pour la réalisation de ce travail, merci Monsieur de nous avoir guidé et orienté pour l'accomplissement de ce travail avec beaucoup de patience et de savoir-faire.*

*Nous remercierons également **M. MESSAI Chafik** pour nous avoir fait le grand honneur d'accepter de présider le jury de soutenance.*

*Nous tenons aussi à remercier **M. TOUATI Noureddine** de nous avoir fait l'honneur de juger et évaluer ce travail en qualité d'examineur.*

*On tient à remercier très respectueusement Monsieur **Mekhoukh Nasredine**, le responsable des laboratoires de Biologie, Université de Bordj Bou Arreridj pour nous avoir soutenus durant notre période de travail au laboratoire.*

Nous sommes redevables à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre Formation durant les 5 derniers années.

Merci

À ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de Loin pour l'accomplissement de ce travail

Dédicaces

A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie **ma mère** qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité...*

A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice, ses conseils et ses encouragements, que Dieu les garde, en témoignage de ma profonde affection.

*A mon fiancé **Abdou**, mes frères, ma sœur et ma tante : **Imed**, **Housseme**, **Anis**, **Souhila** ; qu'ils trouvent ici l'expression de mes sentiments les plus dévoués et mes vœux les plus sincères*

*A mon binôme **Anfel***

A tous mes amis pour leurs patiences et fidélité, leurs conseils et leurs soutiens...

Rania

Dédicaces

A l'aide d'ALLAH tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A Ma Très Chère Mère :

Je te remercie pour toutes les nuits dans lesquelles tu restais réveillée pour prendre

Soin de moi

Tu es mon soutien dans les moments difficiles, et la source intarissable de mon inspiration ...

Merci pour ton sourire qui est la lanterne qui éclaire mon chemin, pour tous les moments de bonheur que tu m'apportes quel que soit le terme et quel que soit L'expression, rien ne pourra exprimer mon amour telle que mon cœur le ressent, que dieu te garde et te protège.

A ma chère sœur« ikram »

A mon frère« Redha »

Vers un endroit formidable avec une biographie parfumée Ma chère grand-mère

A mon binôme «Rania»

À mes chères amies, Amel ,Ibtissem, Lamia .

A tous ceux qui m'aiment sincèrement et à toute la promotion biochimie pour les bons moments qu'on a passé ensemble. A tous ceux que j'aime

Anfel

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

I. Introduction

II. Matériels et méthodes

II.1. Partie plante	4
II.1.1. Matériel végétale	4
II.1.1.1. Répartition géographique	4
II.1.1.2. Description botanique	5
II.1.1.3. Classification botanique	7
II.1.2. Préparation de la poudre d'<i>Urtica dioica</i>	7
II.1.2.1. Séchage.....	7
II.1.2.2. Broyage	7
II.1.2.3. Tamisage	7
II.1.3. Analyse physicochimique	8
II.1.3.1. Teneur en eau	8
II.1.3.2. Humidité de la poudre.....	8
II.1.3.3. Taux de cendre	9
II.1.3.4. Teneur en matière grasse	9
II.1.3.5. Dosage des protéines.....	10
II.1.3.6. Dosage des glucides	11
II.1.4. Etude phytochimique	12
II.1.4.1. Extraction.....	12
II.1.4.2. Calcul du rendement	13
II.1.4.3. Teneur en polyphénols totaux	13

II.1.4.4. Teneur en flavonoïdes	13
II.1.4.5. Teneur en tanins condensés	14
II.1.4.6. Extraction et dosage des caroténoïdes	14
II.1.5. Évaluation de l'activité antioxydante	14
II.1.5.1. Activité antiradicalaire	14
II.1.5.2. Pouvoir réducteur	15
II.2. Partie lait	15
II.2.1. Analyses physicochimiques	15
II.2.1.1. Mesure du pH.....	15
II.2.1.2. Mesure de l'acidité titrable	16
II.2.1.3. Détermination de la densité et de la température.....	16
II.2.1.4. Détermination de la viscosité.....	17
II.2.1.5. Détermination du taux de matières grasses.....	17
II.2.1.6. Mesure de la teneur en azote protéique.....	18
II.2.2. Analyse microbiologique	20
II.2.2.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale	20
II.3. Analyse statistique	20
III. Résultats	
III.1. Partie plante	21
III.1.1. Résultats de l'analyse physicochimique	21
III.1.1.1. Teneur en eau.....	21
III.1.1.2. Taux d'humidité	21
III.1.1.3. Taux de cendre.....	22
III.1.1.4. Teneur en matière grasse	22
III.1.1.5. Teneur en protéines	23
III.1.1.6. Teneur en glucides	23
III.1.2. Résultats de l'étude phytochimique	23
III.1.2.1. Rendement d'extraction	23
III.1.2.2. Teneur en polyphénols totaux	24
III.1.2.3. Teneur en flavonoïdes	24
III.1.2.4. Teneur en tanins condensés.....	25

III.1.2.5. Teneur en caroténoïdes	25
III.1.3. Résultats de l'activité antioxydante.....	25
III.1.3.1. Activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH	25
III.1.3.2. Résultats du test du pouvoir réducteur	26
III.2. Partie lait.....	26
III.2.1. Résultats de l'analyse physicochimique.....	27
III.2.1.1. pH	27
III.2.1.2. Acidité titrable	27
III.2.1.3. Densité et température	27
III.2.1.4. Viscosité	27
III.2.1.5. Taux de matières grasses	27
III.2.1.6. Teneur en azote protéique.....	27
III.2.2. Résultats de l'analyse microbiologique.....	28
III.2.2.1. Résultats de dénombrement de la flore aérobie mésophile totale	28
IV. Discussion	28
V. Conclusion	32

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Liste des figures

Figure 1 : Photographies de la plante <i>Urtica dioica</i> L.....	4
Figure 2 : Teneur en eau de la plante d' <i>Urtica dioica</i> L.....	21
Figure 3 : Taux d'humidité de la poudre d' <i>Urtica dioica</i> L.....	21
Figure 4 : Taux de cendre de la poudre d' <i>Urtica dioica</i> L.....	22
Figure 5 : Taux de matière grasse d' <i>Urtica dioica</i> L.....	22
Figure 6 : Rendement d'extraction d' <i>Urtica dioica</i> L.....	23
Figure 7 : Teneur en polyphénols totaux des extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.....	24
Figure 8 : Teneur en flavonoides des extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.....	24
Figure 9 : Teneur en tanins condensées des extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.....	25
Figure 10 : Piégeage du radical libre DPPH par les extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.....	26
Figure 11 : Pouvoir réducteur des extraits d' <i>Urtica dioica</i>	26

Liste des tableaux

Tableau I : Description botanique de l'appareil végétatif d' <i>Urtica dioica</i> L.....	5
Tableau II : Description botanique de l'appareil reproductif d' <i>Urtica dioica</i> L.....	6
Tableau III : Classification botanique d' <i>Urtica dioica</i> L.....	7
Tableau IV: Taux de matière grasse et de protéines totaux du lait.....	27
Tableau V: Résultats de l'analyse physicochimique du lait.....	27
Tableau VI : Résultats des FTAM pour le lait en présence et en absence de l'extrait.....	28

Liste des abréviations

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EAG : Equivalant acide gallique.

EC : Equivalant catéchine.

EQ : Equivalant quercétine .

ES : Extrait sec.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

Fe³⁺ : Fer ferrique.

g :gramme.

H₂SO₄ :Acidesulfurique.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de potassium.

M : Molarité (1mol/l).

MG :Matière grasse.

mg : Milligramme.

min : Minute.

ml : Millilitre.

mm : millimètre.

N : Normalité.

Na₂CO₃ : Bicarbonate de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NaCl : Chlorure de sodium.

FeCl₂ : Chlorure de fer.

pH : Potentiel d'hydrogène.

v/v : volume/volume.

Introduction

I. Introduction

En ce vingt et unième siècle, la tendance au recours aux produits naturels plutôt qu'aux substances de synthèse devient de plus en plus fréquente chez les populations du globe qui s'intéressent de nouveau aux éléments issus directement de notre environnement et notamment des plantes pour résoudre de nombreux soucis de santé. Selon l'OMS, plus de 80% de la population mondiale dépend de la médecine traditionnelle pour ses besoins de soins de santé primaires **(Lhuillier, 2007)**.

On estime que de nombreuses matières végétales servent de modèles pour 50% des médicaments fabriqués en Occident **(Baker et al., 1995)**. En raison de leur efficacité et de leur effets secondaires minimes, des médicaments à base de plantes, relativement peu coûteux, sont largement prescrits, même lorsque leurs composés biologiquement actifs sont inconnus **(Valiathan, 1998)**.

Les plantes ont été et sont toujours la source généreuse qui assure à l'homme des substances bioactives précieuses dont les composés phénoliques qui sont les métabolites secondaires les plus abondants des plantes **(Manach et al., 2004)**.

Au cours de ces dernières années, les polyphénols ont été étudiés pour leur implication potentielle dans la prévention de maladies chroniques telles que les maladies inflammatoires, infectieuses, cardiovasculaires, le cancer, l'ostéoporose, le diabète et les maladies neurodégénératives. Leur activité protectrice a été attribuée principalement à leurs propriétés antioxydantes **(Tayel et El-Tras, 2012)**.

Le rythme des découvertes de nouvelles molécules pour faire face à l'antibiorésistance qui est un défi majeur pour l'humanité demeure très insuffisant. Il n'existe pas encore de solution durable à ce défi posé par les microorganismes. Il n'y a pas de doute qu'aujourd'hui, l'industrie pharmaceutique met à disposition un nombre incalculable de médicaments pour faire face à la plupart de ces maladies ; néanmoins le problème de leurs effets indésirables plus ou moins importants demeure bien présent dans l'esprit de certains segments de la population qui y sont réfractaires **(Pathaket et al., 2005)**. A titre d'exemple, le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation sur le long

terme tels que les maladies gastro-intestinales, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire et la toxicité hépatique et urinaire (**Gaziano et Gibson, 2006 ; Batlouni, 2010**).

Parmi les plantes réputées mondialement pour leurs bienfaits : *Urtica dioica* L. communément appelée l'ortie dioïque. C'est une plante à fleurs de la famille des Urticacées, elle est vivace, herbacée et ubiquiste (**Zhang et al., 2014**). L'ortie est peu exigeante pour se développer et elle fait l'objet d'un regain d'intérêt sur le plan de la recherche en raison de son contenu riche en substances bioactives (**Divirgilio et al., 2015 ; Vajić et al., 2018**) ; c'est ce qui fait qu'elle est pratiquement la seule espèce du genre *Urtica* à être cultivée et commercialisée à des fins pharmaceutiques (**Nahata et Dixit, 2012**).

Toutes les parties de cette plante ont une longue histoire d'utilisation en médecine traditionnelle et moderne; comme purificateur de sang, hypotensive, diurétique, anti diarrhéique, antihémorragique, antidiabétique, antirhumatismal, ainsi que dans le traitement de l'eczéma, de l'arthrite et des infections urinaires (**Upton, 2013; Tahriet et al., 2000 ; Vajić et al., 2018 ; Chrubasik et Eisenberg, 1999**).

L'ortie, comme d'autres fruits et légumes, est une source d'antioxydants permettant de lutter contre l'action des radicaux libres, responsables du vieillissement cellulaire (**Delville 2013**). C'est la présence des vitamines A, C et E, du fer, du zinc, du manganèse, du sélénium et du cuivre qui contribue à l'activité antioxydante de l'ortie (**Langlade, 2010**).

Bien avant l'apparition des réfrigérateurs, les propriétés conservatrices des feuilles d'orties étaient mises à profit pour envelopper le gibier et le poisson et ainsi garder leur fraîcheur. Il en est de même pour les poires et les pommes, qui déposées sur un lit de feuilles d'orties, se conservent plus longtemps (**Tissier, 2011**). Le médecin Pierre-Joseph Buc'hoz avait observé en 1798 que la viande dure bouillie avec des orties devenait plus tendre (**Bertrand 2010**). C'est dans cette optique que s'inscrit l'objectif de notre travail à savoir l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits de l'espèce *Urtica dioica* L. et leur utilisation potentielle comme conservateur naturel.

Les objectifs de la présente étude sont :

- Etude physicochimique des extraits d'*Urtica dioica* L. (teneur en eau, taux d'humidité, taux de cendre, matière lipidique, matière glucidique et matière protéique).

- Extraction des substances actives par différents solvants (méthanol, éthanol, acétone,) à 70%.
- Dosage des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des caroténoïdes, des différents extraits de la plante.
- Evaluation des propriétés antioxydantes *in vitro* des différents extraits à travers différents tests complémentaires soit l'activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur.
- Evaluation de leurs effets sur la conservation du lait commercial stérilisé.

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est les feuilles d'*Urtica dioica* L. récoltées durant le mois de Février 2022, dans la région de Bordj ZEMMOURA, wilaya de Bordj Bou Arreridj.



Figure 1 : Photographies de la plante *Urtica dioica* L.

II.1.1.1. Répartition géographique





L'espèce *Urticadioica*L.est originaire d'Eurasie, très répandue en France, en Afrique, Amérique et en Asie, dans les régions tempérées et montagneuses jusqu'à 2400 mètres d'altitude (Delahaye, 2015). En Algérie, on la retrouve spécialement dans les montagnes de Kabylie (Béjaia, Bouira et Tizi-Ouzou) et les régions de Blida. Elle peut pousser sur tous les types de terrains, argileux ou sablonneux, calcaires ou siliceux riches en azote (plante nitrophile) et humides (plante hydrophile). *Urtica dioica* L. est une plante «rudérale» très envahissante, et préfère particulièrement les terrains «pollués» et près des maisons qui lui apportent les éléments nécessaires à sa croissance. C'est pourquoi on la retrouve dans les jardins, les terrains abandonnés en friche, sur les chemins, dans les haies, les fossés, dans les ruines et les décombres (Delahye, 2015).

II.1.1.2. Description botanique

II.1.1.2.1. Appareil végétatif

L'appareil végétatif d'*Urtica dioica* L. est composé de quatre organes qui sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau I : Description botanique de l'appareil végétatif d'*Urtica dioica* L.

 <p>La feuille</p>	<p>Les feuilles d' <i>Urtica dioica</i> L. sont généralement longues de plus de 5cm, de couleur vert foncé à cause de leur richesse en chlorophylle. Elles sont alternes ou opposées deux à deux, ovales, lancéolées, cordiformes qui se terminent par une pointe, à bords irrégulièrement dentelés, charnues et simples, généralement plus longues que larges. Elles sont recouvertes par des poils urticants sur la face supérieure, tandis que les nervures sont proéminentes sur la face inférieure. Les cellules épidermiques renferment des corpuscules calcifiés appelés cystolithes (Delahaye, 2015).</p>
 <p>La tige</p>	<p>La tige d' <i>Urtica dioica</i> L. est non ramifiée, robuste, dressée, recouverte par des poils urticants et à section quadrangulaire. Elle peut atteindre 1,5 m de hauteur (Delahaye, 2015).</p>
 <p>Les poils urticants</p>	<p>Les urticacées sont caractérisées par la présence des poils de forme conique et unicellulaires sur la face supérieure des feuilles et sur la tige, constitués d'un bulbe incrusté de silice et surmontés par une pointe recourbée. Ce poil est effilé, transparent, et comparable à une ampoule. Le petit renflement sphérique brise au moindre frottement et se plante dans la peau en libérant le liquide urticant (Draghi, 2005).</p>
 <p>Les racines</p>	<p>Ce sont des rhizomes traçants, jaunâtres et abondamment ramifiés qui développent chaque année de nouvelles pousses d'où le caractère envahissant parfois de l'Ortie. Ils fixent l'azote de l'aire en symbiose avec <i>Rhizobium frankia</i> (Langlade, 2010).</p>

II.1.1.2.2. Appareil reproductif

Le tableau II présente une description botanique de l'appareil reproductif d' *Urtica dioïca* L selon **Candais (2019)**.

Tableau II : Description botanique de l'appareil reproductif d' *Urtica dioïca* L

	<p>Les fleurs sont petites, unisexuées, apétales, portées par des pieds différents et allongées à l'aisselle des feuilles dans la partie supérieure des tiges. Elles sont disposées en grappe ramifiées, et sont en alternance au bout d'un pédoncule. Les fleurs males sont de couleurs jaunes et forment des grappes dressées. Elles comportent quatre étamines contenant le pollen, et elles sont superposées en quatre sépales. Les fleurs femelles sont de couleur verte et forment des grappes tombantes. Elles sont constituées de quatre sépales libres entre elles et d'un seul carpelle avec un ovaire surmonté d'un stigmate en pinceau. (Candais, 2019).</p>
<p>Les fleurs males</p> 	
<p>Les fleurs femelles</p>	<p>Le fruit d'<i>Urtica dioïca</i> L. est constitué d'un akène jaune brun ovale de forme aplati. Il est enfermé dans un calice persistant contenu une graine. Généralement ils sont entourés de deux feuilles extérieures étroites et deux feuilles intérieures grandes et larges, elles s'ouvrent à maturité pour que cet akène tombe (Candais, 2019).</p>
 <p>Les fruits</p>	

II.1.1.3. Classification botanique

Le tableau 3 reprend la classification botanique d'*Urtica dioïca* L. selon la publication apparue en Novembre 2009 “ A phylogenetic classification of the of the land plants to accompany APG III” qui est complémentaire à la classification des angiospermes établie par Angiosperms Phylogeny Group (APGIII, 2009) :

Tableau III : Classification botanique d'*Urtica dioïca* L.

Règne	Plantae
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i> (plantes vasculaires)
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (phanérogames).
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i> (angiospermes)
Classe	<i>Eudicots</i>
S/classe	<i>Rosidées</i>
Super ordre	<i>Eurosidées</i>
Ordre	<i>Rosales</i>
Famille	<i>Urticaceae</i>
Genre	<i>Urtica</i>
Espèce	<i>Urtica dioïca</i>

II.1.2. Préparation de la poudre d'*Urtica dioïca*

Le séchage de la matière végétale a été réalisé à l'étuve à une température de 40 °C pendant 24 h, puis un broyage a été réalisé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre obtenue a été tamisée à l'aide d'un tamis d'un calibre de 200 µm. La poudre est conservée dans des flacons en verre, fermés hermétiquement, à l'abri de la lumière dans un réfrigérateur (T°= -4°C).

II.1.3. Analyse physicochimique

II.1.3.1. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau de la plante a été déterminée comme suit : 1kg de la plante fraîche est pesé puis séché à l'étuve à 40°C pendant 24 h, après le séchage la plante est pesée une deuxième fois pour déterminer la diminution du poids. La teneur en eau est exprimée en pourcentage et calculée par la formule suivante :

$$T\% = [(m - m') / m] \times 100$$

m: Masse de l'échantillon « avant séchage en g ».

m': Masse de l'échantillon « après séchage en g ».

H (%): Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

II.1.3.2. Humidité de la poudre (H%)

L'humidité de la poudre a été déterminée par la méthode de séchage à l'étuve selon **AOAC (2000)**. Une quantité de 2g de poudre de feuilles est mis dans un creuset en porcelaine préalablement taré. Le creuset et son contenu sont ensuite placés dans une étuve universelle à 103 ± 2°C pendant 24 h. Après refroidissement dans un dessiccateur renfermant un desséchant (gel de silice), les creusets ont été pesés. L'humidité est calculée comme suit :

$$H\% = [(m - m') / m] \times 100$$

m: masse de l'échantillon en poudre avant le séchage.

m': masse de l'échantillon en poudre après le séchage.

II.1.3.3. Détermination du taux de cendre (T%)

Le taux de cendre est déterminé selon **AOAC (2000)** après minéralisation par voie sèche, dans un creuset en porcelaine, préalablement taré. On introduit 2g de poudre végétale dans un four à moufle de type memmert à une température de 550C° pendant 08 heures jusqu'à l'obtention des cendres blanches (toute la matière organique brûle et on ne récupère que la partie inorganique de l'échantillon), on laisse refroidir dans un dessiccateur et on pèse. Le taux de cendres est calculé selon la règle suivante

$$T (\%) = (M - M') / E \times 100$$

- ✓ **M** : Masse finale (creuset + cendres totales),
- ✓ **M'**: Masse du creuset vide,
- ✓ **E** : Prises d'essais de la matière (2g) .

II.1.3.4. Teneur en matière grasse

L'extraction de la matière grasse totale a été effectuée par un appareil de type Soxhlet (**Bipea, 1976**).

La méthode Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments ou végétaux solides déshydratés . C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse à la fin de l'extraction .

Principe de la méthode : L'échantillon solide (poudre de la plante) est pesé et placé dans une capsule de cellulose. L'échantillon est extrait en continu par l'éther de pétrole à ébullition qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. Seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'éther est évaporé, généralement sur un évaporateur rotatif, et la matière grasse est pesée. Les capsules de cellulose sont perméables au solvant et à la matière grasse qui y est dissoute. Ces capsules sont jetables. La teneur en fraction lipidique est calculé selon la règle ;

$$MG \% = (P1 - P2 / ME) \times 100.$$

P2 : poids du ballon vide.

P1 : poids du ballon après évaporation du solvant.

ME : masse de la prise d'essai.

II.1.3.5. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de **BIPEA (1976)** utilisant un distillateur Kjeldahl; cette méthode est basée sur le dosage de l'azote total, qui est ensuite converti en taux de protéines. La minéralisation de 1g d'échantillon par 20ml d'acide sulfurique se fait en présence de catalyseur composé de 10g sulfate de potassium (K_2SO_4) et de 02g d'oxalate de potassium ($K_2C_2O_4$) dans un digesteur type Buchi 430 (Digestor Germany), pendant 5 h. Ensuite, une distillation est effectuée dans un distillateur type Buchi 320 (Germany), après addition de 70 ml de solution de soude (NaOH) à 40% au minéralisant. Le distillat est recueilli dans 15ml d'une

solution tampon d'acide borique préparée par dissolution de 40 g d'acide borique dans 1000 ml d'eau distillée et 10 ml d'une solution de rouge de méthyl 0,05% comme indicateur coloré. Le titrage du distillat se fait avec l'acide sulfurique 0,1 N. Les taux d'azote total et de protéines brutes sont obtenus avec des formules :

$$\text{Taux d'azote total (\%)} = V (\text{H}_2\text{SO}_4) \times N (\text{H}_2\text{SO}_4) \times 0,014 \times 100/P$$

$V(\text{H}_2\text{SO}_4)$ = volume H_2SO_4 de la chute de burette ;

$N(\text{H}_2\text{SO}_4)$ = normalité de l'acide sulfurique ;

0,014 = coefficient affecté à la concentration de la solution normale d'azote (14/1000) ;

P = poids de l'échantillon.

❖ Conversion du taux d'azote en taux de protéines

100g de protéines correspond à 16 g d'azote dans la majorité des cas.

On utilise un facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines.

$$F = 100/16 = 6,25$$

$$\text{Les protéines brutes (\%)} = \text{PB \%} = \text{N \%} \times 6,25$$

II.1.3.6. Dosage des glucides

La détermination de la quantité en oses présents dans les polysaccharides repose sur le dosage des sucres totaux par la méthode de **Dubois (1956)** appelée aussi méthode phénol/acide sulfurique.

Principe: Le dosage des monosaccharides constitutifs des polysaccharides nécessite la rupture de toutes les liaisons glycosidiques par hydrolyse acide (l'acide sulfurique). L'analyse repose sur des techniques colorimétriques; le principe des dosages colorimétriques se base sur la condensation par estérification d'un chromogène (phénol, orcinol, anthrone), avec les produits de déshydratation des pentoses, hexoses, et acides uroniques. En milieu acide fort et à chaud, ces oses se déshydratent respectivement en des dérivés du furural, 5- hydroxy-méthyl-furfural et de l'acide 5-formyl furoïque. Les chromophores ainsi formés de couleur jaune orange absorbent dans le domaine du visible proportionnellement avec la quantité des sucres présents (**Ruiz, 2005**). La teneur en sucres est exprimée en $\mu\text{g/ml}$ de α D Glucose à partir d'une courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Préparation des échantillons

Une quantité de 0,5g d'échantillon a été pesée dans un bêcher puis on ajoute 20ml d'acide sulfurique à 0,5M puis on place l'ensemble dans une étuve à 105°C pendant 3 heures. On transvase quantitativement le contenu du bêcher dans une fiole de 500 ml (ajuster le volume par de l'eau distillée jusqu'à 500 ml), puis la solution est filtrée et conservée à 4°C. Dans un tube en pyrex (2 cm θ), on dépose avec précaution 1 ml d'essai puis on ajoute 1 ml de phénol à 5 % et 5ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré. Après agitation (au vortex), le tube est maintenu dans l'étuve pendant 5 min à 100°C, puis laissé dans l'obscurité pendant 30min. La lecture de la densité optique est lue à une longueur d'onde de 490 nm (**Dubois *et al.*, 1956**).

Ex pression des résultats

A partir des densités optiques de la courbe d'étalonnage, on peut obtenir la teneur en sucres de l'échantillon :

$$\boxed{DO=f(C) \longrightarrow DO = \text{£} \times C}$$

£ : La pente,

C : La concentration de α -D-Glucose en $\mu\text{g/ml}$.

La teneur en sucres est exprimée en $\mu\text{g/ml}$ de α -D-Glucose, elle est convertie par rapport à 100g de matière sèche.

II.1.4. Etude phytochimique

II.1.4.1. Préparation des extraits

L'extraction est réalisée selon la méthode de macération avec agitation. Trois solvants sont utilisés : Méthanol 70%, Ethanol 70%, Acétone 70%. Un poids bien déterminé (10g) de la poudre de la plante est mélangé avec 150ml de chaque solvant. Le mélange obtenu est agité pendant 24h à température ambiante à l'aide d'un agitateur magnétique, puis filtré à travers un papier filtre. Une deuxième extraction est réalisée sur le retentât dans les mêmes conditions. Les deux filtrats sont mélangés et le solvant est éliminé à pression réduite à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi, Allemagne). Les extraits ainsi obtenus sont séchés dans l'étuve à 40°C jusqu'à l'obtention d'extrait sec qui sera conservé au congélateur pour servir aux différents tests. La reconstitution se fait dans le même solvant d'extraction juste avant chaque test.

II.1.4.2. Calcul du rendement

Le rendement d'extraction est le rapport entre la masse de l'extrait obtenu après évaporation et la masse de la matière première végétale après séchage, exprimé en pourcentage.

$$R\% = ([MEX] / [MMV]) \times 100$$

MMV : masse de la matière végétale séchée et laminée (g).

MEX : masse de l'extrait obtenu après évaporation (g).

II.1.4.3. Teneur en polyphénols totaux

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **Singleton et Rossi (1965)**. Le réactif de Folin-Ciocalteu, mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit en présence de polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (**Ribéreau-Gayon, 1968**). Un volume de 200 μ l d'extrait sec à des différentes concentrations a été introduit dans des tubes à essais, puis 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10%) est ajouté. Le mélange a été soigneusement mélangé par agitation, puis incubé à une température ambiante pendant 3 à 5 min, après on ajoute un volume de 800 μ l de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5 %). Les tubes sont agités et incubés pendant 120 minutes. L'absorbance a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique (Annexe 1: Figure 1a). Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec.

II.1.4.4. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des extraits ont été mesurées à l'aide d'une méthode colorimétrique selon le protocole de **Jain et al. (2011)** en utilisant la quercétine comme standard (Annexe 1: Figure 1b). Un volume de 1 ml de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé avec 1 ml de chlorure d'aluminium (2%). Après incubation à température ambiante pendant 1 h, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 430 nm. La teneur totale en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec.

II.1.4.5. Dosage des tanins condensés

Les teneurs en tanins condensés des extraits ont été déterminés selon le protocole d'**Oyedemiet Afolayan(2011)**. En utilisant la catéchine pour préparer la courbe d'étalonnage (Annexe 1: Figure 1c). Un volume de 0.5 ml d'extrait a été mélangé avec 3 ml de la solution de vanilline (4%) préparée dans le méthanol et 1.5 ml de HCL (37%). Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant la catéchine. Après incubation à température ambiante pendant 15 minutes, l'absorbance a été mesurée à 500 nm. La teneur totale en proanthocyanidines a été exprimée en milligramme équivalent de catéchine par gramme d'extrait sec.

II.1.4.6. Extraction et dosage des caroténoïdes

L'extraction et le dosage des caroténoïdes a été déterminé par la méthode de **Sass-Kisset al. (2005)** en utilisant le β -carotène pour la préparation de la courbe d'étalonnage (Annexe 1: Figure 1d). Une quantité de 50 mg de la poudre est introduite dans des tubes de centrifugation, puis 10 ml d'un mélange de solvants (2v d'hexane + 1v d'acétone + 1v d'éthanol) a été additionné. Les tubes sont agités durant 15 minutes, ensuite, le mélange est centrifugé à 4500 tours/min pendant 15 minutes. Le culot a subi une deuxième extraction dans les mêmes conditions précédentes, les deux phases hexaniques ont été bien mélangées ; l'absorbance a été mesurée à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS. La teneur totale en caroténoïdes a été exprimée en microgramme équivalent de β -carotène par gramme de poudre sèche.

II.1.5. Évaluation de l'activité antioxydante

II.1.5.1. Activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire au DPPH a été déterminée selon le protocole décrit par **Mansouriet al (2005)**. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (6×10^{-5} M). 25 μ l des solutions d'extraits ou standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 975 μ l de la solution de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ D'activité antiradicalaire} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \times 100\%$$

Calcul d'IC₅₀

L'IC₅₀, aussi appelée EC₅₀ (Efficient concentration₅₀), est la concentration de l'échantillon testée nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement à partir des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (Torres *et al.*, 2006).

II.1.5.2. Pouvoir réducteur

Le protocole expérimental utilisé est celui de Yildirim *et al.* (2001) où 0,5 ml de l'échantillon à différentes concentrations, est mélangé avec 1,25 ml d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (pH= 6,6) et 1,25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. Un volume de 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10% est ajouté pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000g pendant 10 min. Un volume de 1,25 ml du surnageant est ajouté à 1,25 ml d'eau distillée et 250 µl d'une solution de chlorure de fer (FeCl₃, 6H₂O) à 0,1%. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

II. Etude de l'effet des extraits d'*Urtica dioica* L. sur le lait commercial stérilisé

Cette étude a pour but de déterminer les effets de l'extrait éthanolique obtenu à partir des feuilles d'*Urtica dioica* L. sur la qualité physicochimique, microbiologique de lait commercial stérilisé. L'expérimentation a été réalisée en utilisant différentes concentrations de l'extrait d'ortie (50 mg/l, 100mg/l, et 200mg/l) sur le lait stérilisé.

Les analyses physicochimiques (pH, acidité, viscosité, conductivité, densité) ont été effectuées sur chaque échantillon de lait.

II.2.1. Analyse physicochimique

II.2.1.1. Mesure du pH

Principe

Le pH est la mesure de l'activité des ions H⁺ contenus dans une solution. La mesure du pH, renseigne sur l'acidité du lait. Concernant le lait de vache, le pH est compris entre [6,6 à 6,8] (AFNOR, 1985).

Mode opératoire

- étalonner le pH mètre à l'aide d'une solution tampon à $\text{pH} = 7 \pm 0,1$.
- rincer l'électrode avec l'eau distillée.
- plonger l'électrode dans un bécher contenant le lait à analyser et lire la valeur de pH.

II.2.1.2. Mesure de l'acidité titrable

C'est la quantité d'acide lactique contenu dans un litre de lait, elle est exprimée en degré Dornic ($^{\circ}\text{D}$).

Principe

La mesure de l'acidité titrable est basée sur un dosage acido-basique d'un échantillon du lait avec une solution de NaOH 0,1M en présence d'un indicateur coloré adéquat (AFNOR, 1995).

Mode opératoire

- à l'aide d'une pipette (10 ml) on introduit 10 ml du lait dans un bécher de 100 ml.
- on ajoute quelques gouttes (3 à 4) de solution de phénolphtaléine (1%).
- dans un acidimètre on titre avec une solution d'hydroxyde de sodium jusqu'au début de virage au rose facilement perceptible par comparaison avec la solution témoin constituée du même lait.

Les résultats sont exprimés en degré ($^{\circ}\text{D}$). Il correspond à la valeur lue sur la burette après le titrage. Ce qui a permis de déterminer le taux d'acidité du lait suivant les formules suivantes :

- Calcule de la masse molaire de l'acide lactique ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$) \longrightarrow 90g/l.
- Calcule la concentration d'acide lactique par la formule suivante :

$$C1.V1 = C2.V2 \longrightarrow \text{Où : } C1 = C2.V2/V1$$

V1 : volume du lait utilisé

C2 : concentration de la solution NaOH 0.1mol /l

V2 : volume de chute de NaOH de la burette.

- On aussi : $1\text{mol/l} \longrightarrow 90\text{g/l}$
 $C1 \longrightarrow X$

Où : $X = C1. 90\text{g/l}$

- Finalement : calcule le taux d'acidité par la formule suivante :

$$1\text{D}^{\circ} = 0.1\text{g/l}$$

$$X \text{ D}^{\circ} = X$$

II.2.1.3. Détermination de la densité et la température

Principe

La densité d'un liquide est le rapport entre la masse volumique de ce liquide et celle d'un même volume d'eau à 20°C. Elle dépend de la teneur en matière sèche et en matière grasse. La détermination de la densité est réalisée au moyen d'un thermo-lactodensimètre.

Mode opératoire

- Remplir l'éprouvette de 250ml avec du lait.
- Introduire le lactodensimètre dans l'éprouvette tout en évitant la formation d'une mousse de bulle d'air au niveau du lait.
- Après stabilisation de l'appareil, on lit directement la valeur de la densité sur les graduations du lactodensimètre (**Sadelli et Oulmi , 2013**).

Si la température du lait est de 20 °C, le niveau de flottement correspond à la graduation de la lecture de densité, dans le cas contraire deux cas se présentent :

- ❖ Si la T° du lait lue sur le lactodensimètre est < 20°C donc la densité est calculée par la formule suivante : $T^{\circ} = 15 D = D_0 - 0,2 (20 - 15)$
- ❖ Si la T° du lait lue sur le lactodensimètre est > 20°C donc la densité est calculée par la formule suivante : $T^{\circ} = 23 D = D_0 - 0,2 (23 - 20)$

Où

- T°: température lue sur le lactodensimètre.
- D₀ : densité sur le lactodensimètre.
- D : densité réelle de l'échantillon (le lait).
- 0,2 correspond au coefficient de correction.

II.2.1.4. Détermination de la viscosité

La viscosité du lait, est une propriété, complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes, émulsifiées et dissoutes. La e matière grasse et la caséine affectent significativement la viscosité du lait.

Principe

Elle correspond à la résistance d'un liquide à l'écoulement. Elle est due à la présence des protéines et de matière grasse dans le lait. Elle limite la montée des matières grasses à la surface du lait. La viscosité diminue lorsque la température augmente et augmente lorsque le pH est inférieur à 6 (**AFNOR, 1985**).

Mode opératoire

- Homogénéiser l'échantillon du lait cru.
- Verser un volume de 400 ml dans le viscosimètre placé d'une position verticale pour une mesure exacte.

II.2.1.5. Détermination du taux de matières grasses**Principe**

La teneur en matière grasse est déterminée par la méthode acido-butyrométrique de Gerber. Les constituants du lait, autre que la matière grasse sont dissous par l'acide sulfurique. L'ajout d'une petite quantité de l'alcool iso-amylque et la force centrifuge de soude permettent de dissoudre la matière grasse, cette dernière se sépare et monte au sommet du butyromètre (AFNOR, 1993).

Mode opératoire

- A l'aide d'une pipette ou d'un système automatique, mesurer 10 ml d'acide sulfurique et les introduire dans le butyromètre.
- Retourner doucement trois ou quatre fois le récipient contenant l'échantillon préparé.
- Prélever immédiatement à la pipette à lait le volume fixé du lait et le verser dans le butyromètre sans mouiller le col de celui-ci de façon qu'il forme une couche au-dessus de l'acide.
- A l'aide d'une pipette ou d'un système automatique mesurer 1ml d'alcool iso-amylque et l'introduire dans le butyromètre sans mouiller le col du butyromètre ni mélanger les liquides.
- Bien boucher le butyromètre sans perturber son contenu.
- Agiter et retourner le butyromètre jusqu'à ce que son contenu soit complètement mélangé.
- Placer immédiatement le butyromètre dans la centrifugeuse GERBER, amener la centrifugeuse à la vitesse requise (1200 tr/mn) pendant 5 min.

Expression des résultats

La teneur en matière grasse est exprimée en g/l et obtenue par la lecture de la graduation sur le butyromètre. Maintenir le bouchon vers le bas et ajuster devant le repère la plus proche, puis lire rapidement.

$$MG \text{ (g/l)} = (B-A) \times 100$$

A: la valeur correspondant au niveau inférieur de la colonne grasse.

B: la valeur correspondant au niveau supérieur de la colonne grasse.

II.2.1.6. Mesure de la teneur en azote protéique

C'est une méthode de référence, introduite par **Kjeldhal en 1883**, pour déterminer la quantité des protéines dans les produits laitiers (**AOAC, 920,105 ;FIL, 1993**).

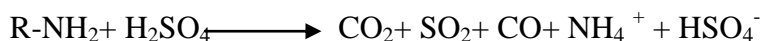
Principe

Le dosage de l'azote total s'effectue en trois étapes : la minéralisation, la distillation et le titrage. Avant la prise d'essai, l'échantillon du lait cru est bien homogénéisé par agitation manuelle.

Mode opératoire

1. La minéralisation

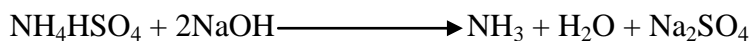
Elle vise à convertir la totalité de l'azote organique en ions ammonium (NH_4^+). Après introduction de 05ml du lait cru, dans chaque matras (nous avons répété le test au minimum deux fois pour chaque échantillon), auquel sont ajoutés 2g d'oxalate de potassium (un catalyseur pour accélérer la dégradation de la matière organique par l'acide sulfurique), et l'ajout de 10g de sulfate de potassium pour augmenter le point d'ébullition de l'acide sulfurique. A ces deux derniers composés, 20 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) sont additionnés ayant pour but de dégrader la matière organique présente dans les échantillons.



Tous les produits chimiques employés sont exempts d'ammoniaque. Les matras sont placés sur le dispositif du minéralisateur, avec un aspirateur, pour absorber les vapeurs. Le chauffage est augmenté doucement, en plusieurs étapes jusqu'à atteindre la température de 390°C pour une minéralisation totale. Les matras sont laissés refroidir à température ambiante pour assurer la sortie de toutes les vapeurs pendant une durée de 30 min.

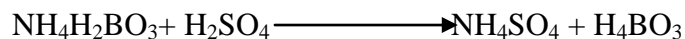
2. La distillation

Un erlenmeyer contenant 15 ml de la solution d'acide borique (H_3BO_3) coloré avec la solution alcoolique de rouge de méthyle 0,05%, est placé sur la plateforme de réception pour piéger l'ammoniac (NH_3). Ce dernier est alors entraîné par un courant de vapeur en ajoutant 70ml de solution NaOH concentré, qu'on fait barboter dans l'erlenmeyer. Après 5 min, l'indicateur contenu dans l'erlenmeyer vire à sa teinte jaune.



3. Le titrage

La solution obtenue dans l'erenmeyer, est titrée avec une solution standard (acide sulfurique 0,1N) jusqu'à l'apparition de la couleur rose. Puis on note le volume d'acide sulfurique versé.



Dans chaque série de dosage, un essai de contrôle est inclus. La teneur en azote total, exprimée en grammes d'azote pour 1000ml de lait, est calculée selon la formule suivante:

$$\text{At} = n \times 1.4 / \text{volume du lait utilisé}$$

Par convention, le résultat peut être exprimé en protéines du lait, en multipliant le chiffre d'azote total par le coefficient 6,38.

II.2.2. Analyse microbiologique

II.2.2.1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT)

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 25 et 40°C (**Bourgeois et Leveau, 1980**). Les micro-organismes aérobies et aéro-anaérobies facultatifs, peuvent se développer dans un milieu nutritif non sélectif. Ces micro-organismes apparaissent sous forme de colonies de taille et de formes différentes après une incubation à 37°C pendant 72h. Le milieu choisi pour le dénombrement de la flore totale est le PCA (plate count agar) (**Lapied et Petranxiene, 1981**).

Mode opératoire

Le milieu de culture (PCA) est préparé dans un bain-marie, ensuite il est refroidi à 45°C devant un bec benzène et sur une paillasse bien stérile. Un volume de 1ml de chaque dilution ($10^1, 10^2, 10^3, 10^4$, et 10^5) est versé dans les boîtes de pétrie vides et stérile à raison de deux boîtes pour chaque dilution. On ajoute 15ml de milieu de culture PCA dans les boîtes. Ensuite, on mélange soigneusement en faisant des mouvements circulaires en forme de huit (08) pour pouvoir réaliser un ensemencement homogène et pour bien mélanger la gélose avec l'inoculum. Les boîtes sont laissées jusqu'à ce que le contenu devienne solide puis on incube les boîtes à 37°C pendant 72h. Les colonies de FTAM se présentent sous forme lenticulaire en masse.

Expression des résultats

On utilise la relation suivante : $N = \frac{\sum \text{colonies}}{V \text{ ml}} * (N1 + 0,1 N2) * d1$

N : Nombre d'UFC par ml de lait.

\sum colonies : Somme des colonies des boîtes interprétables

V : volume de solution déposée (1ml)

N1 : nombre de boîtes considéré à la première dilution retenue. N2 : nombre de boîte considéré à la seconde dilution retenue. d1 : facteur de la première dilution retenue

II .3. Analyse statistique

Tous les essais réalisés dans la présente étude ont été répétés au moins trois fois et les résultats ont été exprimés par la moyenne \pm la déviation standard. Les graphes sont mis en forme par EXCEL. L'étude statistique est réalisée à l'aide d'un logiciel statistique (Stat View v5.0). Des comparaisons statistiques ont été effectuées avec le test Student t ou les tests ANOVA. Les différences ont été jugées significatives à $p < 0,05$.

Résultats et discussion

III. Résultats

III.1.1. Résultats de l'analyse physicochimique d'*Urtica dioica*L.

III.1.1.1. Teneur en eau

Les analyses ont révélé que les feuilles d'*Urtica dioica*, fraîchement récoltées, présentent une teneur en eau de $67,75 \pm 2,162\%$ (Fig. 2).

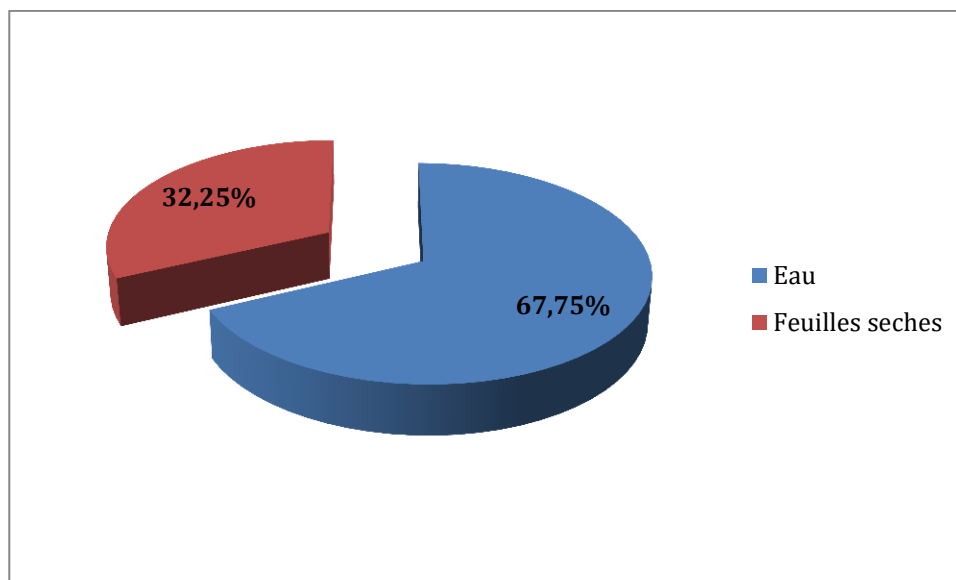


Figure 2 : Teneur en eau de la plante *Urtica dioica*L.

III.1.1.2. Humidité de la poudre

Le taux d'humidité de la poudre d'*Urtica dioica* est de $8,32 \pm 0,134\%$, cette valeur est conforme aux normes de AOAC(2000).(Fig. 3).

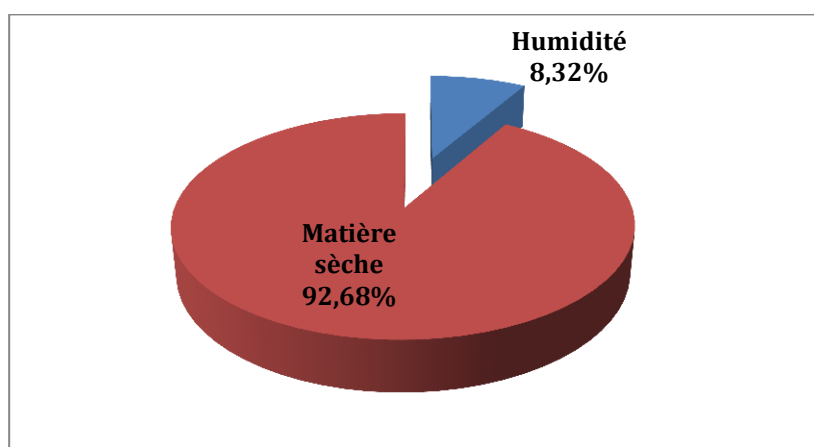


Figure 3: Taux d'humidité de la poudre d'*Urtica dioica* L.

III.1.1.3. Taux de cendres

Le résultat du taux de cendres de l'ortie a montré un pourcentage de $18,11 \pm 0,556\%$. Cela signifie que le taux de la matière inorganique contenue dans cette plante est dans les normes (Fig. 4).

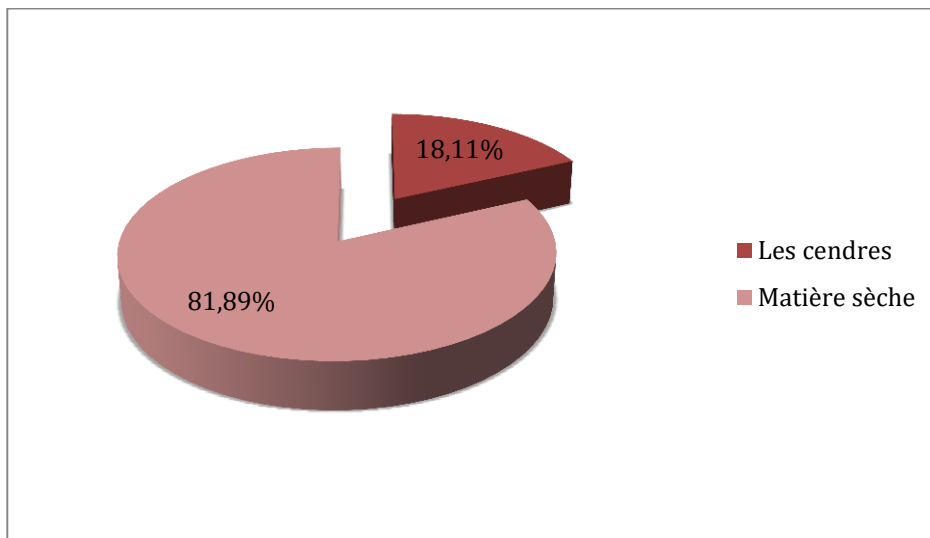


Figure 4 : Taux de cendres de la poudre d'*Urtica dioica* L.

III.1.1.4. Teneur en matière grasse

Dans la présente étude, le dosage de la fraction lipidique de l'ortie a permis de révéler que cette plante est pauvre en matière grasse avec une teneur moyenne de $2,24 \pm 0,292\%$ (Fig. 5).

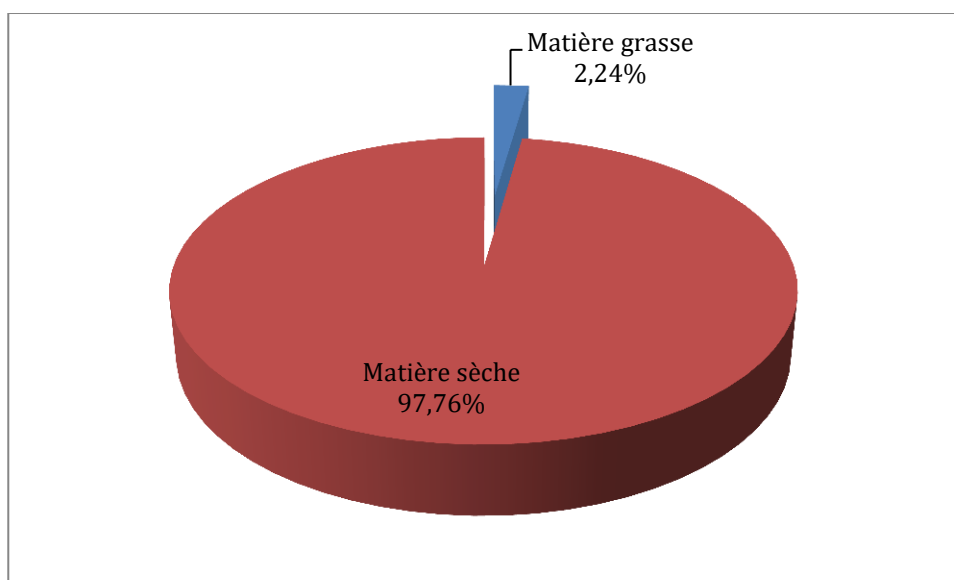


Figure 5 : Taux de matière grasse d'*Urtica dioica* L.

III.1.1.5. Teneur en protéines

Les résultats du dosage des protéines ont montré une teneur de $21 \pm 0,247\%$.

III.1.1.6. Teneur en glucides

Les résultats de ce test ont montré que la teneur en glucides totaux de cette plante est de $3,11 \pm 0,23\%$.

III.1.2. Résultats de l'étude phytochimique d'*Urtica dioica*L.

III.1.2.1. Rendement d'extraction

Dans la présente étude, trois solvants ont été utilisés pour l'extraction des composés bioactifs à partir des feuilles d'*Urtica dioica*. La figure 9 illustre les résultats des rendements d'extraction de cette plante. Les rendements d'extraction obtenus avec les trois solvants ne montrent pas de différence significative et semblent très proches, toutefois, les rendements peuvent être classés dans l'ordre suivant : l'extrait méthanolique avec un pourcentage de $20,725 \pm 1,01\%$, suivi de l'extrait éthanolique avec un pourcentage de $20,592 \pm 0,27\%$, puis l'extrait acétonique ($19,708 \pm 0,24\%$).

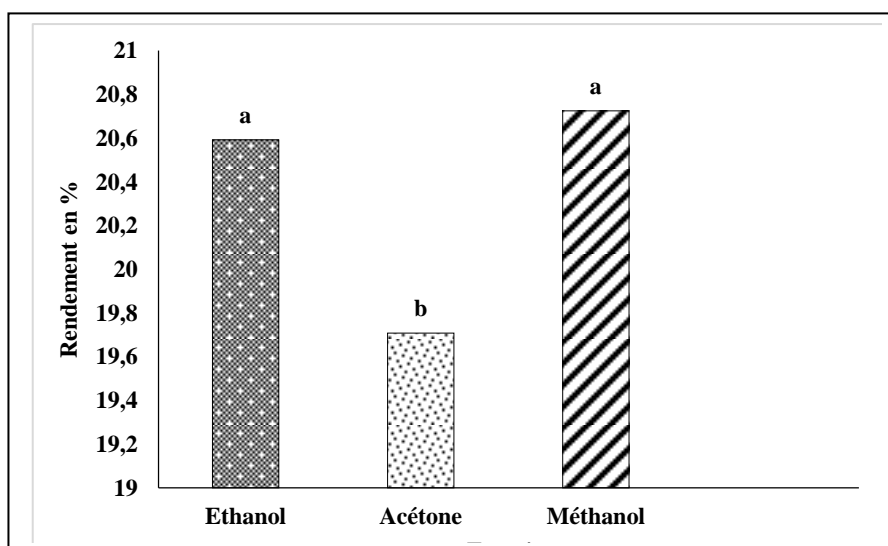


Figure 6 : Rendement d'extraction d'*Urtica dioica* L.

III.1.2.2. Teneur en polyphénols totaux

Les résultats du dosage des composés phénoliques montrent que les teneurs en polyphénols varient également en fonction des solvants utilisés (Fig. 7).

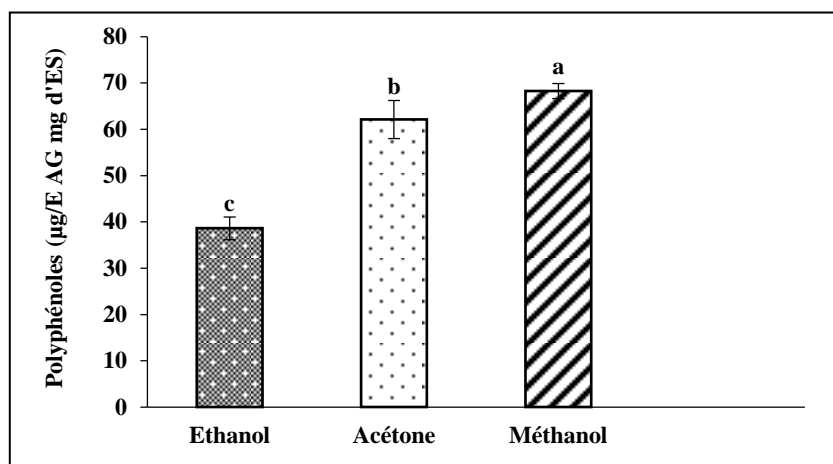


Figure 7 : Teneur en polyphénols totaux des extraits d'*Urtica dioica* L.

Les résultats obtenus montrent une teneur en polyphénols de $68,23 \pm 1,628$ µg EAG/mg ES pour l'extrait méthanolique et $62,09 \pm 4,133$ µg EAG/mg ES pour l'extrait acétonique, alors que l'extrait éthanolique donne une teneur moyenne de $38,61 \pm 2,447$ µg EAG/mg ES (Fig. 7).

III.1.2.3. Teneur en flavonoïdes

Les résultats du dosage des composés flavonoïdiques montrent des valeurs de $25,59 \pm 0,76$ µg EQ /mg d'ES pour l'extrait méthanolique, $25,26 \pm 0,51$ µg EQ /mg d'ES pour l'extrait éthanolique, et $11,28 \pm 0,3$ µg EQ /mg d'ES pour l'extrait acétonique (Fig. 8).

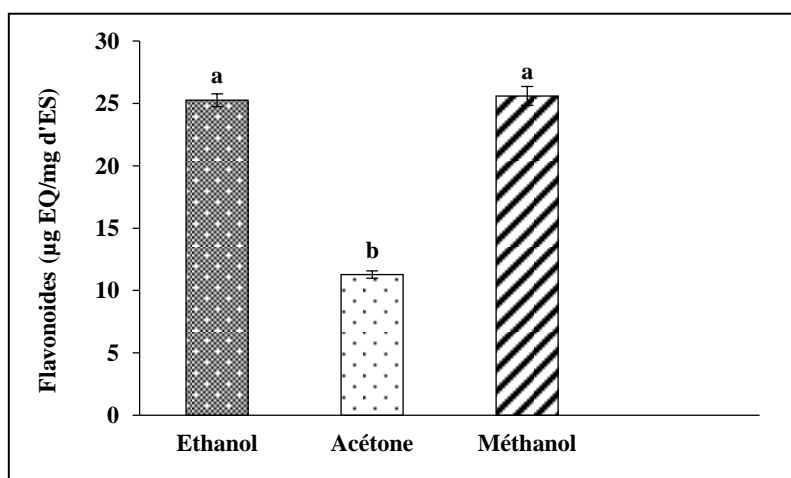


Figure 8 : Teneur en flavonoïdes d'*Urtica dioica* L.

III.1.2.4. Teneur en tanins condensés

D'après les résultats illustrés dans la figure 11, l'extrait acétonique a montré la teneur la plus élevée avec une valeur moyenne de $26,11 \pm 3,35 \mu\text{g EC/mg d'ES}$ suivi de l'extrait méthanolique avec une concentration de $16,732 \pm 2,67 \mu\text{g EC/mg d'ES}$, et enfin, l'extrait éthanolique avec une valeur moyenne de $13,088 \pm 1,82 \mu\text{g EC/mg d'ES}$.

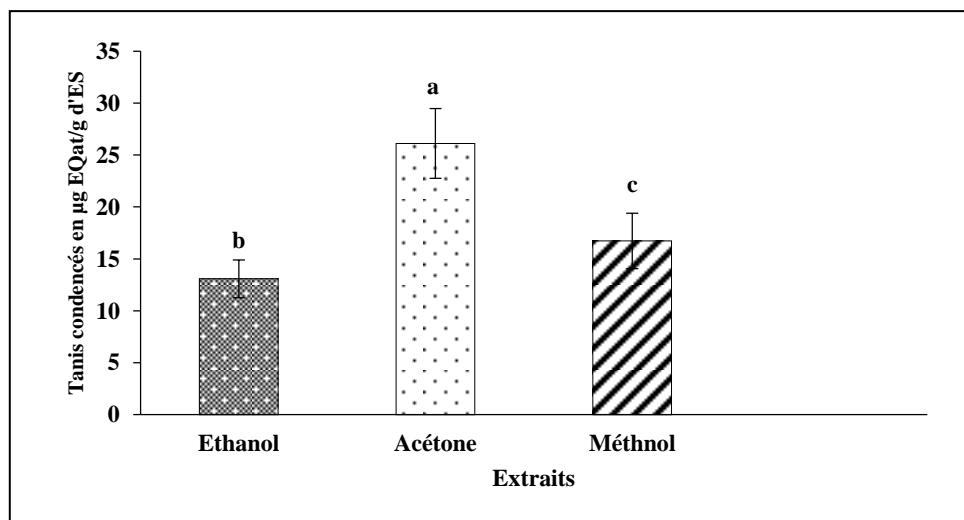


Figure 9 :Teneur en tanins condensées des extraits d'*Urtica dioica* L.

III.1.2.5. Teneur en caroténoïdes

Les résultats obtenus montrent que la valeur moyenne en caroténoïdes de la poudre d'ortie est de $7,76 \pm 1,38 \mu\text{g E } \beta\text{-carotène / mg d'ES}$.

III.1.3. Activité antioxydante

III.1.3.1. Piégeage du radical libre DPPH

L'activité scavenger du DPPH a été représentée par l' IC_{50} . L'extrait éthanolique d'ortie a donné la plus faible valeur d' IC_{50} qui est de $1,76 \pm 0,07 \text{ mg/ml}$ ce qui reflète une meilleure activité anti-radicalaire par rapport à l'extrait méthanolique dont l' IC_{50} était de l'ordre de $2,41 \pm 0,48 \text{ mg/ml}$ et de l'extrait acétonique dont l' IC_{50} était de l'ordre de $3,31 \pm 0,05 \text{ mg/ml}$ (Fig.13).

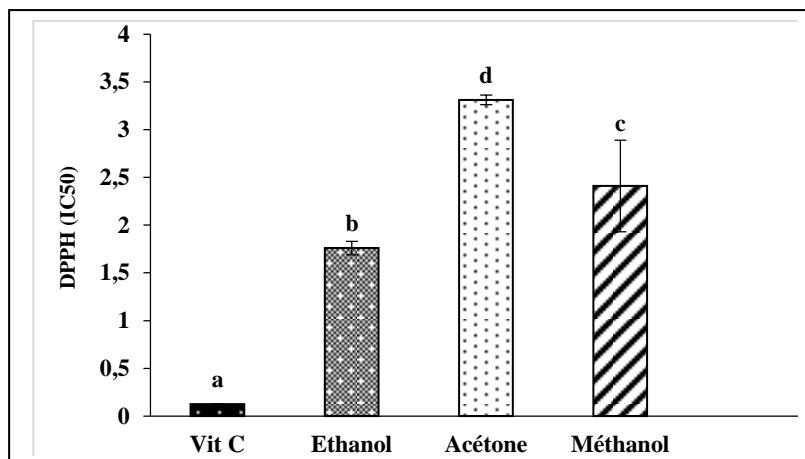


Figure 10 :Activité antiradicalire des extraits d'*Urtica dioica* L.

III.1.3.2.Pouvoir réducteur

Afin de comparer l'efficacité des extraits étudiés, nous avons également déterminé expérimentalement la concentration EC₅₀. Cette dernière est considérée comme étant la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% de fer en solution. Plus la valeur EC₅₀ est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande. L'ortie a présenté des valeurs moyennes de 7,34± 0,13 mg/ml pour l'extrait méthanolique, 7,52 ± 0,16 mg/ml pour l'extrait éthanolique,et8,5 ± 0,29 mg/ml pour l'extrait acétonique, (Fig. 14).

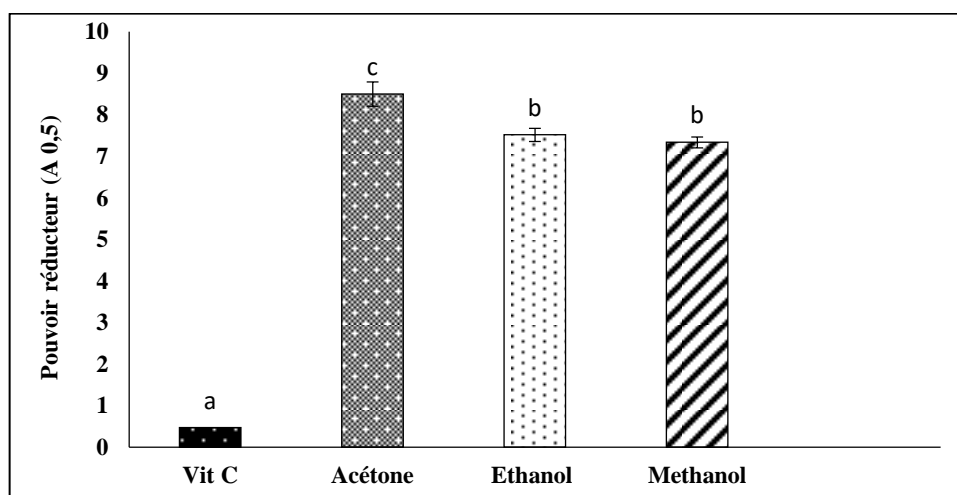


Figure 11 : Pouvoir réducteur des extraits d'*Urtica dioica* L.

III.2. Résultats de l'étude de l'effet des extraits d'*Urtica dioica* L.sur le lait commercial stérilisé

Les résultats des analyses physico-chimiques du lait stérilisé (Soummam) avec et sans l'extrait éthanolique de l'ortie sont illustrés dans les deux tableaux ci-dessous :

Tableau IV: Taux de matière grasse et de protéines totaux du lait stérilisé (Soummam) avec et sans l'extrait éthanolique de l'ortie.











Echantillon Paramètre	Témoin	Echantillon+ extrait (50mg/l)	Echantillon+ extrait (100mg/l)	Echantillon+ extrait (200mg/l)
MG g/l	1,6	1,5	1,4	1,5
PT%	23,93	23,58	24,47	24,65

Tableau V: Les résultats des analyses physico-chimiques du lait stérilisé (Soummam) avec et sans l'extrait éthanolique de l'ortie.

Paramètre	pH à 20°C	Acidité	Conductivité (ms/cm) à 20°C	Viscosité (mp/s)	Densité	
Jours						
<u>Echantillons 1 :</u> Lait stérilisé Soummam sans extrait(Témoin)	1 ^{er} J	6,9	21,6	5,55	3	1,04
	31 ^{ème} J	6,41	32,4	/	/	/
<u>Echantillons 2 :</u> Lait stérilisé Soummam avec 50mg d'extrait éthanolique de l'ortie	1 ^{er} J	7,04	18,1	5,62	3	1,03
	31 ^{ème} J	6,44	28,8	/	/	/
<u>Echantillons 3 :</u> Lait stérilisé Soummam avec 100mg d'extrait éthanolique de l'ortie	1 ^{er} J	7,63	19,8	5,66	3	1,03
	31 ^{ème} J	6,26	27,9	/	/	/
<u>Echantillons 4 :</u> Lait stérilisé Soummam avec 200mg d'extrait éthanolique de l'ortie	1 ^{er} J	7,10	18,9	5,60	3	1,03
	31 ^{ème} J	6,54	22,5	/	/	/

Les résultats du dénombrement de la flore aérobique mésophile totale du lait témoin et en présence de l'extrait ont été exprimés en UFC/g, et sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VI : Résultats des FTAM pour le lait en présence et en absence de l'extrait d'*Urtica dioica* L.

Dilution Echantillon	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Témoin	 Indénombrable	 Indénombrable	 $6,9 \times 10^4$ UFC/ml	 $3,9 \times 10^4$ UFC/ml	 $3,3 \times 10^4$ UFC/ml
Lait + l'extrait (200mg/l)	 Absence de croissance	 Absence de croissance	 Absence de croissance	 Absence de croissance	 Absence de croissance

IV. Discussion

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'analyse physicochimique, phytochimique, et l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits d'*Urtica dioica* préparés à partir de trois solvants d'extraction à savoir l'acétone, le méthanol et l'éthanol et l'application des extraits de cette plante sur du lait commercial stérilisé.

La teneur en eau de la plante fraîche d'*Urtica dioica* était de $67,75 \pm 2,162\%$. Ce taux est inférieur à celui retrouvé dans les graines (81,91%) de la même plante (Aissi et Dahoui, 2018). Alors que, le taux d'humidité de la poudre d'*Urtica dioica* était de 8,32%. Cette teneur est presque équivalente à celle retrouvée dans les graines (9,89%) de la même plante (Bougar et Belkacem, 2016).

Les cendres représentent le reste de composés minéraux après incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique. Les résultats du taux de cendres d'ortie était de $18,11 \pm 0,556\%$ qui est proche de celui

rapporté dans une étude antérieure et dont la valeur moyenne était de $22 \pm 0,006\%$ (**Sayed Ahmed et al., 2014**).

Les résultats de la teneur en matière grasse est de l'ordre de $2,24 \pm 0,292\%$, cette fraction lipidique est également similaire à celle retrouvée par **Sayed Ahmed et al. (2014)** avec un taux de $2,51\%$.

La teneur en protéines de la poudre d'*Urticadioica* L. est d'une valeur de $21 \pm 0,274\%$. Cette teneur est supérieure à celle obtenue par **Sayed Ahmed et al. (2014)**, qui ont enregistré une valeur moyenne de $6,76 \pm 0,01\%$. Alors que notre résultat reste inférieur à celui rapporté par **Konrad et al. (1999)** qui ont obtenu une taux de l'ordre de $49,5\%$.

Les résultats du dosage des glucides montrent une concentration moyenne de $3,11 \pm 0,23\%$ qui est largement inférieure à celle obtenue par **Konrad et al. (1999)** qui ont rapporté une concentration de $16,5\%$.

Le rendement d'extraction, en utilisant trois solvants différents, nous a permis de constater que l'extrait méthanolique est celui qui donne le meilleur rendement ($20,725\%$). Plusieurs études ont démontré que le méthanol est un solvant qui permet un meilleur rendement d'extraction de substances actives. L'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal. Elle est influencée par la nature chimique du solvant utilisé, la technique utilisée, la taille de l'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes (**Henanou et Zaghez, 2019**).

Dans ce travail, les teneurs en polyphénols totaux dans les trois extraits méthanolique, acétonique et éthanolique étaient de $68,23 \pm 1,628 \mu\text{g EAG/mg ES}$, $62,09 \pm 4,133 \mu\text{g EAG/mg ES}$ et $38,61 \pm 2,447 \mu\text{g EAG/mg ES}$, respectivement. Ces résultats sont proches de ceux rapportés par **Lobnaet al. (2017)** qui ont travaillé sur *Urtica urens*, en utilisant deux solvants d'extraction le méthanol et l'acétone et qui ont obtenu des concentrations moyennes de $88,75 \pm 12,25 \text{ mg EAG/g ES}$ et $56,5 \pm 13,66 \text{ mg EAG/g ES}$, respectivement. La teneur en composés phénoliques peut être affectée par la méthode d'extraction, le stade de maturité de la plante, les conditions climatiques et environnementales, la durée de conservation, ... (**Bentahar et al., 2020**).

Les teneurs en flavonoïdes d'*Urtica dioica* L. obtenues pour les trois extraits méthanolique, éthanolique et acétonique étaient de $25,59 \mu\text{g EQ /mg ES}$, $25,26 \mu\text{g EQ/mg ES}$, et $11,28 \mu\text{g EQ /mg ES}$, respectivement. Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés par

Lobnaet al.(2017) qui ont rapporté des teneurs de l'ordre de $67,5 \pm 13,5$ $\mu\text{g EQ /mg ES}$ pour l'extrait méthanolique et $66,1 \pm 6,5$ $\mu\text{g EQ /mg ES}$ pour l'extrait acétonique.

Pour les tanins condensés, l'acétone semble être le solvant le plus approprié pour l'extraction des tanins condensés avec une teneur de $26,11 \pm 3,35$ $\mu\text{g EC/mg ES}$ suivi de l'extrait méthanolique ($16,732 \pm 2,67$ $\mu\text{g EC/mg ES}$). Ces teneurs restent inférieures par rapport aux résultats de **Lobnaet al.(2017)**, qui ont obtenu $115,33 \pm 2,6$ $\mu\text{g EC/mg ES}$ avec l'extrait acétonique et $52,33 \pm 15,22$ $\mu\text{g EC/mg ES}$ avec l'extrait méthanolique.

La mise en évidence de l'activité antioxydante d'*Urtica dioica* L. a été réalisée par deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur. La méthode de piégeage du radical libre (DPPH) est connue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical (**Bozinet al., 2008**). Le pouvoir antiradicalaire diffère selon le type de solvant utilisé. Il paraît que l'extrait éthanolique est un excellent piègeur des radicaux libres ($\text{IC}_{50} = 1,76 \pm 0,07$ mg/ml), de même pour l'extrait méthanolique ($\text{IC}_{50} = 2,41 \pm 0,48$ mg/ml) et l'extrait acétonique ($\text{IC}_{50} = 3,31 \pm 0,05$ mg/ml). Néanmoins, ces résultats sont inférieurs à ceux de **Semwal et al. (2015)** qui ont enregistré une IC_{50} de $0,302 \pm 0,141$ mg/ml avec l'éthanol.

L'effet des extraits d'*Urtica dioica* L. sur le lait commercial stérilisé

La qualité du lait stérilisé change pendant le stockage et avec le temps en raison de la flore microbienne, en particulier, les bactéries sporulées, telle que *Bacillus subtilis* la capacité de produire de la lipase, de la phospholipase et de la protéinase, produisant ainsi des défauts de saveur (**Machado et al., 2017**). L'une des méthodes permettant de contrôler les pathogènes bactériens d'origine alimentaire consiste à utiliser des conservateurs. Ces conservateurs peuvent être soit des composés synthétiques ou des antibactériens naturels. Actuellement, un intérêt particulier est porté aux antimicrobiens naturels en tant que conservateurs alimentaires car ils sont considérés comme étant des molécules sûres ayant de nombreux effets positifs sur la santé humaine (**Seowet al., 2014**). De plus, beaucoup de recherches scientifiques ne cessent de démontrer l'utilisation de ces substances avec un large spectre d'effet antimicrobien avec des résultats satisfaisants concernant la prolongation de la durée de conservation des aliments périssables (**Burt, 2004 ; Yousef et al., 2019**).

Les paramètres physico-chimiques (pH, taux d'acidité, densité, conductivité, viscosité) au cours de la période de stockage (31 jours) à 4 °C ont été déterminés (Tableau V). Une augmentation d'acidité est liée à la production d'acide lactique pendant le stockage qui affecte

négativement la durée de conservation du lait stérilisé. En effet, la variation de l'acidité est plus fortement associée au degré de fermentation du lactose par la flore microbienne du lait pasteurisé. Par conséquent, l'augmentation de l'acidité titrable dans le lait pasteurisé est associée à la diminution de la durée de conservation du lait stérilisé.

Au cours de cette étude, nous n'avons pas constaté de variations considérables entre les échantillons témoins et traités. Toutefois, l'ajout de l'extrait éthanolique d'*Urtica dioica* L. à différentes concentrations au lait stérilisé a un effet sur l'acidité. Les valeurs d'acidité pour les échantillons stérilisés traités avec une concentration de 200mg/l d'extrait étaient faibles (16 -22), autour de celles du lait frais pasteurisé, jusqu'à 31 jours de stockage à 4 °C. Alors qu'une forte augmentation de l'acidité du lait pasteurisé en l'absence de l'extrait (témoin) a été noté dont la valeur a dépassé 32.

La stabilité de l'acidité du lait contenant 200 mg d'extrait est probablement liée à l'activité antimicrobienne de cet extrait.

Conclusion

V. Conclusion

Cette étude a porté sur l'espèce *Urtica dioica* L qui appartient à la famille des Urticaceae. Cette famille regroupe des plantes médicinales très prisées pour leurs métabolites secondaires.

Le présent travail a pour objectif l'étude physicochimique, phytochimique, et l'activité antioxydante de différents extraits préparés à partir des feuilles d'*Urtica dioica* L. en utilisant différents solvants d'extraction, ainsi que l'étude de l'effet de ces extraits le lait commercial stérilisé.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude montrent que cette plante est riche en polyphénols, flavonoïdes et tanins. D'autre part, l'étude du potentiel anti-radicalaire effectué par la méthode de piégeage du radical libre (DPPH) a montré que cette plante à un pouvoir antioxydant important, l'extrait méthanolique a donné les meilleurs résultats dans la plupart des paramètres étudiés.

Les résultats de l'étude de l'effet de différents extraits d'*Urtica dioica* L. sur le lait commercial stérilisé sont très encourageants pour l'utilisation des feuilles d'ortie comme agent conservateur dans le domaine alimentaire. Ainsi, l'extrait de feuille d'ortie pourrait être ajouté comme un ingrédient actif ou additif alimentaire lors du processus de préparation du lait afin d'améliorer sa qualité ainsi que sa durée de conservation.

Références
Bibliographiques

- AFNOR. (1995).** Détermination de l'acidité titrable en chimie VII 3 B. Edition: Paris p 7896.
- AFNOR. (1985).** Contrôle de la qualité des produits laitiers-Analyses physiques et chimiques, 3ème édition.
- AFNOR. (1993):** Contrôle de la qualité des produits alimentaires : Lait et produits laitiers : analyses physicochimiques., Paris La Défense., 4e éd., 581 p.
- AFNOR méthodes d'analyse, AFNOR, paris, 1998.AFNOR, 1986.. (1980).** Lait produit laitiers.
- Ammon H.P.T., Safayhi H., Mack T., Sabieraj J. (1993).** Mechanism of antiinflammatory actions of curcumin and boswellicacids.*Journal of Ethnopharmacology*.38: 113-119.
- AOAC.(2000).***Official Methods of Analysis (13th edn). Association of Official Analytical Chemist : Washington, DC.*
- APGIII. (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants: APGII. *Bot. J Linn.Soc.* 141(4): 399-436.
- Baker J.T., Borris R.P., Carté B., Cordell G.A., Soejarto D.D., Cragg G.M., Gupta M.P., Iwu M., Madulid D., Tyler V. (1995).** Natural product drug discovery and development: new perspectives on international collaboration. *J Nat Prod* ; 58(9):1325-57.
- Batlouni M. (2010).** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cardiovascular, cerebrovascular and renal effects. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 94(4): 522–563.
- Beloued A. (1998).** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires (Alger), 277p.
- Bentahar A, Khennouf S, Bouaziz A, Djidel S. 2020.** Phenolic content and antioxidant activity of ethanolic extracts from *Citrus sinensis* L. and *Citrus reticulata* L. fruits. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 10(5) : 308-313.
- Bermudez-Aguirre D., Mawson R., Versteeg K., Barbosa-Canovac G.V.(2009).** Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments.*J. Food Qual*, 32, 283–302. [CrossRef]
- Bertrand B. (2010).** Les secrets de l'ortie. Collection Le Compagnon Végétal. Ed. Terran. 222p.
- Bipea. (1976).***Recueil des Méthodes d'Analyse des Commautés Européennes. BIPEA :Genevilliers ; 51-52.*
- Bougar, N.,Belkacem Z.(2016).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et anti-bactérienne de l'extrait de la plante urticadioica L (ortie dioïque).Mémoire de Master Chimie Pharmaceutique et Substances Naturelles , Université Djilali Bounaâma ,Khemis Miliana,52 p.
- Bourgeois C.M. &Leveau J.Y. (1980).** Technique d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaire. Tome3., Edition. Tec et Doc. Paris. France.
- Bozin B., Mimica-Dukic N.,Samojlik I. (2008).**Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae).*Food Chemistry*., 111:925–929.

- Burt, S. (2004).** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223–253. [CrossRef] [PubMed]
- Candais, C. (2019).** Le retour a la nature avec la cueillette de plantes sauvages alimentaires bienfaits ou dangers : étude bibliographique [thèse de doctorat en pharmacie Université de Nants].
- Chavoutier, P. L., Bouchet, J.-Y. & Richaud, C. (2000).** Reproductibilité et fiabilité des mesures périmétriques d'un membre inférieur sain. *Annales de Kinésithérapie*, 27(1), 3–7.
- Chrubasik S. and Eisenberg E. (1999).** Treatment of Rheumatic Pain with Medicine in Europe. Part 2, Urticadioica L. *Pain Clinic*, 11 (3), 179-185.
- Delahaye, J. (2015).** Utilisations de l'ortie-Urticadioica L. : étude bibliographique [Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Rouen].
- Delvaille, A. 2013.** Toutes les vertus d'un produit miracle: l'ortie. Artemis. Losange.
- Divirgilio N., Papazoglou P.E., Jankauskiene Z., Di Lonardo S., Praczyk M., Fleurentin J, Hayon J-C. (2008).** Plantes médicinales: traditions et thérapeutique. Rennes: Éd. Ouest-France, 104-105.
- Draghi, F. (2005).** L'ortie dioïque (Urticadioica L.) : étude bibliographique [Thèse de doctorat en pharmacie. Université de HenriePoincar Nancy].
- Dubois, M.K.A., Gilli, Y.K., Hamilton, P.A. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances *Anal And chem*, 28 :350-356.
- Gaziano J.M et Gibson C.M. (2006).** Potential for drug-drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *Am J Cardiol*, 97: 23-9.
- Henanou R, Zaghez N. 2019.** Étude de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos Scoparius* « Guezzah ». Mémoire de Master. Université de Biskra.
- Jain DP, Pancholi SS, Rakesh PR. 2011.** Synergistic antioxidant activity of *green tea* with some herbs. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 2(3) :177–183.
- Jensen, R.G. (2020).** Handbook of Milk Composition; Academic Press: New York, NY, USA, 1995; Available online: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9620789> .
- Konrad, L., Müller, H. H., Lenz, C., Laubinger, H., Aumüller, G., & Lichius, J. J. (2000).** Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (Urticadioica) extract. *Planta medica*, 66(01), 44-47.
- Langlade, V. (2010).** L'ortie dioïque, Urticadioica L. : étude bibliographique [Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Nantes].
- Lapied L. & Petransxiene D. (1981).** La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers. Edition : Tech et Doc, Lavoisier. Paris. P: 228.

- Lhuillier, A (2007).** Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook. F ex Oliver, *Agauria palyphylla* Baker (Eriacaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse. Spécialité Agroressources. 200 p
- Limani, D., Aksil, N. (2016).** Activité antioxydante et antibactérienne d'extraits de feuilles d'*Urticadioica* L. ainsi que l'activité antibactérienne de mycoendophytes isolés à partir de ces feuilles , Mémoire de Master Biotechnologie microbienne, Université Mouloud Mammeri, TIZI-OUZOU, 70 p .
- Lobna, M., Wiem, T., & Ahmed, L. (2017).** New insights of Nettle (*Urtica* sp.): Antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Medicinal Plants Research*, 11(4), 73-86.
- Machado, S.G.; Baglinière, F.; Marchand, S.; Van Coillie, E.; Vanetti, M.C.; De Block, J.; Heyndrickx, M. (2017)** .The biodiversity of the microbiota producing heat-resistant enzymes responsible for spoilage in processed bovine milk and dairy products. *Front. Microbiol.* 8, 302. [CrossRef]
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, 79, 727-747.
- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89; p: 411-420.
- Nahata, A., Dixit, V., 2012.** Ameliorative effects of stinging nettle (*Urticadioica*) on testosterone-induced prostatic hyperplasia in rats. *Andrologia* 44, 396–409.
- Oyedmi S O, Afolayan A J. 2011.** In vitro and in vivo Antioxidant Activity of Aqueous Leaves Extract of *Leonotis (L.)* R.Br. *International Journal of Pharmacology*, 7(2) :248-256.
- Ribéreau-Gayon P. 1968.** *Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris. 254p.*
- Ruiz, G. (2005).** Extraction, détermination structurale, et valorisation chimique de phyco-colloïdes d'algues rouges. Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences et Techniques, discipline: Chimie appliquée, chimie de substances naturelles. Université de Limoges. France. 258p.
- Sadelli, N., Oulmi, A., 2013:** Etude des paramètres physico-chimiques et analyses microbiologiques du lait pasteurisé conditionné fabriqué par l'unité ORLAC d'Amizour. Mémoire de Master en Biotechnologies, Agro Ressources Aliment et Nutrition., *Université Abderrahmane MIRA de Bejaia.*, Pp18-29.
- Sass-Kiss A, Kiss J, Milotay P, Kerek MM, Toth-Makus M. 2005.** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables, *Food Research International*, 20: 1023-1029.
- Sayed-ahmad, B., Hijazi, A., Fayyad, K. H., Rammal, H., Kobeissy, A., & Badran, B. (2014).** Extraction, phytochemical screening, chemical quantification and identification of bioactive compounds from Lebanese *Urticadioica*. *Am J Pharm Tech Res*, 4(2), 591-604.
- Schaffner W. (1992).** Les plantes médicinales et leurs propriétés. Manuel d'herboristerie. Delachaux et Niestlé. 215p.
- Semwal, S., Mukhija, M., & Joshi, B. C. (2015).** Antioxidant potential and total phenolic content of *Urticadioica* (whole plant). *Journal of Applied Pharmacy*, 7, 120-128.

- Seow, Y.X.; Yeo, C.R.; Chung, H.L.; Yuk, H.-G. (2014)** . Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 625–644. [CrossRef]
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965)**. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdicphosphotungstic acids reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144–158.
- Soukkou, H., Dourdour, I., Lebsir, S., & Zabaïou, N. E. (2019)**. *Évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique d'Urtica dioica L.*, Mémoire de Master Sciences pharmacologiques, Université de Jijel, Jijel, 50 p.
- Tahri A., Yamani S., Legssyer A., Aziz M., Mekhfi H., Bnouham M., Ziyat A. (2000)**. Acute diuretic, natriuretic and hypotensive effects of a continuous perfusion of aqueous extract of *Urtica dioica* in the rat. *J. Ethnopharmacol.* 73: 95–100.
- Tayel A. et El- Tras W. (2012)**. Plant extracts as potent biopreservatives for salmonella typhimurium control and quality enhancement in ground beef. *Journal of Food Safety*, 32(1), 115–121.
- Tissier, Y. 2011**. Les vertus de l'Ortie. Tredaniel. Le Courrier du Livre. France
- Torres, R. et al. (2006)**. Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry* 67; Ed: ELSEVIER; p: 984-987.
- Upton R. (2013)**. Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine. *Journal of Herbal Medicine.* 3(1):9-38.
- Vajic U-J., Grujic-Milanovica J., Miloradovic Z., Jovovic D., Ivanov M., Danijela K., Katarina S., Bugarski B., Mihailovic-Stanojevic N. (2018)**. *Urtica dioica* L. leaf extract modulates blood pressure and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *Phytomedicine*. 46: 39-45.
- Valiathan M.S. (1998)**. Healing plant. *Curr. Sci.*, 75: 1122-1126.
- Wichtl M., Anton R. (2003)**. Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. *ime* édition française par R. Anton Paris: éd. Tee & Doc; Cachan: éd. Médicales Internationales, 692p.
- Wielgusz K. (2015)**. The potential of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) as a crop with multiple uses. *Industrial Crops and Product*, 68: 42-49.
- Yildirim, A., Mavi, A., Kara., A.A. (2001)**. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49; p: 411-420
- Yousef, N.S.; El-Ghandour, A.; El-Shershaby, S.S.A. (2019)**. Antimicrobial Activity of Fig and Olive Leaves Extracts. *J. Food Dairy Sci.* 10, 503–508. [CrossRef]
- Zhang H, Li N, Li K, Li P (2014)**. Protective effect of *Urtica dioica* methanol extract against experimentally induced urinary calculi in rats. *Molecular Medicine Reports.* 10: 3157-3162.

Références bibliographiques

Ziyaina, M.; Govindan, B.N.; Rasco, B.; Coffey, T.; Sablani, S.S. (2018) .Monitoring shelf life of pasteurized whole milk under refrigerated storage conditions: Predictive models for quality loss. *J. Food Sci.* 83, 409–418. [CrossRef]

Annexe

Annexe 1 : Les courbes d'étalonnages

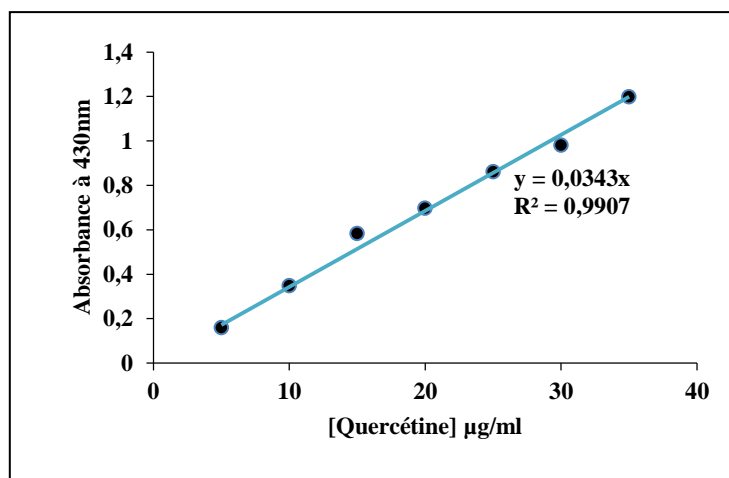


Figure 1a : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

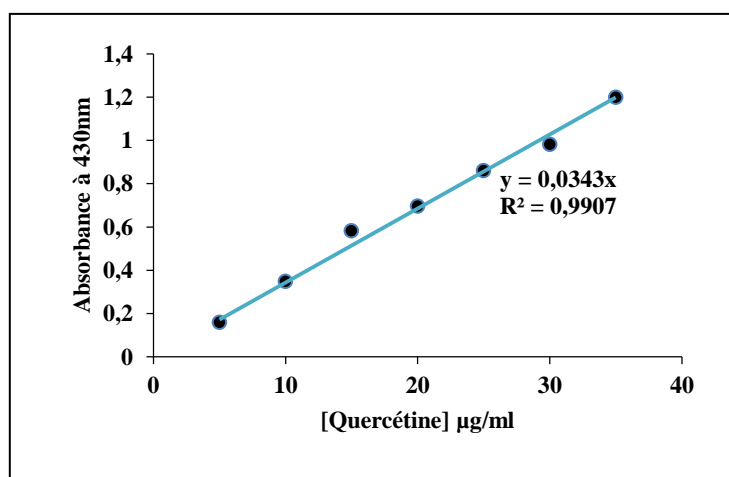


Figure 1b : Courbe d'étalonnage de la quercétine

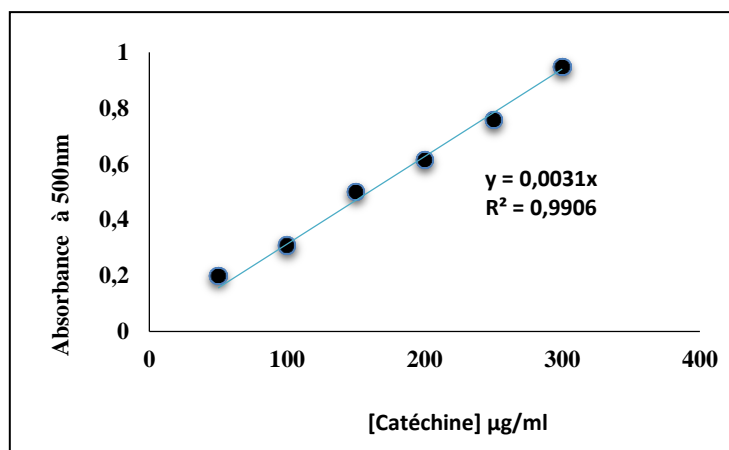


Figure 1c : Courbe d'étalonnage de la catéchine

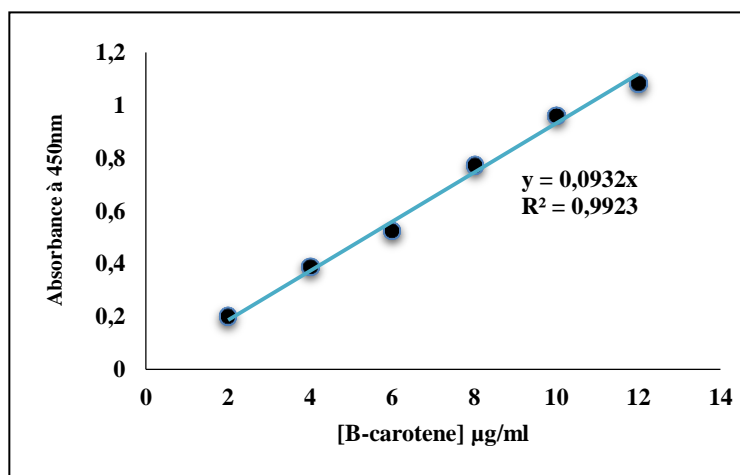


Figure 1d : Courbe d'étalonnage de β -carotène

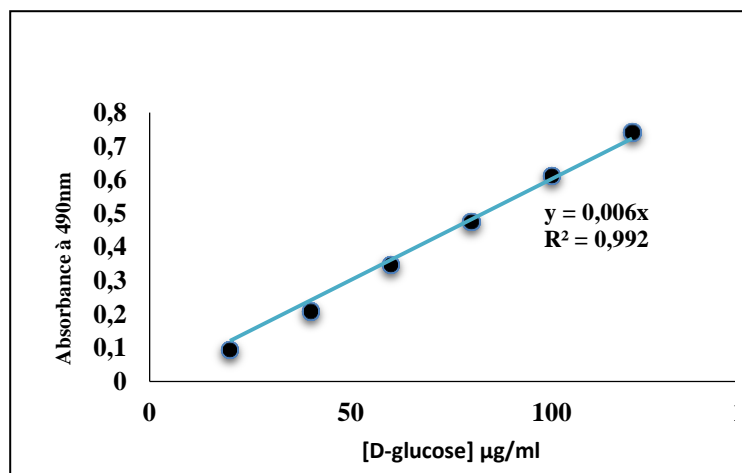


Figure 1e: Courbe d'étalonnage de D-glucose

Annexe 2 : Photos de la partie phytochimique.

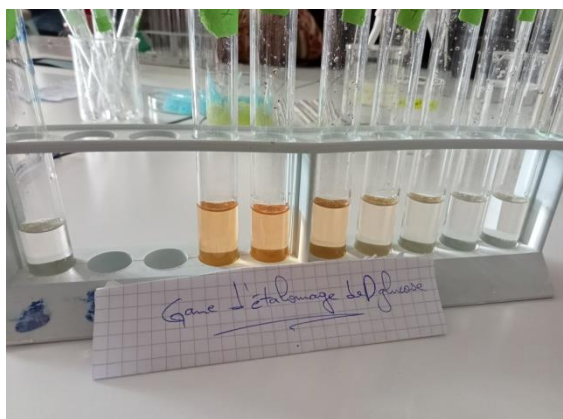


Figure 2.a : Gamme d'étalonnage de D-glucose.



Figure 2.b : Gamme d'étalonnage des tannins condensés.



Figure 2.c : Gamme d'étalonnage de B-carotène.



Figure 2.d : Gamme d'étalonnage de vitamine C.



Figure 2.e : Gamme d'étalonnage des polyphénols.



Figure 2.f : Gamme d'étalonnage des flavonoïdes.

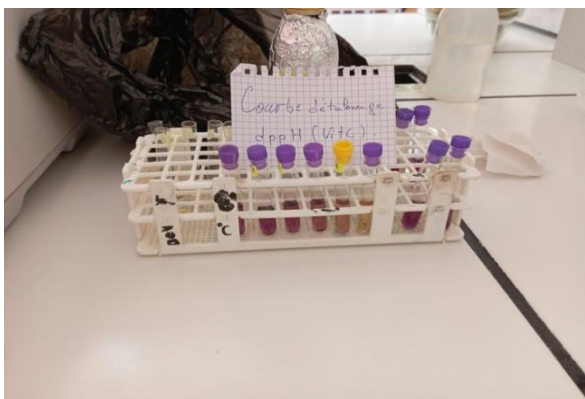


Figure 2g : Gamme d'étalonnage de l'activité antiradicalaire.

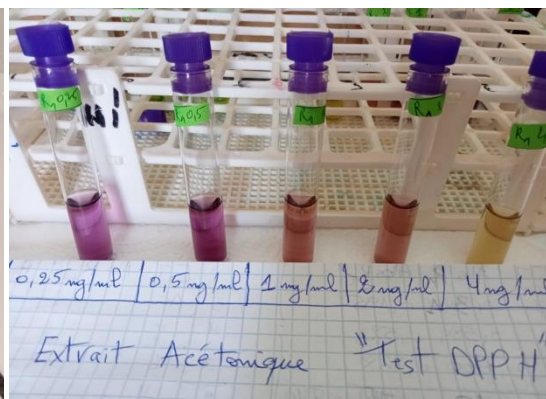


Figure 2h : Différents concentrations du test DPPH (extrait acétonique).

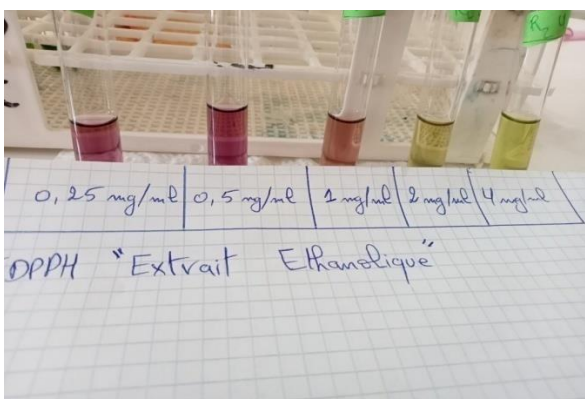


Figure 2i : Différents concentrations du test DPPH (extrait éthanolique).

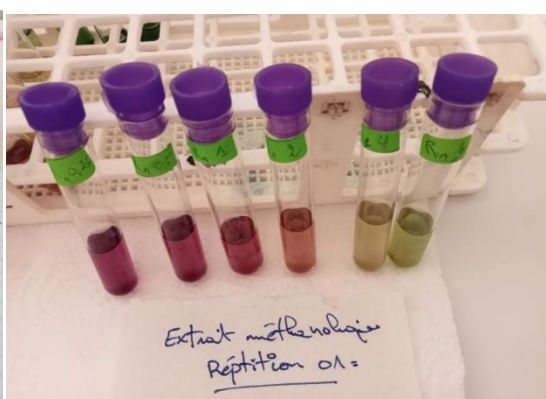


Figure 2j : Différents concentrations du test DPPH (extrait méthanolique).



Figure 2k : Différents concentrations du pouvoir réducteur (extrait éthanolique).



Figure 2l : Différents concentrations du pouvoir réducteur (extrait acétonique).

Annexe 3 : Photos de la partie lait.



Figure 3a : Mesure de ph.



Figure 3b : Détermination de la conductivité.



Figure 3c : Détermination de la viscosité.



Figure 3d : Lactodensimètre



Figure 3e : Détermination de l'acidité.

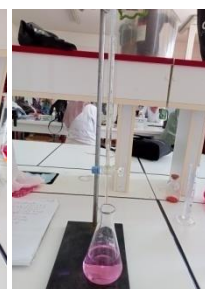
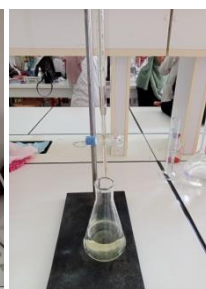


Figure 3f : Etapes de la détermination du taux de l'azote protéique dans le lait en absence et en présence de l'extrait.



Figure 3g : Centrifugeuse Gerber pour la détermination du taux de matière grasse du lait avec et sans l'extrait.

Résumé

L'objectif du présent travail est l'étude physicochimique, phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Urtica dioica* L. et leur application sur du lait commercial stérilisé. L'extraction des substances actives a été réalisée en utilisant le méthanol 70%, l'éthanol 70%, et l'acétone 70%. L'évaluation phytochimique a été effectuée par le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des caroténoïdes et des tanins condensés. L'activité antioxydante a été testée par le piégeage du radical DPPH et le pouvoir réducteur. L'analyse physicochimique a révélé un taux d'humidité égale à 8,32 % et un taux de cendre de 18,11 %. La matière grasse a montré une faible teneur soit 2,24%. Les teneurs les plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes ont été enregistrées dans l'extrait méthanolique avec des concentrations moyennes de $68,23 \pm 1,628$ mg EAG/g ES et de $25,59 \pm 0,76$ mg EQ /g d'ES, respectivement. Alors que la teneur la plus élevée en tanins condensés a été détectée dans l'extrait acétonique ($26,11 \pm 3,35$ mg EC/g ES). L'espèce d'*Urtica dioica* L. est également riche en caroténoïdes ($7,76 \pm 1,38$ µg E β-carotène/mg d'ES). L'extrait méthanolique a présenté la meilleure capacité réductrice avec une $EC_{50} = 7,34 \pm 0,13$ mg/ml. En revanche, l'extrait éthanolique a montré une forte activité antiradicalaire avec une $IC_{50} = 1,76 \pm 0,07$ mg/ml. Les résultats de l'étude de l'effet des différents extraits d'*Urtica dioica* L. Sur le lait commercial stérilisé sont très encourageants pour une éventuelle utilisation de cette plante comme agent conservateur naturel dans le domaine alimentaire.

Mots clés : *Urtica dioica* L., analyse physico-chimique, phytochimie, activité antioxydante, lait stérilisé.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو الدراسة الفيزيائية والكيميائية النباتية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات *Urtica dioica* L. وتطبيقها على الحليب التجاري المبستر. تم استخلاص المواد الفعالة باستخدام ميثانول 70%، إيثانول 70%، أسيتون 70%. أجري التقييم الكيميائي النباتي عن طريق تحديد مجموع البوليفينول، الفلافونويد، الكاروتينات والعفص المكثف. تم اختبار النشاط المضاد للأكسدة عن طريق الكسح الجذري لـ DPPH وتقليل الطاقة. أظهر التحليل الفيزيائي الكيميائي محتوى رطوبة يساوي 8.32% ومحتوى رماد بنسبة 18.11%. بينما أظهر محتوى الدهون محتوى منخفض بلغ 2.24%. تم تسجيل أعلى مستويات البوليفينول والفلافونويد في المستخلص الميثانولي بمتوسط تركيزات 68.23 ± 1.628 مجم EAG / جم ES و 25.59 ± 0.76 مجم EQ / جم ES على التوالي. بينما وجد أعلى محتوى من العفص المكثف في مستخلص الأسيتون (3.35 ± 26.11 ملجم EC / جم ES). غني أيضًا بالكاروتينات (1.38 ± 7.76 ميكروغرام E-كاروتين / ملجم من ES). قدم المستخلص الميثانولي أفضل قدرة مخفضة مع $EC_{50} = 7.34 \pm 0.13$ مجم / مل. من ناحية أخرى، أظهر المستخلص الإيثانولي قوة نشاط مضاد للجراثيم مع $IC_{50} = 1.76 \pm 0.07$ مجم / مل. نتائج دراسة تأثير المستخلصات المختلفة من *Urtica dioica* L. على الحليب التجاري المبستر مشجعة للغاية للاستخدام المحتمل لهذا النبات كمادة حافظة طبيعية في مجال الغذاء.

الكلمات المفتاحية: *Urtica dioica* L.، التحليل الفيزيائي والكيميائي، الكيمياء النباتية، الفعالية المضادة للأكسدة، الحليب المبستر.

Abstract

The main objective of this work is to study the physicochemical, phytochemical and to evaluate the antioxidant activity of *Urtica dioica* L. plant extract and their application in commercial sterilized cow's milk. The extraction was carried out using methanol 70% ethanol 70%, and acetone 70%. Phytochemical evaluation was carried out by measuring total polyphenols, flavonoids, carotenoids and condensed tannins. Antioxidant activity was tested by DPPH radical scavenging activity and reducing power. The physicochemical analysis revealed a moisture content equal to 8.32% and an ash content of 18.11%. Fat showed a low content of 2.24%. The highest levels of polyphenols and flavonoids were recorded in methanolic extract with concentrations of 68.23 ± 1.628 mg GAE/g DE and 25.59 ± 0.76 mg Q E/g DE, respectively. While the highest content of condensed tannins was detected in acetone extract (26.11 ± 3.35 mg EC/g DE). *Urtica dioica* L. is also rich in carotenoids (7.76 ± 1.38 µg E β-carotene/mg EC). Methanolic extract presented the best reducing capacity with an $EC_{50} = 7.34 \pm 0.13$ mg/ml. While, ethanolic extract showed a strong antiradical activity with an $IC_{50} = 1.76 \pm 0.07$ mg/ml. This study showed very promising results regarding the use of *Urtica dioica* L. extracts on sterilized milk as a natural preservative in the food industry.

Key words: *Urtica dioica* L., physico-chemical analysis, phytochemistry, antioxidant activity, sterilized milk.