



Université Abdelhamid BEN BADIS Mostaganem

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département d'Agronomie

Mémoire de fin d'études

Présenté par

M^{lle} Toubal Asmaa

Pour l'obtention du diplôme de

Master

Spécialité : Contrôle de qualité des aliments.

Thème

Effets antimicrobiens de l'extrait à l'Héxane de *Thymus vulgaris* (Thym)
récolté dans la région de Naama sur la qualité et la stabilité d'un lait fermenté
aliquement type yaourt ferme

Soutenu publiquement le 02/07/2017

Devant le Jury

Mr. SELSELET-ATTOU. G	Professeur	Président	U. Mostaganem
Mr. AIT SAADA. D	MCA	Encadreur	U. Mostaganem
Mr. BOUCHERF. D	Docent	Co-Encadreur	U. Mostaganem
Mr. BEKADA. A	Professeur	Examineur	U. Tissemsilt

Année Universitaire : 2016-2017

Travail réalisé au niveau du Laboratoire de Chimie I SNV- Université de
Mostaganem(Algérie)

Remerciements

Je tien à remercier en premier lieu, **Allah**, le tout puissant de m'avoir donné courage et santé pour achever ce travail.

Je tien à remercier et rendre hommage à tout ceux qui de près ou de loin ont contribué à ma bonne formation.

Je tiens à remercier, Mrs Ait saada. D et Boucherf. D, d'avoir bien voulu diriger ce travail de recherche.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur Belkhelfa. M, Technicien supérieur en chimie industrielle, ainsi que Monsieur Souane. A, responsable des laboratoires à l'université de Mostaganem.

Dédicaces

A mes chers parents.

A mon frère Amine.

A mes sœurs : Amina et ses enfants (Ali, Meriem, Abdelaziz),

et à ma petite sœur Nour el houda.

A mes chères amies Rabia et Nafissa.

A tous mes frères et mes sœurs de la promotion Master II

CQA 2016/2017.

Liste des tableaux

Tableau 01. Réglementation concernant la qualité d'acide ou le pH dans le yaourt	13
Tableau 02. Composition physique du lait de vache et propriétés physiques	14
Tableau 03. Caractères physicochimiques de <i>Streptococcus thermophilus</i>	24
Tableau 04. Classification botanique de <i>Thymus vulgaris L.</i>	34
Tableau 05. Localisation des principales espèces du thym en Algérie	35
Tableau 06. Teneur en composés phénoliques (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du <i>Thymus vulgaris L.</i>	37
Tableau 07. Flavonoïdes présents dans la partie florale de <i>thymus vulgaris L.</i>	38
Tableau 08. Evolution de pH des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de <i>thymus vulgaris</i>	56
Tableau 09. Evolution de l'acidité (° D) des laits fermentés additionnés d'extraits à l'héxane de <i>thymus vulgaris</i>	58
Tableau 10. Evolution de la viscosité (Kg/ms) des laits fermentés additionnés d'extraits à l'héxane de <i>thymus vulgaris</i>	60
Tableau 11. Evolution du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> (N.10 ⁴ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extraits à l'héxane de <i>thymus vulgaris</i>	62
Tableau 12. . Evolution du nombre de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (N.10 ⁴ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extraits à l'héxane de <i>thymus vulgaris</i>	64
Tableau 13. Variation du goût acide des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i>	65
Tableau 14. Variation du goût de fraîcheur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i>	66
Tableau 15. Variation de la cohésivité des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i>	67

Tableau 16. Variation de l'adhésivité des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris* **68**

Tableau 17. Variation de l'odeur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris* **68**

Tableau 18. Variation de l'arrière-goût des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris* **69**

Tableau 19. Variation de la couleur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris* **70**

Liste des figures

- Figure 01.** Diagramme de fabrication des yaourts **17**
- Figure 02.** Voie de conservation de Méthionine en Acétaldéhyde par *Streptococcus thermophilus* **28**
- Figure 03.** Facteurs stimulants la coopération inter espèce entre *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* **30**
- Figure 04.** Evolution de pH des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris* **55**
- Figure 05.** Evolution de l'acidité Dornic des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris* **57**
- Figure 06.** Evolution de la viscosité des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris* **59**
- Figure 07.** Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris* **61**
- Figure 08.** Evolution du nombre de *Lactobasillus bulgaricus* ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris* **63**

Liste des abréviations

BHA : Butyl hydroxyanisole.

BHT : Butyl hydroxytoluène.

CNIEL : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière.

EPS : Exopolysaccharides.

FAO : Food and Agriculture Organisation.

FIL : Fédération International Laitière.

MRS : Man, Rogosa and Shape medium.

NaCl : Chlorure de sodium.

°C : Degré Celsius.

°D : Degré Dornic.

PH : potentiel d'hydrogène.

S/L : rapport de souche *Streptococcus thermophilus* sur *Lactobacillus bulgaricus*.

UFC : Unité format colonie.

Plan de travail

Introduction générale	06
------------------------------	-----------

Partie01 : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le yaourt

1- Définition, historique et réglementation	11
1-1- Dénomination du produit	11
1-2-Types de produit	11
1-3-Types de ferment utilisé	11
1-4- La quantité de ferment contenue dans le produit finit	11
1-5- La viabilité de la flore lactique	11
1-6- Ingrédients laitiers	11
1-7- Ingrédients non laitiers	11
1-8- PH	12
1-9- Taux de matière grasse	12
1-10- Teneur en protéines	12
2- Différents types de yaourt	12
2-1-Yaourt étuvé	12
2-2-Yaourt brassé	12
3- Les matières premières et ingrédients	13
4- Procédés de fabrication du yaourt	15
4-1- Préparation du lait	15
4-1-1- Addition de poudre	15
4-1-2- Concentration du lait	15

4-2- Homogénéisation	15
4-3- Pasteurisation	16
4-4- Ensemencement	16
4-5- Conditionnement des yaourts	16
4-6- Etuvage	18
4-7- Arrêt de la fermentation (Réfrigération)	18
5- Structure et comportement rhéologique des yaourts	18
5-1- Structure des yaourts	18
5-1-1- Gélification acide	18
5-2- Comportement rhéologique	20
5-2-1- Propriétés rhéologiques des yaourts	20
5-2-2- Méthodes de caractérisation	21
6- Les bactéries caractéristiques du yaourt	22
6-1- Caractéristiques générales des bactéries du yaourt	22
6-1-1- <i>Streptococcus thermophilus</i>	22
6-1-2- <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	24
6-2- Intérêt et fonction des bactéries du yaourt	25
6-2-1- Production d'acide lactique	25
6-2-2- Activité protéolytique	26
6-2-3- Activité aromatique	26
6-2-4- Activité texturante	27
6-3- Comportement associatif des deux souches	28

Chapitre II : *Thymus vulgaris*

1-Généralité sur le <i>thymus vulgaris</i>	32
1-1-Espèces	32
1-2- Composants	33
1-3-Culture	33
2-Description botanique du thym	34
3-Description géographique	36
4-Composition chimique	36
5-Utilisation du thym	38
6-Effet du stade de développement et période de cueillette de la plante	39
7-Activité antibactérienne et/ou antimicrobienne	40
8-Activité antifongique	42
9-Activité Antioxydante	44
10-Activité insecticide	45

Partie 02: Matériels et méthodes

1- Objectifs	48
2- Région de prélèvements préliminaires du matériel végétal	48
3- Extraction des composés bioactifs	49
4- Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi d'extraits de thym	50
4-1- Protocole expérimental	50
4-2- Préparation des levains	50
4-3- Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux	51

5- Mesures et contrôles	51
5-1- Paramètres physicochimiques	52
5-1-1- Acidité	52
5-1-2- PH	52
5-1-3- Viscosité dynamique	52
5-2- Analyses microbiologiques	52
5-3- Test organoleptique	52
6- Traitement statistique	53

Partie 03: Résultats et discussion

1- Résultats	55
1-1- Analyses physicochimiques et microbiologiques	55
1-1-1- PH	55
1-1-2- Acidité	56
1-1-3- Viscosité	58
1-1-4- <i>Streptococcus thermophilus</i>	60
1-1-5- <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	62
1-2- Test organoleptique	64
1-2-1- Goût acide	64
1-2-2- Goût de fraîcheur	65
1-2-3- Cohésivité	66
1-2-4- Adhésivité	67
1-2-5- Odeur	68

1-2-6- Arrière-goût	69
1-2-7- Couleur	69
2- Discussion	71
Conclusion	
Références	
Annexes	
Résumé	

Introduction

La consommation apparente de produits laitiers varie fortement d'un continent à un autre, du fait de cultures alimentaires différentes. Si elle est en moyenne de 104Kg par habitant en 2010 à l'échelle de la planète, elle est de 43Kg en Afrique, de 67Kg en Asie et de 290Kg par habitant dans les 27 pays de l'Union Européenne (FAO, 2011).

Les besoins algériens en lait et produits laitiers sont considérables. Avec une consommation moyenne de 110 litres de lait par habitant et par an, estimée à 115 litres en 2010, l'Algérie est le plus important consommateur de lait dans le Maghreb.

La consommation nationale s'élève à environ 3 milliards de litres de lait par an, la production nationale étant limitée à 2,2 milliards de litres, dont 1,6 milliard de lait cru. C'est donc près d'un milliard de litres de lait qui est ainsi importé chaque année, majoritairement sous forme de poudre de lait". On recense 19 laiteries publiques et 52 laiteries privées. On compte environ 190 000 exploitations laitières, dont 80% sont familiales (Transaction d'Algérie, 2010).

Apports du thème

En Algérie, comme la plupart des pays en développement, le lait fermenté (type yaourt) se distingue par son goût, sa texture, sa qualité rhéologique particulière et surtout sa haute valeur nutritionnelle qui lui permet d'être proposé à l'ensemble des consommateurs et plus facilement demandé que le lait.

Avec les exigences permanentes du consommateur vers la recherche d'un nouveau goût dans les aliments, mais au même temps dépourvus de tout ce qui est additifs chimiques, les industries alimentaires ont été obligées à innover constamment.

Depuis les temps les plus anciens, l'homme a appris à utiliser les ressources végétales que le monde lui offre pour ses besoins élémentaires et pour se nourrir.

L'une des valorisations possibles de cette richesse naturelle, que sont les plantes, et l'extraction de leur composés bioactifs dont (huiles essentielles, flavonoïdes, dérivés de l'acétophénone et triterpènes), produits connus et utilisés par les égyptiens et les grecs, pour leurs propriétés aromatisantes et médicinales.

Vu sa diversité climatique ainsi que la nature de ses sols, notre pays recèle des ressources végétales inestimables (**Haddaf et al., 2004**).

Le thym est parmi les plantes répandues en Algérie et dont notre pays peut tirer profit. Cette plante est très recherchée par les industries de l'aromatization, de la parfumerie, des cosmétiques et de pharmacologie. En effet, les huiles essentielles, les polyphénols, les flavonoïdes ont suscité ces dernières années un intérêt particulier des chercheurs pour l'importance du rendement et l'intérêt thérapeutique qu'elles présentent.

Les nouvelles applications de cette plante que ce soit dans le domaine pharmaceutique, de l'agro-alimentaire ou de l'industrie chimique, ont amené les chercheurs à étudier les activités : antimicrobienne, antioxydante, antibactérienne, antifongique, insecticide et conservatrice de cette plante (**Haddaf et al., 2004**).

L'Algérie compte un patrimoine végétal large et varié, refermant entres autres, le thym. Malgré cela, très peu d'investigations concernant cette espèce sont rapportées dans la littérature. Il en résulte que d'autres travaux expérimentaux sur le thym s'avèrent nécessaires. Cela fera l'objet de notre contribution à savoir : l'étude de l'effet antimicrobien de l'extrait à l'Héxane de *thymus vulgaris* (thym) récolté dans la région de Naama sur la qualité et la stabilité d'un lait fermenté alicament de type yaourt ferme.

Objectifs

Pour cela, nous nous somme proposé d'essayer de connaître le comportement in vitro des souches de levains lactiques vis-à-vis des inhibiteurs de croissance tels les polyphénols, les flavonoïdes et bien d'autres composés bioactifs contenues dans l'une des plantes autochtones poussant à l'état sauvage dans certaines régions du pays et très largement utilisées en médecine traditionnelle par la population à savoir le **Thym (Thymus vulgaris)**.

D'une façon générale, les objectifs escomptés à travers cette étude expérimentale s'articulent autour de 02 points essentiels :

1- Procéder à une extraction des principaux composés bioactifs de la plante par usage d'un solvant polaire à savoir : l' Héxane.



2- Essayer d'incorporer les extraits de *Thymus vulgaris* dans la fabrication d'un lait fermenté type yaourt ferme en vue de suivre leurs effets sur la stabilité et la qualité des produits transformés (lait fermentés) durant 21 jours de conservation au froid à 4 °C.

Problématique

De ce qui précède, nous sommes amenés à poser la question suivante : Est-ce que l'utilisation des extraits de plante comme adjuvant dans certains produits laitiers (tel le yaourt par exemple) peuvent il avoir un effet sur la croissance des ferments lactiques tels, que les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* qui présentent des intérêts variés (industriel et nutritionnel) ?

Hypothèses

1) L'utilisation des extraits de plante comme adjuvant dans certains produits laitiers (yaourt) a un effet sur la croissance des ferments lactiques tels, que les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* et sur la stabilité et la qualité des produits durant 21 jours de conservation au froid à 4°C.

Cette hypothèse a nous a amène a posé deux autres sous hypothèses :

1: H₁ L'extrait de *Thymus vulgaris* peut être utilisé comme adjuvant dans certains produits laitiers (yaourt) pour fabriquer un alicament ayant des vertus thérapeutiques particulières.

2 :H₂ L'utilisation de l'extrait de *Thymus vulgaris* comme adjuvant dans certains produits laitiers (yaourt) pour fabriquer un alicament est impossible.

2) L'utilisation des extraits de plante comme adjuvant dans certains produits laitiers (yaourt) n'a pas un effet sur la croissance des ferments lactiques tels, que les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Méthodes

Pour réaliser ce travail de recherche, nous avons utilisé les méthodes suivantes :

- La méthode descriptive.
- La méthode hypothético-inductive.



Première partie

Etude

Bibliographique

Chapitre I

Généralité sur le yaourt

1) Définition, historique et réglementation:

C'est dans la catégorie des laits fermentés obtenus par action de bactéries lactiques thermophiles que se classe le yaourt, il est obtenu, selon la fédération internationale laitière (FIL), par le développement des seules bactéries lactiques *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, qui doivent êtreensemencées simultanément et trouvées vivantes dans le produit à raison d'au moins 10^7 bactéries/g (FIL, 2009).

Les critères pris en compte par le *codex alimentarius* et la FIL dans la réglementation du yaourt sont les suivants :

1.1) Dénomination du produit:

Elle varie selon les langues, mais les termes les plus utilisés sont « youghurt », « yoghurt » ou « yaourt ».

1.2) Types de produit: ils sont définis souvent en fonction de leur teneur en matière grasse ou de l'adjonction éventuelle d'ingrédients (yoghourt partiellement écrémé ou maigre, yoghurt écrémé, le yoghurt sucré et le yoghurt nature).

1.3) Type de ferment utilisé: selon la FIL, et de nombreux pays, la dénomination « yaourt » nécessite l'utilisation obligatoire et exclusive des deux ferments caractéristiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* (Luquet et Carrieu, 2005).

1.4) La quantité de ferment contenue dans le produit fini: la FIL fixe la quantité de ferments vivants, égale à 10^7 bactéries par gramme rapportés à la partie lactée jusqu'à la date limite de consommation.

1.5) Viabilité de la flore lactique: La flore lactique doit être viable pendant tout la durée de vie du produit.

1.6) Ingrédients laitiers: les ingrédients souvent utilisés sont: le lait pasteurisé, écrémé, concentré, en poudre, crème et caséines etc.

1.7) Ingrédients non laitiers: une multitude d'ingrédients peut être incorporée dans le yaourt. Il peut s'agir par exemple de fruits sous différentes formes (purée, jus, pulpe, sirop etc.), de céréales, de légumes ou de sucre. La quantité d'ingrédients non

laitiers est fixée par le *codex alimentarius*, la FIL et la plupart des pays moins de 30% en poids du produit fini.

1.8) PH: la FIL préconise une teneur de 0.7% d'acide lactique. Cette valeur est respectée dans certains pays avec une variabilité de 0.6 à 15%. Certaines normes imposent un pH inférieur à 4.5 ou 4.6 (**Tableau 01**).

1.9) Taux de matière grasse: il doit être minimum, inférieur à 3% (m/m) dans le cas de yaourt (nature, sucré ou aromatisé), compris entre 0.5 et 3% dans le cas des yaourts partiellement écrémés et 0.5% dans les yaourts écrémés.

1.10) Teneur en protéines: la teneur en protéines doit être égale à 2.8% dans le produit fini.

2) Différents types de yaourt

En fonction de la technologie de fabrication, les yaourts sont divisés en deux groupes :

2.1) Yaourt étuvé: dont la fermentation a lieu en pots. Ce sont généralement des yaourts nature ou aromatisés.

2.2) Yaourt brassé: dont la fermentation a lieu en cuves avant le conditionnement. Ce sont généralement des yaourts brassés nature ou aux fruits (**Luquet et Carrieu, 2005**).

Il existe d'autres types de yaourt tels que le yaourt à boire qui est fermenté en cuve, ensuite brassé et abattu avant d'être conditionné (**Danone, 2001**).

Les yaourts et les produits fermentés frais, identifiés comme aliments bénéfiques pour la santé, sont aujourd'hui des produits de grande consommation. Ainsi, selon une enquête du Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière (CNIEL), la production de yaourts et d'autres laits fermentés ne cesse de croître et est parvenue à 1 435 993 tonnes en 2002 (**Paci Kora, 2004**).

Tableau01. Réglementation concernant la quantité d'acide lactique ou le pH dans le yaourt.

Organisme/pays	Normes
FIL	0.7% en poids exprimé en tant qu'acide lactique.
France Portugal Italie	Acide lactique libre > 0.7%.
Espagne	pH < 4.6
Pays-Bas	pH < 4.5
Belgique	< 0.7% exprimé en acide lactique.
Pologne	3.9 < pH < 4.6
Tunisie	0.8% d'acide lactique.
Etats-Unis	Acidité < 0.9% exprimé en acide lactique.
Canada	0.8% d'acide lactique.
Australie	pH < 4.5
Mexique	pH < 4.5
Japon	Aucune réglementation.

(Luquet et Carrieu, 2005).

3) Les matières premières et ingrédients

La principale matière première pour la fabrication des yaourts est le lait dont, pour l'essentiel, le lait de vache. Il est constitué d'environ 88% d'eau et de 12% de matière sèche contenant des glucides, protéines, des lipides et des minéraux (**Tamime et Robinson, 1985**). Le tableau 02 donne la composition du lait de vache.

Afin d'augmenter la viscosité apparente et la consistance des yaourts, la teneur en matière sèche du lait écrémé utilisé est augmentée au préalable jusqu'à 10-12%. Après concentration (par évaporation ou osmose inverse) ou, plus fréquemment, addition de poudre de lait écrémé fortifié ou enrichi.

Tableau02. Composition physique du lait de vache et propriétés physiques.

	Composition g/l	
Eau	905	
Glucides : lactose	49	
Lipides	35	
Matière grasse		34
Proprement dite		0.5
Lécithine (phospholipides)		0.5
Partie insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérols)		
Protides	34	
Caséines		27
Protéines solubles (globuline, albumine)		5.5
Substances azotées non protéiques		1.5
Sels	9	
De l'acide citrique		2
De l'acide phosphorique		2.6
De l'acide chlorhydrique		1.7
Constituants divers	Traces	
Vitamines, enzymes, gaz dissous		
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	

(Mietton et *al.*, 1994).

Dans le cas des yaourts brassés sans matière grasse, des agents de texture (épaississants ou gélifiants) sont souvent ajoutés. Ils améliorent l'apparence, la viscosité et la consistance des yaourts. Les additifs les plus fréquemment utilisés sont : la gélatine, les alginates, les celluloses, les amidons, et les pectines.

Les fruits dans les yaourts sont apportés sous forme de préparations de fruits avec ou sans sucres ajoutés. Les agents de texture, incorporés dans la préparation de fruits,

participent également à l'amélioration de la texture des yaourts. Les fruits les plus consommés sont les fruits rouges et les fruits exotiques (**Vignola, 2002**).

4) Procédés de fabrication du yaourt

La fabrication du yaourt passe par plusieurs étapes (**Figure 01**) ;

4.1) Préparation du lait

Le but de l'extrait sec du lait est d'améliorer la consistance du yaourt. Ainsi les protéines améliorent la texture et masquent l'acidité ; alors que la matière grasse donne une saveur plus douce et plus crémeuse. Ce renforcement en extrait sec du lait s'effectue soit par addition de poudre ou soit par concentration du lait (**Luquet, 1990**).

4.1.1) Addition de poudre

Généralement, le lait est concentré soit avec de la poudre de lait maigre (1à3%), soit avec du lait entier.

4.1.2) Concentration du lait

Cette méthode donne une meilleure consistance et un meilleur goût au produit fini.

Elle est très simple à intégrer dans une ligne de fabrication en continu, par contre, elle est plus chère que l'addition de poudre (**Assche, 1996**).

4.2) Homogénéisation

L'homogénéisation du lait permet d'obtenir des gels plus visqueux avec une capacité de rétention d'eau plus grande et donc moins sujets à la synérèse (**Robinson, 1985**).

Les globules gras néoformés de l'homogénéisation sont stabilisés essentiellement par des caséines qui se comportent comme des pseudo-micelles lors de la fermentation du lait (**Lorient et Cayot, 1997**).

Ces globules forment alors un réseau de gel en interagissant avec d'autres protéines (**Lorient et Cayot, 1997**).

L'homogénéisation s'effectue à des températures très élevées de (85 à 90°C) et à une pression très proche de 250 atmosphères (Guyot, 1992).

4.3) Pasteurisation

Pour détruire tous les germes pathogènes et réduire le taux en germes banaux, le lait est traité thermiquement à une température voisine de 90°C (85°C au minimum), pendant 5 à 10 minutes (Guyot, 1992).

Il s'avère que, l'utilisation d'un lait non thermisé ou légèrement chauffé conduit à des gels acides, dont l'évolution rhéologique du système colloïdales de la fermentation est différent (Lorient et Cayot, 1997).

Les résultats obtenus par (Fox et Mul Vihill, 1994) suggèrent que le chauffage supérieur à 85°C améliore la fermenté des gels acides et diminue leur aptitude à la synérèse lors de la fermentation.

4.4) Ensemencement

C'est l'inoculation dans le lait des deux germes spécifiques du yaourt, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* à des rapports de 1.2 à 2/1 pour le yaourt nature et jusqu'à 10/1 pour les yaourts fruités (Luquet, 1990).

La quantité de culture ajoutée au lait peut être influencée par l'activité des germes, le temps et la température d'incubation (Corvi, 1997).

Ainsi, pour les températures d'incubation de (40 à 50°C), le taux d'ensemencement se situe entre 1 et 3% (Luquet, 1990). En outre, la répartition des germes doit être bonne et régulière dans le lait et l'activité du levain doit atteindre en fin d'incubation 85 à 90D° (Guyot, 1992).

4.5) Conditionnement des yaourts

Le conditionnement des yaourts s'effectue dans deux types d'emballages, en verre ou en plastique. Ainsi, afin que l'opération suivante d'étuvage puisse démarrer dans les meilleures conditions, il est nécessaire de maintenir la température du lait en pots à 45°C (Luquet, 1990).

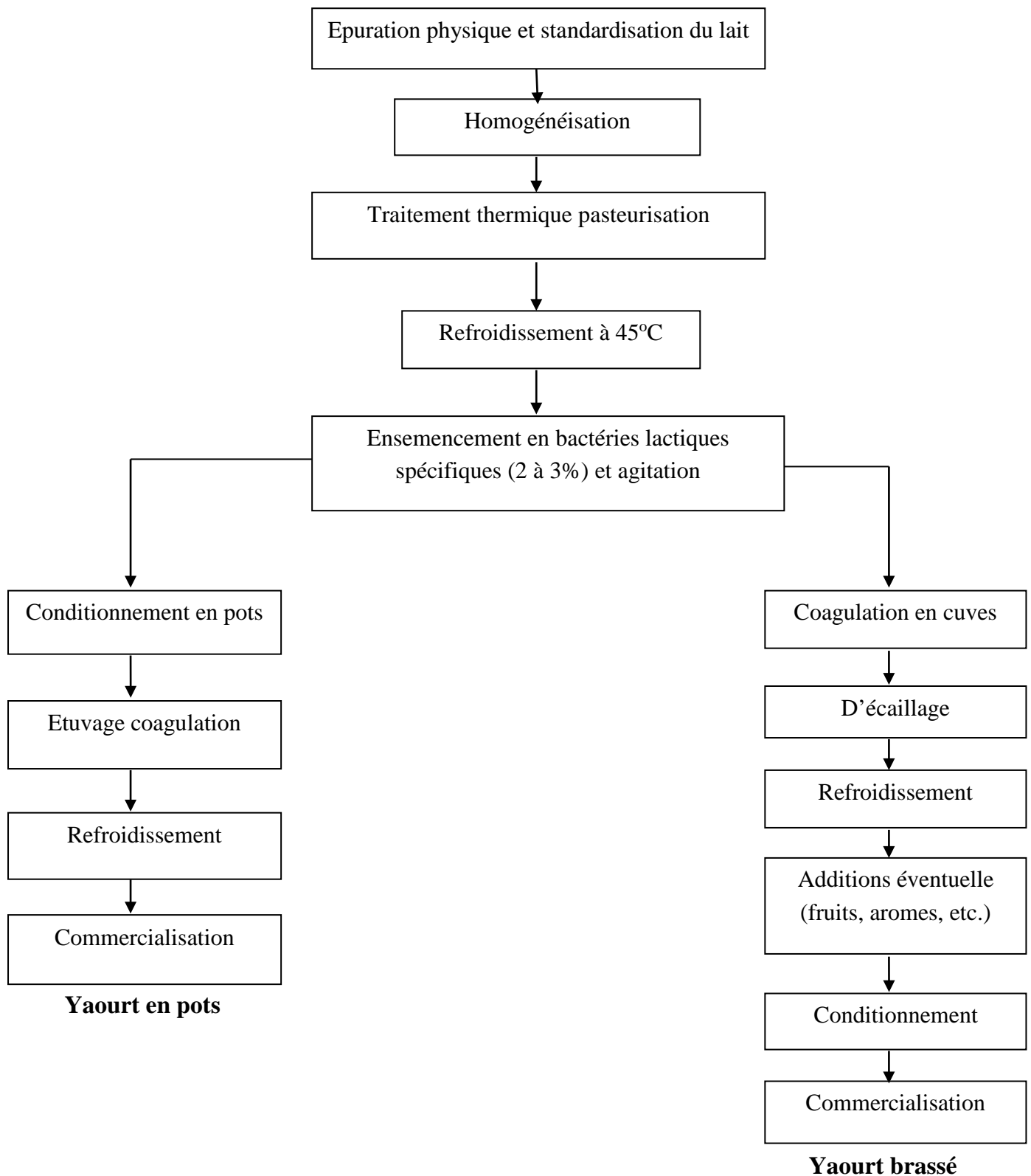


Figure01. Diagramme de fabrication des yaourts (INRA, 1989 ; Cidil, 1998).

4.6) Etuvage

Durant cette étape on assiste au développement de l'acidité du yaourt. Celle-ci est sous la dépendance de la température et la durée de fermentation des germesensemencés. Ainsi il est préférable d'appliquer une température proche de celle optimale de développement de *Streptococcus thermophilus* soit (42 à 45°C), plutôt que celle proche de l'optimum du *Lactobacillus bulgaricus* (47 à 50°C). En général les streptocoques assurent le départ de la fermentation lactique.

Cette température voisine de (42 à 45°C), est considérée comme étant la température symbiotique optimum entre les *Streptocoques* et les *Lactobacilles* (Luquet, 1990).

4.7) Arrêt de la fermentation (Réfrigération)

Il est nécessaire d'arrêter la fermentation des bactéries lactiques par refroidissement à 4°C, lorsque l'acidité atteint (70 à 80D°), dans le cas du yaourt étuvé et (100 à 120D°) dans le cas du yaourt brassé (Luquet, 1990).

5) Structure et comportement rhéologique des yaourts

La transformation du lait au yaourt s'accompagne de la mise en place d'une structure complexe et d'un changement important des propriétés rhéologiques en passant d'un liquide Newtonien à un gel viscoélastique à destruction non réversible. Les additifs et les étapes du procédé de fabrication jouent un rôle majeur sur le comportement rhéologique du yaourt qui sera apprécié par le consommateur (Paci Kora, 2004).

5.1) Structure des yaourts

5.1.1) Gélification acide

Les structures principales impliquées lors de gélification acide du lait sont les micelles de caséine. En effet, dans le lait, les différents types de caséines (α_{s1} , α_{s2} , β et K) s'associent pour former des micelles, de structure sphérique supramoléculaire et de diamètre moyen de 150 nm.

Différents modèles théoriques de l'organisation micellaire sont proposés dans la littérature (Cayot et Lorient, 1998). Les auteurs s'accordent néanmoins sur une

structure générale très hiérarchisée. La micelle est composée d'un cœur hydrophobe essentiellement constitué des caséines α , β et K, dont la partie terminale est très hydrophile et chargée négativement. Les caséines sont situées à la surface des micelles et assurent le maintien en suspension dans la phase aqueuse en constituant une sorte de chevelure. La micelle possède un degré d'hydratation élevée. La structure micellaire est maintenue grâce à des liaisons faibles, des ponts salins impliquant le calcium ou le phosphate de calcium et des groupements phosphoryles ou carboxyles de certaines chaînes latérales des caséines, ainsi que des interactions hydrophobes (**Paci Kora, 2004**).

Lors de la baisse du pH, due à la fermentation lactique, les micelles de caséines subissent des changements substantiels. Le déplacement de l'équilibre acido-basique entraîne une diminution progressive de la charge ionique des micelles qui devient nulle. En parallèle, une solubilisation du phosphate de calcium micellaire est observée, entraînant la dissolution de la structure micellaire. Par la suite, la solubilité des caséines se trouve fortement diminuée, ainsi que leur capacité d'hydratation. Le pH auquel commence la gélification du lait dépend de la température et des prétraitements thermiques du lait (**Tamine et Robinson, 1985**). En dessous d'un pH de 5.5, lorsque la majorité des ions calcium et phosphate ont quitté la micelle, celle-ci reste encore visible au milieu d'une quantité croissante de très petites particules jusqu'à ce qu'un pH de 5.2 soit atteint (**Heertje et al., 1985 ; Visser et al., 1986**). Pour des pH plus bas, des particules de caséines se créent à nouveau par la formation des liaisons hydrophobes, hydrogènes et électrostatiques. Bien qu'elles ressemblent aux micelles de caséines initiales, elles sont plus grosses et très différentes à cause de l'absence de phosphate de calcium. Les particules ainsi formées constituent un réseau donnant naissance à un gel retenant la phase aqueuse. A un pH inférieur au point isoélectrique des caséines (pH = 4.60), le réseau se stabilise et n'évolue pratiquement plus. Pendant la phase de coagulation, les caséines entraînent avec elles les protéines sériques.

La microstructure du yaourt est fonction de la concentration en matière sèche (**Schkoda et al., 1998**), de la méthode d'enrichissement du lait (**Tmine et al., 1984**), du traitement thermique (**Kessler, 1998**) mais aussi des souches bactériennes utilisées et de leur capacité à synthétiser des polysaccharides exocellulaires (EPS), augmentant

la viscosité du gel (**Hassan et al., 1995**). Ainsi, les travaux de **Kassler, 1998** montrent que les micelles de caséines d'un yaourt fabriqué à partir de lait chauffé forment des chaînettes bien liées entre elles, tandis qu'elles forment des agrégats dans un yaourt fabriqué à partir du lait non chauffé. Cette différence est essentiellement due au comportement des β lactoglobulines.

Enfin, les sucres et les autres constituants mineurs restent solubilisés dans la phase aqueuse.

5.2) Comportement rhéologique

5.2.1) Propriétés rhéologiques des yaourts

La connaissance du comportement rhéologique du yaourt est nécessaire pour la conception et le dimensionnement des installations de transformation, sous réserve de maîtriser les contraintes (cisaillements) notamment lors des étapes de brassage et de pompage ainsi que lors des échanges de chaleur. La connaissance des propriétés rhéologique permet également d'appréhender la qualité en termes de texture des produits finis.

Le yaourt est défini comme un fluide viscoélastique d'un solide. Le comportement rhéologique du yaourt est non-newtonien, ce qui veut dire que la viscosité du produit dépend de la vitesse de cisaillement ou de la contrainte exercée. La loi Newton s'écrit :

$$\mu = \tau / \dot{\gamma}$$

Où μ = viscosité (Pa.s), τ = contrainte ou taux de cisaillement (Pa), $\dot{\gamma}$ = vitesse de cisaillement (s^{-1}).

Dans le cas des yaourts, la viscosité diminue quand la vitesse de cisaillement augmente. C'est un fluide rhéofluidifiant. On parle alors de viscosité apparente à une vitesse de cisaillement donnée. Les suspensions de polymères (polysaccharides, etc) présentent également le même comportement.

Le modèle le plus classique pour décrire le comportement d'un fluide rhéofluidifiant est le modèle d'Herschel Bulkley :

$$\eta_a = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1} + \vartheta_0 / \dot{\gamma}$$

Avec η_a : viscosité apparente à la vitesse de cisaillement, $\dot{\gamma}$ (Pa.s) ; K, indice de consistance (Pa.sⁿ) ; n, indice d'écoulement (sans unité), ϑ_0 seuil d'écoulement (Pa).

Pour le yaourt brassé, le modèle se simplifie par une relation puissance car le seuil d'écoulement est nul ($\vartheta_0 = 0$).

Par ailleurs, le comportement rhéologique des yaourts est dépendant des traitements mécaniques subis ultérieurement. Si les contraintes de cisaillement sont trop fortes, le gel ne trouve plus sa structure initiale (**Fernandes et al., 2007**).

5.2.2) Méthodes de caractérisation

Le yaourt étant un produit de comportement rhéologique complexe, sa caractérisation s'avère assez délicate. Différents appareils de laboratoire sont utilisés pour caractériser leurs propriétés rhéologiques, à savoir le viscosimètre Brookfield, les rhéomètres rotatifs, les pénétromètres, ou encore, l'entonnoir de Posthumus. Généralement, les viscosimètres permettent de mesurer uniquement les propriétés visqueuses (viscosité apparente), tandis que les rhéomètres mesurent les propriétés viscoélastiques. En fonction de la géométrie du module de mesure, des contraintes ou des vitesses de cisaillements appliqués, les analyses réalisées déstructurent plus ou moins le gel lactique (**Hess et al., 1997**).

Une caractérisation plus complète des propriétés rhéologiques des yaourts brassés est obtenue à l'aide des rhéomètres rotatifs. Deux types de mesures sont possibles : soit à la vitesse imposée ; la vitesse de rotation ou la déformation est imposée, ou à contrainte imposée : un couple de torsion est imposé. Diverses géométries des modules existent : cône-plan, plan-plan et cylindres coaxiaux. Les systèmes cône-plan permettent de créer une vitesse de cisaillement uniforme dans l'entrefer, et sont donc les plus adaptés aux produits rhéofluidifiants, tels que le yaourt. Les mesures peuvent être effectuées en régime harmonique ou en continu. Elles consistent à imposer une grandeur (vitesse ou contrainte) dont l'amplitude varie de façon sinusoïdale avec une fréquence d'oscillation fixée. Pour un fluide purement élastique, la contrainte est en phase avec la déformation, tandis que pour un fluide purement visqueux, la contrainte

est déphasée de 90° par rapport à la déformation. Dans le cas d'un fluide viscoélastique, tel que le yaourt, la contrainte est déphasée d'un angle compris entre 0 et 90° . Les composantes élastiques (G' (Pa)) et visqueuses (G'') sont calculées à partir de la grandeur enregistrée et de son déphasage par rapport à la grandeur imposée. La viscosité complexe du produit, prenant en compte les deux composantes, permet de caractériser le comportement rhéologique (**Fernandes et al., 2007**).

6) Les bactéries caractéristiques du yaourt

6.1) Caractéristiques générales des bactéries du yaourt

La fabrication du yaourt est due à la fermentation conjointe du lait par les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

6.1.1) *Streptococcus thermophilus*

St. Thermophilus est une cocci Gram positif, anaérobie facultative, non mobile. Elle est retrouvée dans les laits fermentés et les fromages (**Dellaglio et al., 1994 ; Roussel et al., 1994**). Elle se distingue essentiellement des autres streptocoques lactiques par sa croissance thermophile avec un optimum autour de $42-43^\circ\text{C}$, c'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0.1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C (parfois 65°C) pendant 30 minutes (**Garvie, 1986 ; Dellaglio et al., 1994**). Elle est caractérisée par une activité homo fermentaire, le plus souvent réduite à quelques sucres (glucose, lactose, saccharose) et une forte sensibilité au NaCl (**Hardie, 1986**).

Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposées en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C . Son métabolisme est du type homo fermentaire (**Lamoureaux, 2000**).

Le rôle principal de *St. thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés. Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et mannose (**Bergamaier, 2002**). Bien que la recherche sur la physiologie de S.

thermophile ait indiqué l'information importante sur certaines de ces propriétés, y compris le métabolisme de sucre et de protéine, la production des polysaccharides, et la génération de saveur, la base génétique pour plusieurs de ces traits a été déterminée tout récemment. L'augmentation substantielle de la production du yaourt et des fromages a mené de nos jours non seulement à la plus grande utilisation des cultures thermophiles de *S.*, mais également à de nouvelles exigences vis-à-vis de leurs conditions de production et d'utilisation. Les contraintes industrielles des souches, par exemple, devraient être peu sensibles au bactériophage, avoir des caractéristiques stables de fermentation, et produire des produits ayant des propriétés conformes de saveur et de texture. Clairement, les futurs efforts visant à améliorer ces contraintes exigeront des informations qui ne peuvent être obtenues que par analyse de génome.

Le génome de *S. thermophile* est évalué à 1.8 mb, le faisant classer parmi les plus petits génomes de toutes les bactéries d'acide lactique. Bien que thermophile modéré, il soit phylogénétiquement lié au lactococci plus mésophile et ait un bas rapport comparable de G+C (40%), de nombreux gènes codant pour des voies métaboliques sont actuellement démontrés impliqués dans le catabolisme des sucres (**Poolman et al., 1989 ; Vaughan et al., 2001**), dans la production de polysaccharides (**Almiron-Roig et al., 2000**), dans le système de réponse d'effort (**Perrin et al., 1999**), et dans les mécanismes bactériophages de résistance (**Burrus et al., 2001 ; Solow et Somkuti, 2000**).

Plus de 100 entrées d'ordre d'ADN sont actuellement énumérées dans G en Banque. Bien que la plupart des contraintes n'hébergent pas des plasmides, d'autres éléments mobiles ont été rapportés (**Guedon et al., 1995**), et des techniques pour le transfert de gène et la mutagenèse ont été développées (**Baccigalupi et al., 2000 ; Coderre et Somkuti, 1999**).

Tableau03. Caractères physiologique de *Streptococcus thermophilus*.

Caractères physiologiques	
Type de muréine	Lys.ALA
Mobilité	-
Nacl 2%	+
Nacl 4%	-
Nacl 6%	-
Croissance :	
-à 10°C	-
-à 40°C	+
-à 45°C	+
Arginine d'hydrolase	-
a galactosidase	-
B galactosidase	+
G +C%	37.40

(Deroissart et Luquet, 1993).

6.1.2) *Lactobacillus bulgaricus*

Lactobacillus delbrueckii bulgaricus (*L. bulgaricus*) est une bactérie à gram positif à faible pourcentage en GC, immobile, asporulé, micro aérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chainettes. Il possède un métabolisme strictement homo fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucres par voie d'Embden Meyerhof. Il est incapable de fermenter les pentoses.

Lb. bulgaricus est une bactérie thermophile, très exigeante en Calcium et en Magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 45°C est un optimum de température de production d'acide variant de 34-46°C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques et peut-être probiotiques des yaourts et laits fermentés (Merty-Teyssset et al., 2000).

Elle est thermo tolérante, avec une relative activité protéolytique, et supporte un milieu acide (PH=4-4.5). Son activité acidifiante se limite sur la fermentation de galactose et de glucose seulement. Cette bactérie s'alimentant sur le lactose du lait produit de l'acide lactique qui aide à sa conservation. Cette décomposition du lactose par fermentation lactique est souvent utile aux personnes atteintes d'intolérance au lactose, dont les systèmes digestifs manque d'enzymes pouvant le décomposer (**Accolas et al., 1989**).

Le génome de *L. bulgaricus* est estimé à 2.3Mb et présente un pourcentage de bases GC d'environ 50. La séquence complète de ce génome permettra d'identifier les bases génétiques de l'adaptation de cette bactérie à l'environnement laitier et conduira à une meilleure compréhension et maîtrise des fonctions d'intérêt agro-alimentaire (**Accola, 1982**).

Ces deux bactéries lactiques tolèrent de petites quantités d'oxygène. Ceci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le système le plus efficace pour éliminer le peroxyde d'hydrogène est l'utilisation d'une enzyme, la catalase, dont les bactéries lactiques sont déficientes. Ces dernières possèdent plutôt une peroxydase (pseudo catalase) qui est moins efficace que la catalase. Comme les bactéries lactiques n'éliminent pas facilement le peroxyde, elles sont dites micro aérophiles (**Doleyres, 2003**).

6.2) Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt

6.2.1) Production d'acide lactique

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien (**Schmidt et al., 1994**). Le métabolisme est du type homo fermentaire (production exclusif de l'acide lactique).

L'acidité du yaourt est communément exprimée en degré Dornic (1°D= 0.1 g/l d'acide lactique). Elle se situe entre 100 et 130°D (**Loones, 1994**).

L'importance de l'acide lactique durant la fabrication du yaourt peut se résumer comme suit :

- Aide à déstabiliser les micelles de caséines, ce qui conduit à la formation du gel.
- Donne au yaourt son goût distinct et caractéristique, comme il contribue à la saveur et l'aromatisation du yaourt (**Tamime et Robinson, 1999 ; Singh et al., 2006**).
- Intervient comme inhibiteur vis-à-vis des microorganismes indésirables (**Leory et al., 2002**).

6.2.2) Activité protéolytique

Pour satisfaire leurs besoins en acides aminés, les bactéries du yaourt doivent dégrader la fraction protéique du lait constituée de caséine et de protéines sériques, leur système protéolytique est constitué de deux types d'enzymes distinctes : les protéases et les peptidases.

Lb. Bulgaricus possède des protéases localisées, pour l'essentiel, au niveau de la paroi cellulaire. Cette activité protéasique permet d'hydrolyser la caséine en polypeptide.

St. Thermophilus est considérés comme ayant une faible activité endopeptidasique. Elle dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique en acides aminés libres (**Bourgeois et al., 1989; Lenoir et al., 1992**).

6.2.3) Activité aromatique

Divers composés volatiles et aromatiques interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt. C'est principalement le lactose qui intervient dans la formation de ces composés dans une fermentation de type hétéro fermentaire. Parmi ceux-ci, l'acide lactique confère au yaourt son goût acidulé. Pendant la fermentation, les deux souches du yaourt produisent d'autres composés de flaveur qui contribuent à l'arome du yaourt tel que l'acétaldéhyde, acétone, acétoine, diacétyl, éthanol qui proviennent en majorité de la fermentation de certains acides aminés ainsi que de la dégradation de citrate (**Bourgeois et al., 1989 ; Lenoir et al., 1992**).

La méthionine est souvent utilisée pour la production d'acétaldéhyde qui est le principal produit responsable de l'arôme des yaourts (**Figure 02**). L'acétaldéhyde peut provenir aussi du pyruvate, soit par action du pyruvate décarboxylase ou par action du pyruvate déshydrogénase (appelée aussi pyruvate formate lyase) ; comme il peut être synthétisé du catabolisme de la thréonine par l'action de la Thréonine aldolase (**Alvarez et al., 1998**). Les *Lactobacillus bulgaricus* le produisent à environ 10ppm en utilisant la thréonine (à pH= 5) qui donne au yaourt sa saveur caractéristique. En culture mixte (*Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus bulgaricus*), l'acétaldéhyde est produit en grandes quantités. Tandis qu'en culture seule le *Lactobacillus bulgaricus* la secrète plus que *Streptococcus thermophilus* (**Desmazeaud, 1992**).

Les *Streptococcus thermophilus* produisent un autre produit aromatique à savoir le di-acétyle qui confère au yaourt une flaveur crémeuse (**William et al., 1984**). Le di-acétyle contribue à donner un goût délicat qui est dû à la transformation de l'acide citrique et, secondairement, du lactose par certaines souches de streptocoques. D'autres composés (acétone, acétoïne...etc.) contribuent à l'équilibre et à la finesse de la saveur. Ceci résulte d'un choix avisé des souches, de leur capacité à produire dans un juste rapport, les composés aromatiques et du maintien de ce rapport au cours de la conservation des levains et de la fabrication (**Imhof, 1994**).

6.2.4) Activité texturante

La texture et l'onctuosité constituent, pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt. Certaines souches bactériennes produisent, à partir du glucose, des polysaccharides qui, en formant des filaments, limitent l'altération du gel par les traitements mécaniques contribuent à la viscosité du yaourt (**Desmazeaud, 1992**).

L'augmentation de la viscosité du yaourt est en général attribuée à la production d'exopolysaccharide (EPS) qui, selon une étude portant sur plusieurs souches serait essentiellement composé de rhamnose, arabinose et mannose (**Schmidt et al., 1994**).

Il est couramment admis que la production des EPS est le résultat de l'action exercée par *St. thermophilus* mais d'après (**Tamime et Robinson, 1999**), *Lb. bulgaricus* possède aussi une aptitude à produire des EPS composés de galactose, glucose,

rhamnose à des apports de 4/1/1. Par ailleurs, selon (Desmazeaud, 1992) ; les *Lactobacillus bulgaricus* sont capable de produire en phase exponentielle précoce des EPS formés de fructose et de glucose (2/1) à partir de divers substrats carbonés ; alors que le EPS de *Streptococcus thermophilus* sont plutôt formés de galactose, de glucose ainsi que de mannose.

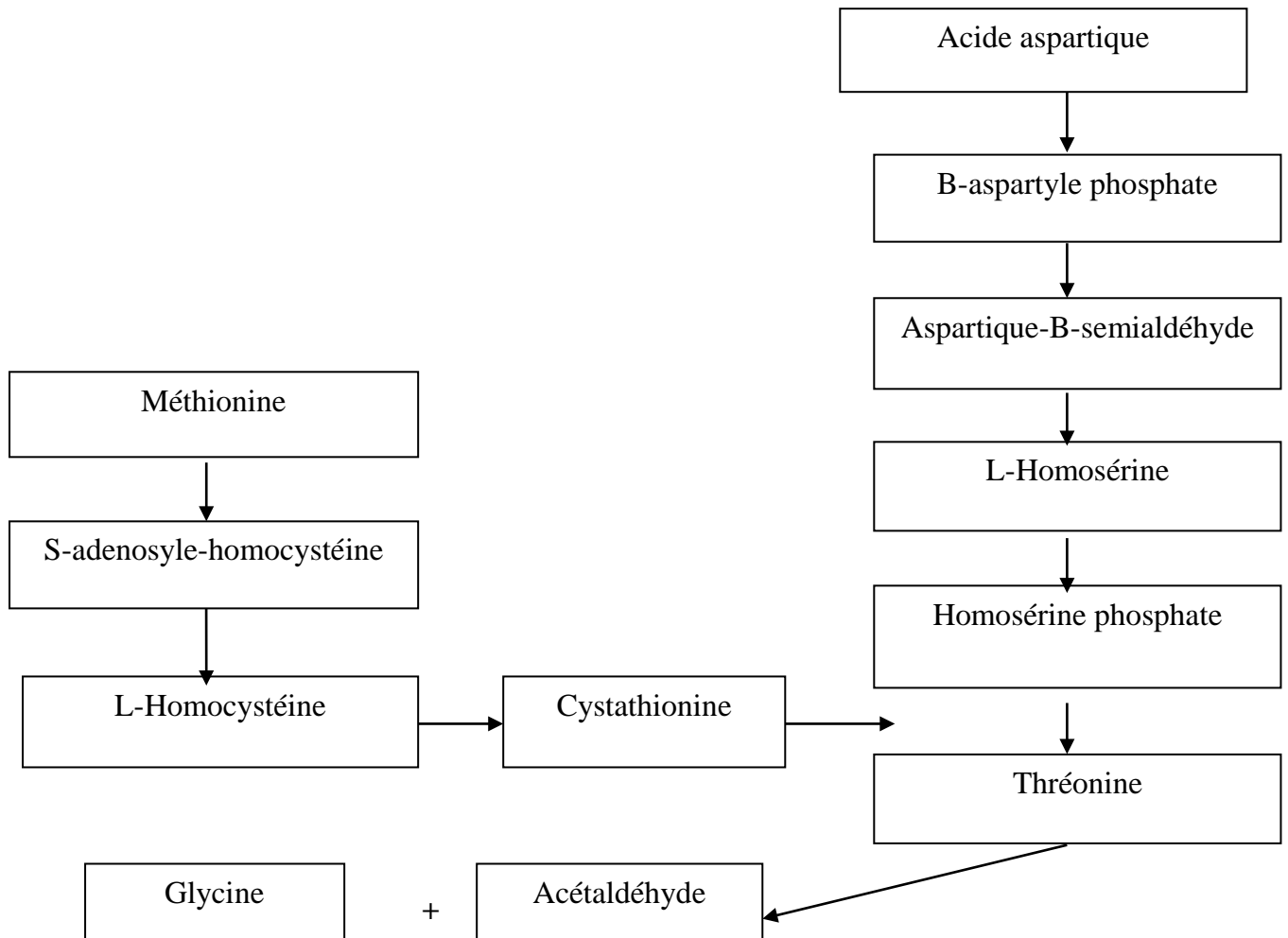


Figure 02 : Voie de conservation de Méthionine en Acétaldéhyde par *Streptococcus thermophilus* (Alvarez et al., 1998).

6.3) Comportement associatif des deux souches

Il existe une interaction favorable entre les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* pendant la production du yaourt. Cette interaction est dite protocoopération auparavant appelée symbiose (Figure 03) (Guyot, 1992).

Ces bactéries, par leur activité acidifiante, ont un effet bénéfique du point de vue qualité hygiénique du produit. En parallèle, elles engendrent des produits secondaires qui contribuent à la qualité organoleptique du yaourt. D'un point de vue nutritionnel, l'activité fermentaire de ces espèces lactiques favorise une solubilisation des différents constituants du lait, améliorant ainsi leur biodisponibilité (Courtin et al., 2002 ; Ngounou et al., 2003).

L'acidification dépend dans une large mesure des relations symbiotiques qui s'établissent entre les deux souches présentes. Il est connu que l'association du *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* se traduit par un effet synergique notable sur l'activité acidifiante. Les *Lactobacillus bulgaricus* libèrent certains acides aminés (valine, histamine, glycine). Ces acides exercent un effet stimulant pour la croissance des souches *Streptococcus thermophilus*. Le gain en production d'acides résulte vraisemblablement de l'action protéolytique du germe stimulant sur les protéines du lait. En effet, un analogue est obtenu en ajoutant au lait différentes combinaisons d'acides aminés ; la souche *Streptococcus thermophilus* est surtout stimulée par la Méthionine, la glycine et l'histidine (Guyot, 1992).

D'une façon globale, la protocoopération des deux souches spécifiques des yaourts s'opère en deux phases dans le milieu :

1^{er} Phase :

Caractéristique par la croissance rapide des *Streptococcus thermophilus* : la tolérance à l'O₂ et au pH du lait voisin de 6.6 favorisent le développement des *Streptococcus thermophilus* qui utilisent de faibles quantités d'acides aminés et de peptides présents dans le lait pour démarrer la croissance, en produisant de l'acide lactique jusqu'à atteindre un pH= 5.2 où leur croissance est inhibée et ensuite relayée par celle des *Lactobacillus bulgaricus* durant cette première phase hydrolysent partiellement les caséines du lait en libérant les peptides nécessaires à la croissance des *Streptococcus thermophilus* qui dominent le début de la fermentation (pH=6.6) ; aussitôt que le pH diminue à 5.2 les *Lactobacillus bulgaricus* commence à croître rapidement (Ebenzer et Vedamuthu, 1991).

2^{ème} Phase :

Le pH acide de 5.2 ainsi que certains composés produits par les *Streptococcus thermophilus* au cours de la première phase de croissance telle l'acide formique, l'acide pyruvique et le CO₂ libéré lors de la décarboxylation de l'urée présent naturellement dans le lait stimulent la croissance des *Lactobacillus bulgaricus* qui achève à leur tour la fermentation des hydrates de carbone et acidifient le milieu (Ebenzer et Vedamuthu, 1991).

Cette coopération est achevée au pH= 4.4 où seules les *Lactobacillus bulgaricus* se développent. Le résultat de cette symbiose entre les espèces est l'amélioration de la saveur ainsi que de la texture des produits finis (Ebenzer et Vedamuthu, 1991).

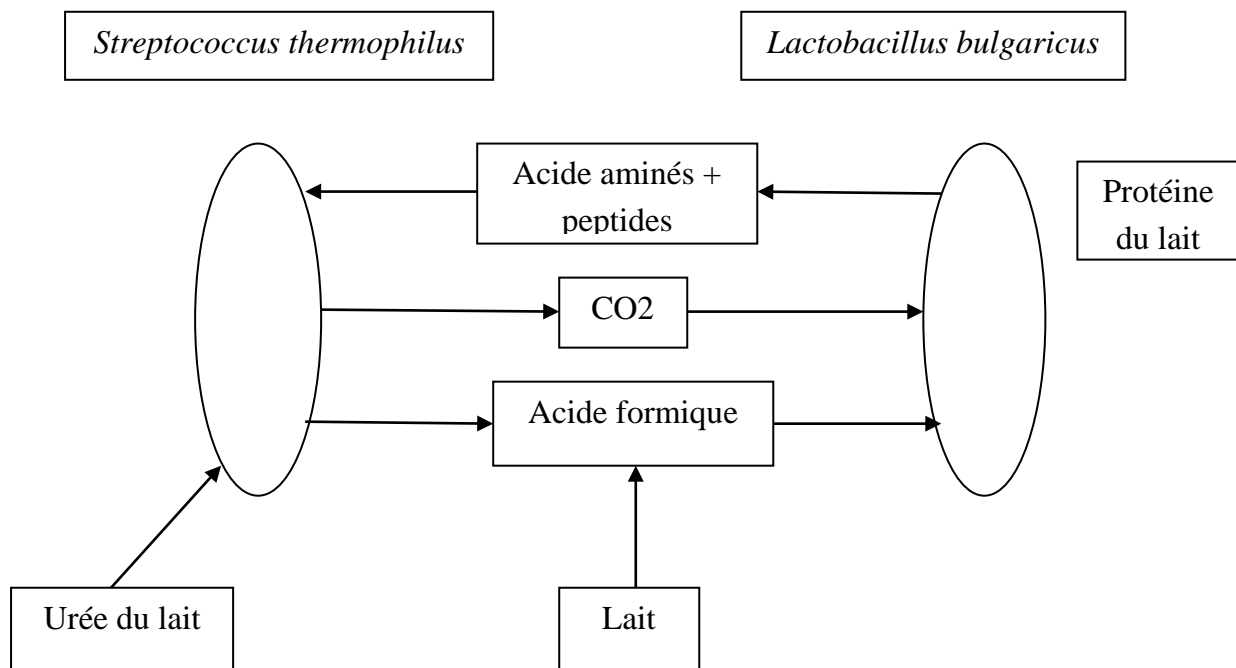


Figure03. Facteurs stimulants la coopération inter espèce entre *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Driessen, 1992).

Chapitre II

Thymus vulgaris

1) Généralités sur le *thymus vulgaris*

Le genre *Thymus vulgaris* est l'un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées (Morale, 2002). Elles sont connues de leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *thymus vulgaris* L. localement connue "zaatar". En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre ("thym" et "thyme" respectivement) pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris* (Amiot, 2005).

Le nom "*Thymus*" dérive du mot grec « thymos » qui signifie "parfumer" à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariente, 2001). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ces qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin, 2001).

Il existe une variation de la production des composés secondaires chez certaines espèces végétales que l'on appelle polymorphisme chimique. Cette variation peut être quantitative ou qualitative. Un grand nombre d'espèces possèdent des individus dont les composés secondaires varient quantitativement d'un individu à un autre. Par contre, les exemples de variation qualitative, c'est-à-dire l'existence de chémotypes au sens strict dont les individus peuvent porter des molécules de nature chimique différente les un des autres, sont moins fréquents. C'est notamment le cas de *Thymus vulgaris* qui exprime six formes de chémotypes différents, chaque chémotype est nommé suivant le composant principal de son huile essentielle (exemples : thymol (T), carvacrol (C), ...) (Amiot, 2005).

1.1) Espèces: le thym compte plusieurs espèces dont:

- ✓ *Thymus alpestris*, thym alpestre.
- ✓ *Thymus capitatus*, thym Zaatar.
- ✓ *Thymus citriodorus*, thym citron.
- ✓ *Thymus dolomiticus*, Thym des dolomies.
- ✓ *Thymus embergeri*, Thym d'Emberger.
- ✓ *Thymus herba-barona*, thym de Corse.

- ✓ *Thymus holosericeus* Celak.
- ✓ *Thymus nitens*, thym luisant.
- ✓ *Thymus oenipontanus* , Thym d'Innsbruck.
- ✓ *Thymus polytrichus*, Thym à pilosité variable.
- ✓ *Thymus praecox*, thym couché.
- ✓ *Thymus pseudolanuginosus*, thym laineux.
- ✓ *Thymus pulegioides*, thym à larges feuilles.
- ✓ *Thymus serpyllum*, thym sauvage, serpolet.
- ✓ *Thymus vulgaris*, thym commun (**Zeghad, 2009**).

1.2) Composants

Le thymol et le carvacrol sont les composants principaux, ainsi que le para-cymène, le 1,8-cinéol, le linalol et d'autres monoterpènes, triterpènes, flavonoïdes.

Les espèces peuvent être regroupées selon des chémotypes identifiés par la richesse en certains composants :

- ✓ chémotype 1 : huile riche en carvacrol.
- ✓ chémotype 2 : huile riche en monoterpènes aromatiques (principalement thymol) et plus pauvre en carvacrol, α -terpinène et méthyl carvacrol.
- ✓ chémotype 3 : huile riche en 1,8-cinéol.
- ✓ chémotype 4 : huile riche en linalol.
- ✓ chémotype 5 : huile riche en citral.
- ✓ chémotype 6 : huile riche en α -terpinéol.
- ✓ chémotype 7 : huile riche en monoterpènes aromatiques et bornéol.
- ✓ chémotype 8 : huile riche en géraniol.
- ✓ chémotype 9 : huile riche en 1,8-cinéol, camphre et thymol.
- ✓ chémotype 10 : huile riche en *cis*- et *trans*-hydrates de sabinène et terpinèn-4-ol.
- ✓ chémotype 11 : huile riche en cétone.
- ✓ chémotype 12 : huile riche en citronellal (**Bruneton, 2009**).

1.3) Culture

Le thym est très résistant. Il a besoin de soleil et pousse à l'état sauvage sur les collines arides et rocailleuses des régions méditerranéennes. Le thym peut se reproduire par semis ou par division de racines, marcottage, ou bouturage. Les plantations s'effectuent tous les 30 cm. À chaque printemps, il est préférable d'engraisser la terre avec de l'engrais

ou de la poudre d'os et de couper la plante de moitié pour favoriser l'apparition de nouvelles pousses. Par contre, il ne faut pas mettre de l'engrais durant l'été car cet apport excédentaire de vitamines rend la plante fragile à l'époque des gelées. Pour la culture en pot, utilisez une terre poreuse. Comme il déteste les terres humides, installez-le dans un endroit surélevé par rapport à l'allée, afin que l'eau s'écoule. Si vous devez le tailler, faites-le après la floraison. Quant à sa multiplication, elle se fait par division des touffes au printemps ou par bouturage estival. Il peut pousser jusqu'à 1 500 à 2 000 mètres d'altitude. Il faut renouveler les plants tous les trois ans sinon la tige devient trop ligneuse et les feuilles perdent leur goût si caractéristique (Bruneton, 2009).

2) Description botanique du thym

Plante originaire du bassin méditerranéen, elle se présente sous la forme d'un sous-arbrisseau de type vivace et particulièrement touffu, à tiges quadrangulaires et ligneuses et à feuilles sessiles. Ces dernières sont assez petites, de forme lancéolée et de couleur gris-vert. Sa taille peut atteindre de centimètres et se fleur affiche une teinte rosâtre. Petite, de 4 à 6 millimètres, elle se regroupe en épis foliacés et est visible de juin à octobre.

La plante préfère les terrains plutôt rocaillieux, secs et très ensoleillés et peut pousser jusqu'à des altitudes supérieures à 1500 mètres. La récolte est généralement effectuée à la fin de l'été (Tableau 04) (Bruneton, 2009).

Tableau04. Classification botanique de *Thymus vulgaris* L.

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Labiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i> L.
Nom commun	Zaatar

(Morales, 2002).

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le genre *thymus* de la famille des *lamiacées* ou *labiées*, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (**Haddaf et al., 2004**). Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement. Sa répartition géographique est représentée dans le tableau suivant ;

Tableau05. Localisation des principales espèces du thym en Algérie.

Espèces	Découverte par	Localisation	Nom local
<i>Thymus Capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen	Zaâteure
<i>Thymus Fontanasi</i>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie	Zaâteure
<i>Thymus Commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran	–
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans : Le sous secteur de l'atlas tellien La grande et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne, Tell constantinois	Tizaâtarte
<i>Thymus Guyonii</i>	Noé	Rare dans le sous secteur des Hauts plateaux algéro-oranais et constantinois	–
<i>Thymus Lancéolatus</i>	Desfontaine	Rare dans : Le sous secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous	Zaâteur

		secteur des Hauts Plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois	
<i>Thymus Pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous secteur de l'atlas Saharien, et constantinois	Tizerdite
<i>Thymus Hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral	Djertil Hamrya
<i>Thymus Algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous secteur des Hauts Plateaux algérois et oranais	Djertil Zâitra
<i>Thymus Glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous secteur des Hauts Plateaux algérois	–
<i>Thymus Algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous secteur des Hauts Plateaux algérois et oranais	Djertil Zâitra
<i>Thymus Munbanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois	Djertil

(Quezel, 1963).

3) Distribution géographique

Le thym est une plante originaire de l'ouest des régions méditerranéennes (**İzcan et Chalchat, 2004**) et aussi autochtone du sud d'Europe. Plus précisément, le thym commun préfère un sol légèrement acide, bien drainé et rocailleux (calcaire), en plein soleil et au sec, mais la plante se développe également sur un sol alcalin filtrant, léger ou compact (d'argile et de limon) ou très poreux (sableux), un peu humide et frais. La capacité de cette plante à résister à de très forte chaleur provient de son huile essentielle qui est produite la nuit et s'évapore la journée ; c'est par cette action que la chaleur sera consommée (**Takeuchi et al., 2004**).

4) Composition chimique

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection). L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité

interspécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits chimique (**Balladin et Headley, 1999, Amiot, 2005**).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (**Bruneton, 1999**) ; l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* analysé par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie de masse (SM), 30 composés ont été identifiés et caractérisés, les plus abondant sont respectivement : thymol (44.4 – 58.1%), *p*-cymene (9.1 – 18.5%), γ -terpinène (6.9 – 18.0%), carvacrol (2.4 – 4.2%), linalol (4.0 – 6.2%). La caractéristique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa teneur élevée du thymol (**Bouhdid et al., 2006**).

Le tableau N 06 présente le contenu phénolique total, flavonoïde, catéchine, et anthocyanine dans l'infusion aqueuse préparée du *Thymus vulgaris* a été déterminé par des méthodes spectrophotométriques (**Kulisic et al., 2006**).

Tableau06. Teneur en composés phénoliques (en μg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris* L.

Plante	Phénols totaux	Flavonoïdes	Non-flavonoïdes	Catéchines	Anthocyanines
<i>Thymus vulgaris</i>	33.3	25.0	8.3	1.2	6.7

(**Kulisic et al., 2006**).

La méthodologie habituelle pour étudier les dérivés flavonoïdiques dans les extraits de plantes implique des extractions successives employant plusieurs solvants, différentes techniques de chromatographie pour séparer, isoler, purifier et identifier les composés d'intérêt. Le tableau 07 énumère les flavonoïdes trouvés dans les feuilles de *Thymus vulgaris* L, par plusieurs auteurs, en utilisant la méthodologie ci-dessus mentionné.

L'identification des composés phénoliques dans l'infusion aqueuse de *Thymus vulgaris* par analyse HPLC a montré une présence dominante d'acide rosmarinique (17.45 mg/g =1.7% de la masse sèche de *Thymus vulgaris* L.) (**Kulisic et al., 2006**).

D'autres composants ont été détectés seulement en traces tels l'acide caféique (0.02 mg/g) et l'acide *p*-hydrox benzoïque. La composition en vitamines a été déterminée et révèle la présence surtout de la vitamine E (α -tocophèrol) (4.4 mg/Kg) (Kulisic et al., 2006).

Tableau07. Flavonoïdes présent dans la partie florale de *thymus vulgaris L.*

Flavonoïdes	Références
- Cirsilineol (4,5'-dihydroxy-6, 7,3'-trimethoxyflavone)	Morimitsu et al, 1995
- Thymonine (5, 6, 4'- trihydroxy- 7, 8, 3'-trimethoxyflavone)	Morimitsu et al, 1995
- Eriodictyol (5,7, 3', 4' –tetrahydroxyflavone)	Adzet et al, 1988
- Sideritoflavone (5, 3', 4'-trihydroxy-6, 7, 8-trimethoxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998
- 5-Desmethylnobiletine (5-hydroxy-6, 7, 8, 3',4'-pentamethoxyflavone)	Adzet et al., 1988
- Apigénine (5, 7, 4'-trihydroxyflavone)	Kulisic et al., 2006
- Lutéoline (5, 7, 3', 4'-tetrahydroxyflavone)	Kulisic et al., 2006
- Xanthomicrol (5, 4'- dihydroxy-6, 7, 8-trimethoxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998
- 5-Desmethylinensetine (5-hydroxy-6, 7, 3', 4'-tetramethoxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998
- Quercetine (3, 5, 7, 3',4'-pentahydrxyflavone)	Kulisic et al., 2006

5) Utilisation du Thym

Il est bien connu que le thym est une plante condimentaire très appréciée, que l'on fait sécher pour des utilisations ultérieures. C'est l'un des remèdes populaires les plus utiles. Les égyptiens et sumériens de l'antiquité l'utilisaient pour embaumer leurs morts. Les romains le brûlaient pour purifier l'air et éloigner les animaux nuisibles. Ils s'en servaient aussi pour aromatiser fromages et boissons alcoolisées. Au moyen âge, les nobles portaient de petits bouquets pour se prémunir des odeurs, il était réputé pour donner du courage aux chevaliers.

De nos jours, le thym est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne. Ses feuilles sont riches en huiles essentielles dont les propriétés sont mises à profit en phytothérapie et en médecine, comme produit vétérinaire (antiparasite, antispasmodique, antiseptique et digestif). Il possède des vertus antiseptiques utilisées pour soigner les infections pulmonaires, calmes les toux quinteuses, diminue les sécrétions nasales et soulage les problèmes intestinaux.

Le thym est une herbe aromatique servant à parfumer de nombreux plats ; il entre aussi dans la composition de produits cosmétiques. Son huile essentielle riche en thymol est couramment utilisée pour la confection de savons et d'autres produits. Il entre aussi dans l'élaboration de certaines liqueurs (Haddaf et al., 2004).

6) Effet du stade de développement et période de cueillette de la plante

(Hudaib et al., 2002), ont souligné l'importance du choix de la période de récolte du thym pour obtenir une huile de qualité et de quantité. Ils ont trouvé que le rendement diffère d'une période à une autre. Le meilleur rendement (1.2%) est obtenu pour la plante cueillie le 24 juillet. L'huile se caractérise par une composition importante en hydrocarbures monoterpéniques (p-cymène et γ -terpinène) et en monoterpènes phénoliques (thymol et carvacrol). La plante cueillie le 5 juin, le 3 juillet et le 6 décembre donne des rendements de l'ordre de 0.52 ; 0.50 et 0.08% respectivement.

De même, ils ont montré l'influence de l'âge ou le stade de développement de la plante sur le rendement de la composition de l'huile. La plante de 2 ans donne un rendement de 0.5% alors que celle de 5 ans donne un rendement de 0.15% la plante étant cueillie à la même période.

D'après l'étude de (Faleiro et al., 2003); sur le thym portugais, l'origine, les conditions climatiques et la partie extraite (feuille et/ou fleur) de l'espèce peuvent influencer sur la composition de l'huile essentielle du thym. Pour le *thymus mastichiana*, les proportions en 1.8-cinéole, constituant majoritaire, sont différentes : 42.4% dans l'huile extraite des feuilles et 46.9% dans celle extraite des fleurs.

7) Activité antibactérienne et/ou antimicrobienne

Empiriquement reconnue depuis des siècles. La confirmation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est récente. Elle ne date que du début du siècle dernier avec les travaux du Dr Gatte Fossé, le père de l'aromathérapie en France. Depuis ce temps, l'utilisation des huiles essentielles s'est développée jusqu'à devenir, ces dernières années, une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques infectieuse (**Pibri, 2005**).

La composition, la concentration de l'huile et celle des micro-organismes ainsi que les composés phénoliques des huiles essentielle de thym dont dépend l'activité antimicrobienne, ont été rapportées par plusieurs chercheurs.

Le mode d'action du carvacrol, un des majeurs constituants de l'huile essentielle de thym et d'origan a reçu plus d'attention de la part des auteurs. Le thymol, structurellement très similaire au carvacrol (le groupe hydroxyle a une localisation différente sur la chaîne phénolique), est connu pour son pouvoir antimicrobien. Il inhibe la croissance des produits toxiques et des moisissures comme l'a montré (**Akgul et Kivanc, 1988**).

(**Piccaglia et Marott, 1993**) ont montré que le thymol à une concentration inférieure à 0.4 µg/ml inhibe complètement la croissance de deux bactéries *l'Aspergillus flavus* et *l'Asoergilus versicolor*.

Par ailleurs (**Juven et al., 1994**), ont examiné l'effet du thymol contre le *Salmonella typhémurium* et le *Staphylococcus aureus*. Ils ont conclu qu'il est un grand inhibiteur pour la croissance des deux bactéries à un pH variant de 5.5 à 6.5. A pH faible, il devient indissociable et très hydrophobique.

De plus (**Helander et al., 1998**), ont trouvé que le carvacrol et le thymol sont capable de détériorer les bactéries gram-négatives alors que (**Ultee et Smid, 2001**) ont montré le pouvoir inhibiteur du carvacrol contre le *Bacillus cereus*, existant dans les bouillons et dans les soupes, pouvant provoquer des diarrhées.

(**Juven et al., 1994**) ont souligné également que le γ -terpinène ne s'oppose pas à la croissance du *Salmonella typhémurium* et d'après (**Dorman et Deans, 2000**) le α -

terpinène inhibe plusieurs bactéries telles que ; *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus*.

(**Ultee et al., 2004**) ont montré aussi que le p-cymène n'est pas un antimicrobien lors de son utilisation seul, alors que sa combinaison avec le carvacrol montre une synergie contre le *Bacillus cereus* in vitro dans le riz.

(**Karman et al., 2001**) ont étudié en d'autre part l'activité antimicrobienne du thym turque (*Thymus revolutus*) contre plusieurs bactéries. Ils ont trouvé que l'huile étudiée inhibe la croissance de la plupart des bactéries à une concentration de 0.8 et 1.6 µg/µL d'huile essentielle ; le plus sensible est le *Bacillus cereus*. Ils ont supposés que la propriété bactériostatique et fongistatique est liée à une composition élevée en cavacrol.

(**Valero et Salmeron, 2003**) quant à eux ont étudié l'activité de 11 huiles essentielles de plusieurs plantes dont le thym contre le *Bacillus cereus* qui pousse dans le bouillon de carotte à 16°C. Ils ont trouvés que l'addition de 5µL d'huile essentielle de cannelle pou 100 ml de bouillon à une température inférieure à 8°C a un effet antimicrobien supérieur à celui du thym.

(**Faleiro et al., 2003**) ont étudié éventuellement l'activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites des parties aériennes du thym portugais (*Thymus camphoratus*, *lotocephatus* et *mastichina*) contre les micro-organismes (*Candida albican*, *Eschérichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogènes*, *Proleus mirabilis* et *Salmonella subsp.*), en utilisant la méthode de diffusion à l'agar de disque « the disc agar diffusion method ». Ils ont trouvés après isolation et analyse de l'huile par CG/SM que les constituants majoritaires tels que : le 1,8-conéole, le linalool, l'acétate de linalyl et le 1,8-cinéole/linalool, présentent une grande activité antimicrobienne, mais les différents micro-organismes testés ont une sensibilité différente. *L'Eschérichia coli* n'est pas sensible au chémotype linalool/1,8-cinéole mais elle est sensible au chémotype linalool. Contrairement au *Candida albican* dont sa sensibilité s'accroît légèrement pour le chémotype linalool/1,8-cinéole alors qu'elle diminue pour le chémotype 1,8-cinéole.

En outre (**Sagdic et Ozkan, 2003**) ont étudié l'activité antimicrobienne de différents hydrosols (la solution obtenue après extraction des huiles essentielles par hydro distillation) d'une grande sélection de plantes aromatiques dont le thym (thym noir turque). Pour cela, ils ont testé leur effet inhibiteur par la méthode de diffusion à l'agar de disque contre 15 bactéries. Ils ont trouvé que le thym possède un agent antibactérien contre la plupart des micro-organismes responsables de la détérioration des aliments lors de leurs stockage, les plus sensibles sont le *Bacillus berris* et le *Bacillus cereus*.

Comme actuellement il existe un besoin considérable d'agents antimicrobiens naturels, tels que l'huile essentielle de thym et d'origan, (**Sagdic, 2003**) a limité son étude en comparant ces deux espèces provenant de Turquie contre quatre micro-organismes pathogéniques. Il a montré que la solution hydrosol a un effet antibactérien plus élevé comparativement à celui du thym.

De même des concentrations de 50 et 75ml de la solution hydrosol de l'espèce/100ml sont complètement inhibitrices de la croissance des quatre bactéries ; il a confirmé la possibilité d'utiliser les solutions hydrosols des espèces étudiées à une concentration précise dans la préservation des aliments et des boissons.

En fin, (**Baydar et al., 2004**) ont constaté quant à eux, que certains constituants de l'huile essentielle de thym turque (*Thymbra spicita* : thym noir) ; en l'occurrence le carvacrol, le thymol, le γ -terpinène et le p-cymène, testés contre plusieurs bactéries, en particulier le *Bacillus amyloliquefaciens* ont un pouvoir antimicrobien. Ils ont montré aussi que toutes les bactéries sont inhibées à une concentration de 0.01 μ g/ml.

8) Activité antifongique

L'accroissement des infections fongiques parmi les patients immunodéprimés et le développement de la résistance aux antifongiques nécessitent la découverte de nouveaux agents antifongiques. Pour cela, les sécrétions végétales telles que les huiles essentielles sont intéressantes en raison de leur pouvoir fongistatique.

(**Bhashara et al., 1998**) ont testé l'activité antifongique du *thymus vulgaris* contre deux agents pathogènes : le *Botrytistiscinera* et le *Rhizopus Stalonifer* qui sont

responsables de la détérioration de la fraise. Ils ont montré que le thymol et le carvacrol présents à 27% dans l'huile jouent un rôle important dans l'inhibition fongique.

Dans le cadre de la recherche d'une synergie d'action entre les substances antifongiques médicamenteuses et les produits naturels d'origine végétale, l'action antifongique de différentes huiles essentielles, d'une grande sélection de plantes aromatiques à savoir : Thym rouge d'Espagne, *Thymus vulgaris*, origan, clou de girofle, romarin, cannelle de chine, lavande etc., a été évaluée par (**Giordani et al., 2004**). Leur étude a montré le pouvoir antifongique de ces huiles particulièrement celles contenant plus de phénol. De même, ils ont trouvé que l'effet inhibiteur de *Thymus vulgaris* chémotype thymol (thymol 63%) sur la croissance de la levure *Candida albican* permet de mesurer une synergie d'action de l'ordre de 48% avec l'amphotéricine B ; ce qui laisse espérer la possibilité d'une diminution conséquente des effets secondaires liés à l'utilisation de l'amphotéricine B dans les thérapies antimycosiques.

(**Haddaf et al., 2004**) après identification des composants contenus dans l'huile essentielle de deux plantes étudiées *Thymus vulgaris* provenant de France et le *Thymus numidicus* provenant du nord est algérien, ont étudié l'activité antifongique de ces huiles sur une souche de référence de *candida albican*. L'étude a montré une activité antifongique plus élevée pour l'huile de *Thymus vulgaris* bien que la teneur en phénols (thymol, carvacrol) est de 36.70% soit inférieure à celle de *Thymus numidicus* qui est de 65.87%. Ils ont conclu que d'autres constituants pourraient intervenir dans le pouvoir antifongique de cette huile.

(**Rassoli et Abyaneh, 2004**) ont étudié l'effet inhibiteur des huiles essentielles du thym d'Iran (*Thymus eriocalyx* et *x-porlock*) sur les aflatoxines produites par l'*Aspergillus parasiticus*. Ils ont trouvé que le *Thymus eriocalyx* contenant 64.3% de thymol présente une activité antifongique et un pouvoir inhibiteur plus important que le *Thymus x-porlock* qui contient 30.7% de thymol.

9) Activité antioxydante

L'oxydation des lipides est la cause principale de dégradation des viandes conservées et de leurs dérivés. Elle peut conduire à la formation d'aldéhydes à chaînes courtes, de cétones et d'acides gras qui contribuent à l'altération du goût et à la formation des radicaux libres responsables du processus de vieillissement comme cité par (**Benzi, 1996**).

Afin d'y remédier, des antioxydants phénoliques de synthèse sont utilisés depuis plus de 50ans. Leurs rôles consistent à renforcer la stabilité des lipides dans les produits alimentaires et les huiles de façon générale. Les plus connus sont le Butyl hydroxyanisole (BHA) et le Butyl hydroxytoluène (BHT). Cependant, leur utilisation a diminué considérablement vu que les additifs alimentaires sont rejetés par les consommateurs et sont suspectés d'être dangereux pour l'organisme. Pour cette raison, plusieurs chercheurs ont été amenés à chercher des antioxydants naturels autres que le tocophérol (vitamine E) qui inhibe la peroxydation des lipides in vivo et dont l'efficacité est très limitée comparée à celle du BHA et à celle du BHT.

(**Dorman et al., 2003**) ont extrait par hydro distillation les huiles essentielles de quatre plantes appartenant à la famille des *Labiées* : origan, romarin, sauge et thym. Ils ont identifié par chromatographie liquide à haute performance la présence du principal constituant : l'acide rosmarinique qui contribue à l'activité antioxydante. Leur étude sur les trois radicaux libres : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) diammonium salt (ABTS⁺) et (OH⁻), a montré que le degré observé de l'activité antioxydante dépend de l'essai utilisé, et que le thym présente le pouvoir le plus faible comparativement aux autres. Ils ont conclu que les extraits contenant plus de composés phénoliques possèdent l'activité la plus élevée.

(**Sokmen et al., 2004**) ont étudié in vitro l'activité antioxydante du *Thymus spathulifolius* turque. Ils ont conclu que l'extrait méthanolique a un effet antioxydant sur les deux radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), et β -carotène/acide linolique plus élevé que l'antioxydant synthétique BHT.

De leur côté, (Tepe et al., 2005) ont comparé le potentiel antioxydant de l'huile essentielle du thym (*Thymus sipyleus* et *Thymus rosulans*) obtenus par hydro distillation. Ils ont utilisé pour cela deux méthodes : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et β -carotène/acide linolique. Les essais sur les deux radicaux libres ont montré que le *Thymus rosulans* possède le potentiel antioxydant le plus élevé.

L'application des deux huiles essentielles sur le radical libre β -carotène/acide linolique a confirmé effectivement que l'huile essentielle du *Thymus rosulans* inhibe l'oxydation de l'acide linolique à 92%. Alors que le *Thymus sipyleus* ne présente aucune activité. Ils ont conclu aussi que le taux d'inhibition de l'huile essentielle du *Thymus rosulans* est proche de celle de l'antioxydant synthétique BHT.

Quant à (Tomaino et al., 2005), ils ont étudié l'effet du chauffage sur le potentiel antioxydant des huiles essentielles de différentes espèces telles que : basilic, cumin, cannelle, noix de muscade, clous de girofle, origan et thym. L'essai sur le radical libre DPPH des huiles maintenues à la température ambiante a montré un effet antioxydant.

Ils ont montré aussi qu'une augmentation de température au-delà de 180°C n'influe pas sur le potentiel antioxydant des huiles essentielles à l'exception de la noix de muscade. Les extraits montrent une variation dans l'efficacité antioxydante due essentiellement à la qualité des extraits naturels qui varient d'une espèce à l'autre. Par conséquent, la corrélation entre l'activité antioxydante et les composants présents dans l'huile est difficile à établir.

En outre, les huiles essentielles des espèces testées sur le α -tocophérol de l'huile d'olive montre que le thym est capable d'empêcher la détérioration du α -tocophérol à 180°C durant une période de dix minutes.

10) Activité insecticide

L'utilisation des plantes médicinales locales est la méthode la plus utilisée chez les petits éleveurs tandis que l'application courante des acaricides de synthèse est la méthode la plus utilisée dans les systèmes de production intensifs pour combattre les ectoparasites (Lohste et al., 1993; Pomo et al., 2003). Cependant, les conséquences

sur l'homme et son environnement, la présence des souches d'acariens résistants aux acaricides ainsi que la rareté et le coût élevé des produits de bonne qualité sur les marchés locaux posent le problème de la recherche de solutions alternatives (**Whatson, 1976**). Fort de ce constat, le recours à la phytothérapie par l'utilisation des huiles essentielles des plantes naturelles semble une solution moins coûteuse avec peu, sinon pas d'impact sur l'environnement. Les huiles essentielles d'un certain nombre d'entre elle sont dotées de toute une gamme de propriétés biologiques (acaricide, insecticide, bactéricides, fongicide...) et ont fait l'objet d'études phytochimiques et biologiques. (**Pomo et al., 2002; Linget et al., 1982**).

Par ailleurs, (**Boutekedjiret et al., 2004**) ont extrait l'huile essentielle *d'origanum glandulosum* par entraînement à la vapeur d'eau pour étudier l'effet insecticide sur *Rhizopertha dominica* insecte ravageur de denrée céréalière. Trois modes de pénétration ont été : contact, ingestion-contact et inhalation. Les résultats des essais de toxicité ont montré que cette huile possède des propriétés insecticides sur cet insecte, elle est plus toxique par contact que par les deux autres modes de toxicité. La mortalité augmente avec la dose utilisée ; pour une concentration de 15% le taux de mortalité enregistré est de 87% à 100% quelque soit le mode de pénétration.

(**Pavela, 2004**), à son tour a étudié le potentiel insecticide de l'huile essentielle extraite par solvant de plusieurs plantes médicinales de la famille des *Labiées*: "*Origanum majorna, Ocimum basilicum, Cnicus bendicutus, Marrabium vulgare, Hysopus officinalis, Salvia splendens Sellow, Salvia officinalis, Mallissa officinalis*" sur les levures *Spodopetera littoralis*. Cinq concentrations de 0% (témoin), 0.5, 1.5 et 10% ont été testées possèdent une propriété insecticide contre *Spodopetera littoralis*, la toxicité augmente avec la dose utilisées, la dose maximale de 10% donne le meilleur taux de mortalité. parmi ces huiles, les plus toxiques sont celles de *Ocimum basilicum, Origanum majorna* et *Salvia officinalis* donnant des taux de mortalité de 88.8 et 97.7% avec des doses létales pour obtenir 50% de mortalité de l'ordre 0.17, 0.36 et 0.47% respectivement.

Deuxième partie

Matériels et méthodes

1) Objectifs

Beaucoup d'études ont été réalisées au sujet de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes ayant des vertus thérapeutiques dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès scientifique d'aromathérapie. Ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques.

Ces effets antibactériens nous ont conduit à poser la question suivante : « Est ce que l'utilisation des extraits de plante comme adjuvant dans certains produits laitiers (tels les yaourts par exemple) peuvent il avoir un effet sur la croissance des ferments lactiques tels, que les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* qui présentent des intérêts variés (industriel et nutritionnel) » ?

Pour cela, nous nous sommes proposé d'essayer de connaître le comportement *in vitro* des souches de levains lactiques vis-à-vis des inhibiteurs de croissance tels les polyphénols, les flavonoïdes et bien d'autres composés bioactifs contenues dans l'une des plantes autochtones poussant à l'état sauvage dans certaines régions du pays et très largement utilisée en médecine traditionnelle par la population à savoir le **Thym** (*Thymus vulgaris*).

D'une façon générale les objectifs escomptés à travers cette étude expérimentale s'articulent autour de 02 points essentiels :

1- Procéder à une extraction des principaux composés bioactifs de la plante par usage d'un solvant polaire à savoir : l' Héxane.

2- Essayer d'incorporer les extraits de *Thymus vulgaris* dans la fabrication d'un lait fermenté type yaourt ferme en vue de suivre leurs effets sur la stabilité et la qualité des produits transformés (laits fermentés) durant 21 jours de conservation au froid à 4 °C.

2) Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal

Le matériel végétal objet de l'étude le **Thym** (*Thymus vulgaris*) a été prélevé le mois de Mars 2017, dans la Wilaya de Naama au sud d'Algérie. Un échantillon de 2 à 3 kg pris uniquement sur la partie aérienne de l'espèce étudiée à été récolté d'une manière aléatoire.

La matière végétale a été ensuite étalée sur du papier aluminium, puis séchée à l'air ambiant durant 2 semaines. Les échantillons séchés sont enfin broyés dans un broyeur à lame de cuisine puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité.

3) Extraction des composés bioactifs

Selon (Almas, Al-Bagieh, 1999) et (Almas, 2001), les extraits à l'eau arrivent à agir en général sur la croissance de certaines bactéries appartenant au genre *Streptococcus* à des taux d'extractions de 5g/100ml de matière végétale de Kikar (*Acacia arabica*) provenant du Pakistan et de l'Arak (*Salvadora persica*) d'Arabie Saoudite.

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols contenus dans la *Thymus vulgaris* on a opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par (Sultana et al., 2009). Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

L'extraction des composés bioactifs de la plante a été réalisée par usage de l'Héxane comme solvant d'extraction. Elle a été effectuée sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale a été mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v). L'extraction par macération à froid de chaque mélange a été laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction favorise ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et permet une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs.

Les extraits aqueux mélangés au solvant d'extraction obtenus ont été filtrés en utilisant un papier filtre Whatman ayant une porosité de 0,2µm et débarrassés de l'Héxane par évaporation sous vide à 45 °C.

4) Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi d'extraits de thym

4.1) Protocole expérimental

Le lait cru destiné à la fabrication des laits fermentés expérimentaux type yaourt est un lait cru pasteurisé fabriqué par l'unité GIPLAIT de Mostaganem.

Les extraits purs à l'Héxane de la plante (*Thymus vulgaris*) récoltée dans la région de l'étude (Naama) sont incorporées au cours du process de fabrication d'un lait fermenté type yaourt étuvé (directement dans le lait cru pasteurisé refroidi et maintenu chauffé à 45 °C) à des taux variables de 0, 2, 4,6 et 8%, respectivement.

Les échantillons de lait enrichis d'extraits de thym sont par la suiteensemencés avec les souches spécifiques du yaourt à un taux de levains de 3% et à un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* sur *Lactobacillus bulgaricus* de 2S/L. Aucun additif pouvant masquer les caractéristiques organoleptiques et rhéologiques n'est ajouté aux produits transformés (ni saccharose, ni arôme, ni autre additifs).

Chaque traitement étudié a été représenté par un nombre de répétitions de trois pots d'une capacité de 100ml ; soit un nombre total de 15 échantillons expérimentaux.

4.2) Préparation des levains

Un litre de lait servant à la préparation du ferment a été préparé à un taux de 130g/l de poudre de lait « entier », puis subira une pasteurisation durant 2 minutes à 100°C, et un refroidissement à 45°C.

Ce lait est fractionné en deux échantillons de 500 et 250 ml. Le premier a étéensemencé avec 0,5 g d'une prise de la souche lactique lyophilisée pure de *Streptococcus thermophilus*. Le second échantillon a été à son tourensemencé avec 0,25 g de la souche pures de *Lactobacillus bulgaricus*. Ces deux échantillons après ensemencement aux deux ferments spécifiques ont été mélangés ensemble dans un bécher et étuvés à 45°C pendant 1 heure.

Le levain prés a l'emploi avec un rapport de souches de 2 *Streptococcus thermophilus* pour 1 *Lactobacillus bulgaricus* (2S/1L, v/v) est enfin incorporé dans les laits destinés à la fabrication des laits fermentés alicaments a un taux de 3% (3ml de levain dans 100 ml de lait cru pasteurisé enrichi d'extrait de thym et maintenu durant environ 4 heures à 45 °C) .

4.3) Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux

Le lait utilisé dans l'étude est un lait cru de vache pasteurisé conservé au froid à 4 °C. Il a été fourni par l'unité étatique de fabrication de lait et dérivés « GIPLAIT » (Wilaya de Mostaganem).

Après un léger chauffage à 45°C, à des prises (de 03 X 100ml) d'échantillons de lait maintenus à cette température ont été additionnés chaque extrait à l' Héxane de *Thymus vulgaris* à raison de 0, 2, 4, 6 et 8%, respectivement. Les échantillons seront enfin ensemencés chacun a 3% avec un levain lactique renfermant un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* de 2S/1L. Les pots des différentes préparations sont par la suite sertis avec du papier aluminium et orientés à la fermentation pendant 4 heures dans une étuve réglée à 45°C.

Au terme de la fermentation les produits expérimentaux une fois caillés ont été conservés au froid positif à 4°C dans un réfrigérateur pendant une période de conservation de 21 jours.

5) Mesures et contrôles

Les différentes mesures et contrôles ont été réalisés en triples essais, dans chaque pot de lait fermenté expérimentale pendant la période de fermentation (à 0 heure, 2 heure et 4 heure) et la période de poste acidification de conservation des échantillons expérimentaux au froid positif de 4°C (au 1^{er} jour, 7^{ème} jour, 15^{ème} jour et 21^{ème} jour).

5.1) Paramètres physicochimiques

5.1.1) Acidité :

L'acidité a été déterminée d'une façon précise par titration de 10ml d'une prise de yaourt à l'aide d'une soude caustique NaOH préparée à 1/9 N en présence de 4 à 5 gouttes de phénophtaléine.

5.1.2) PH

Le dosage du pH a été réalisé par un pH-mètre étalonné par deux solutions : l'une acide et l'autre basique.

5.1.3) Viscosité dynamique

La viscosité a été établie par l'utilisation d'un tube en verre de 2cm de diamètre et de 18cm de longueur équipé d'un chronomètre et d'une bille normalisée.

5.2) Analyses microbiologiques

- *Streptococcus thermophilus* : Le dénombrement des germes a été réalisé par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « M17 » incubé à 37°C pendant 48h.
- *Lactobacillus bulgaricus* : Le dénombrement des germes a été effectué par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « MRS » incubé à 30°C pendant 48h.

5.3) Test organoleptique

Chaque 7 jours durant toute la période de poste acidification, la qualité des laits fermentés expérimentaux a été évaluée par un jury composé de 10 dégustateurs, qui devront apprécier selon une échelle de notation variable de 1 à 10 les critères des produits suivants :

- **Gout acide** : Consiste à apprécier l'ampleur de l'acidité développée par les germes lactiquesensemencées dans les laits fermentés type yaourt au cours de l'entreposage.

- **Goût de fraîcheur** : Consiste à apprécier l'ampleur de la sensation de fraîcheur lors de la mise en bouche du produit.
- **Cohésivité** : Consiste à déterminer la capacité maximale de déformation en pot de l'échantillon avant de se rompre lorsqu'il est écrasé entre les doigts.
- **Adhésivité** : Exprime l'intensité des forces inter faciales développées entre la surface d'une cuillère et celle de l'échantillon lors d'une prise en pot du produit.
- **Odeur** : Le panéliste est appelé à apprécié la sensation d'odeur désagréable des produits conservés au froid à 4°C.
- **Arrière-goût** : Le panéliste est appelé à apprécier la sensation de l'arrière gout amère dans les produits présentés.
- **Couleur** : Consiste à apprécier le niveau d'acceptabilité de la couleur des produits par les consommateurs.

6) Traitement statistique

Les résultats paramétriques ont été traités statistiquement par une analyse de variance bi factorielle en randomisation totale suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de NEWMAN et KEULS. Par contre, ceux relatifs au test organoleptique vont être analysés statistiquement par le test non paramétrique de Friedman.

Troisième partie

Résultats et

Discussion

1) Résultats

1.1) Analyses physicochimiques et microbiologiques

1.1.1) PH

D'une façon globale, le pH a marqué une évolution décroissante de 6,37 à 4,48 en moyenne durant les deux périodes de fermentation et de poste acidification (**Figure 04**).

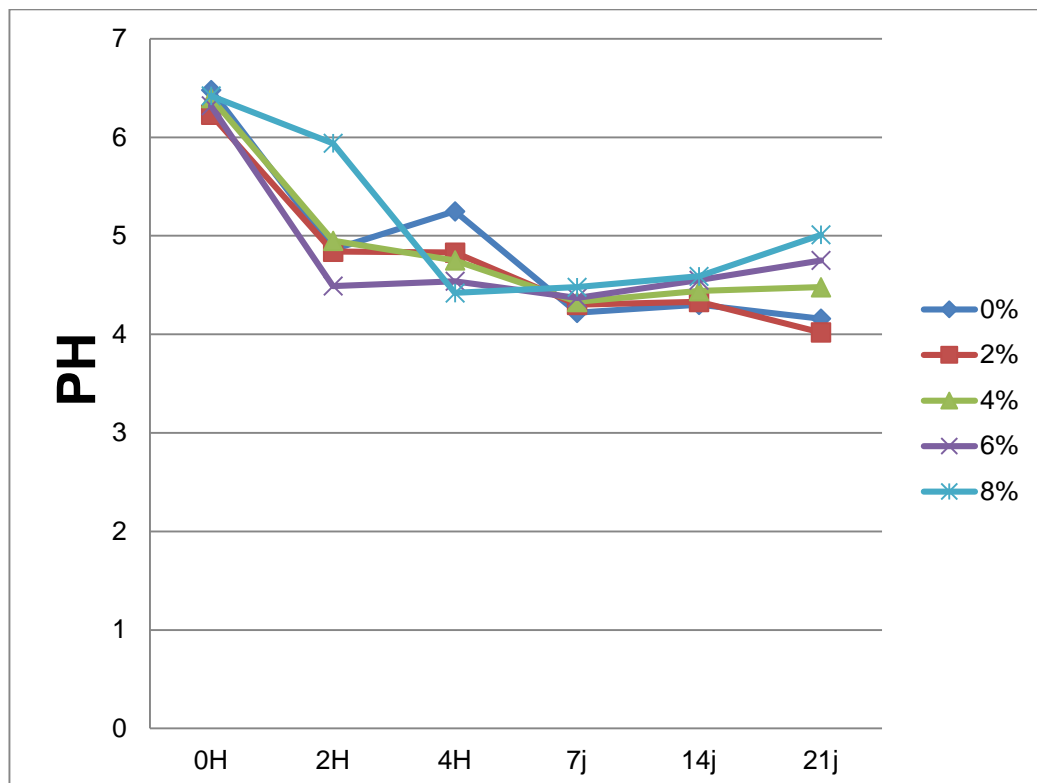


Figure 04. Evolution de pH des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Tymus vulgaris*.

Par ailleurs, les valeurs de pH ont connu durant ces périodes une augmentation proportionnelle en fonction des doses d'extrait à l'héxane de thym incorporé dans les produits ($p < 0,01$) ; soit des niveaux de pH variables de 4,88 à 5,14 en moyenne pour les taux d'extrait variables de 0% à 8% respectivement dans les laits fermentés (**Tableau 08**).

Tableau 08. Evolution de pH des laits fermentés additionnés d'extraits à l'héxane de *thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Fermentation	0H	6,48 ± 0,35	6,23 ± 0,43	6,40 ± 0,30	6,32 ± 0,27	6,42 ± 0,37	6,37	p>0.05 NS
	2H	4,86 ^c ± 0,08	4,84 ^c ± 0,06	4,95 ^c ± 0,13	5,49 ^b ± 0,38	5,94 ^a ± 0,15	5,22	** p<0.01
	4H (1J)	5,25 ^a ± 0,63	4,83 ^{ab} ± 0,09	4,75 ^{ab} ± 0,12	4,54 ^{ab} ± 0,08	4,42 ^b ± 0,1	4,76	* p<0.05
Poste-acidification (4°C)	7 ^{ème} J	4,22 ^b ± 0,04	4,3 ^{ab} ± 0,73	4,33 ^{ab} ± 0,03	4,37 ^{ab} ± 0,08	4,48 ^a ± 0,05	4,34	* P<0.05
	14 ^{ème} J	4,30 ^b ± 0,03	4,33 ^b ± 0,09	4,44 ^{ab} ± 0,13	4,55 ^a ± 0,06	4,59 ^a ± 0,1	4,44	** p<0.01
	21 ^{ème} J	4,16 ^{bc} ± 0,09	4,02 ^c ± 0,55	4,48 ^{abc} ± 0,04	4,75 ^{ab} ± 0,25	5,01 ^a ± 0,17	4,48	** p<0.01
Moyenne		4,88	4,75	4,89	5	5,14	4,93 4,93	

H : heures ; J : Jours. Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types ; NS : Effet non significatif du facteur étudié (concentration d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*) ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentration d'extrait de Thym) ; * : Effet significatif du facteur étudié (extrait de thym) ; a, b, c : comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls.

1.1.2) Acidité

Durant l'expérimentation, la première période de fermentation a noté une augmentation explicite de l'acidité des laits fermentés de 17,31°D à 0 heure à 81,74°D au 1^{er} jour, après 4 heures de fermentation.

Au cours de la phase de poste acidification, il est remarqué une augmentation de l'acidité des laits fermentés de 87,09°D au 7^{ème} jour, puis les valeurs diminuent légèrement à 78,28°D au 14^{ème} jour, pour atteindre 88,28°D en moyenne fin de la période de conservation (**Figure 05**).

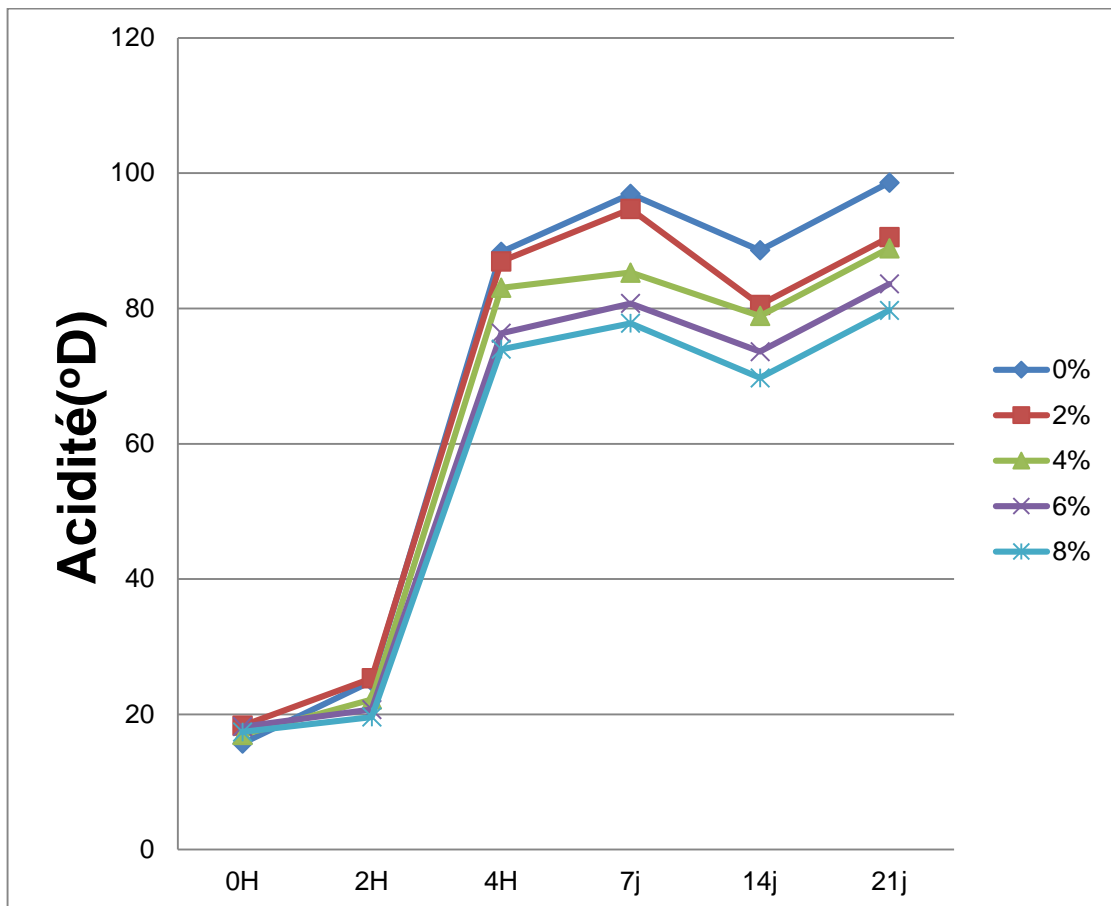


Figure 05. Evolution de l'acidité Dornic des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*.

Durant les 2 heures de fermentation l'acidité des laits fermentés reste invariable et comparable entre les échantillons expérimentaux ($p > 0,05$) ; 15,7 à 18,33°D à 0 heure et 19,6 à 25,33°D, en moyenne à 2 heure de fermentation.

A partir du 1^{er} jour, en fin de la période de fermentation et durant toute la phase de conservation de post acidification, l'acidité s'avère d'autant plus réduite ($p < 0,01$) de (68,84, à 66,06, à 62, 55, à 58,86 et à 56,37°D, en moyenne) que le niveau d'incorporation d'extrait à l'héxane de thym est respectivement augmenté de (0, à 2, à 4, à 6 et à 8%) dans les essais de laits fermentés expérimentaux (**Tableau 09**).

Tableau 09. Evolution de l'acidité (°D) des laits fermentés additionnés d'extraits à l'héxane de *thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Fermentation	0H	15,7 ± 2,07	18,33 ± 3,05	16,97 ± 2,001	18,17 ± 1,25	17,4 ± 3,53	17,31	p>0.05 NS
	2H	24,87 ± 0,95	25,33 ± 5,44	22,2 ± 0,3	20,7 ± 2,40	19,6 ± 0,7	22,54	p>0.05 NS
	4H (1J)	88,37 ^a ± 0,95	86,97 ^a ± 1,97	83,07 ^b ± 1,12	76,33 ^c ± 1,32	73,97 ^c ± 0,25	81,74	** p<0.01
Poste-acidification (4°C)	7 ^{ème} J	96,93 ^a ± 6,73	94,7 ^a ± 4,71	85,3 ^b ± 3,60	80,73 ^b ± 1,54	77,8 ^b ± 1,67	87,09	** P<0.01
	14 ^{ème} J	88,6 ^a ± 3,03	80,53 ^b ± 1,84	78,9 ^b ± 1,65	73,63 ^c ± 1,56	69,73 ^d ± 0,83	78,28	** p<0.01
	21 ^{ème} J	98,6 ^a ± 3,03	90,53 ^b ± 1,84	88,9 ^b ± 1,65	83,63 ^c ± 1,56	79,73 ^d ± 0,83	88,28	** p<0.01
Moyenne		68,84	66,06	62,55	58,86	56,37	62,54 62,54	

H : heures ; J : Jours. Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types ; NS : Effet non significatif du facteur étudié (concentration d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*) ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentration d'extrait de Thym) ; a, b, c : comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls.

1.1.3) Viscosité

La viscosité a nettement augmenté de 0 heure de fermentation au 14^{ème} jour de post acidification (p<0,005) ; de 82,51 à 447,46 Kg/ms. Au 21^{ème} jour de conservation, la viscosité des échantillons connaît une légère baisse à 348,09 Kg/ms, en moyenne (**Figure 06**).

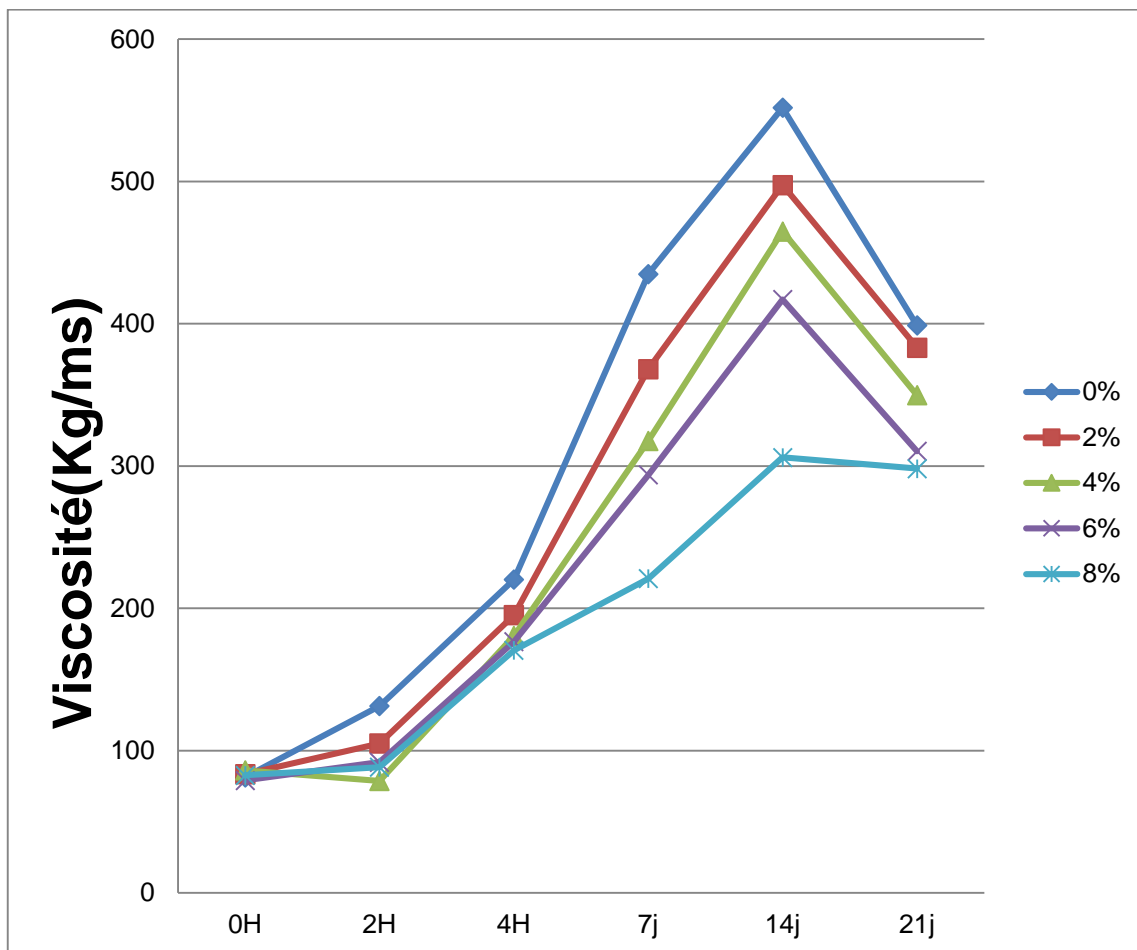


Figure 06. Evolution de la viscosité des laits fermentés additionnés de l'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*.

De plus, il est observé pendant les deux périodes de l'étude (fermentation-post acidification) une relation inversement proportionnelle des valeurs de la viscosité avec l'augmentation des taux d'incorporation d'extrait à l'héxane de thym de (0, à 2, à 4, à 6 et 8%), ou les résultats enregistrés dans les produits sont par ordre successif, comme suit; 297,33 ; 272,10 ; 249,64 ; 228,13 et 194,42 Kg/ms (**Tableau 10**).

Tableau 10. Evolution de la viscosité (Kg/ms) des laits fermentés additionnés d'extraits à l'héxane de *thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Fermentation	0H	81,35 ^{ab} ± 1,56	83,46 ^{ab} ± 3,005	86,09 ^a ± 2,93	79,06 ^b ± 0,54	82,6 ^{ab} ± 1,21	82,51	* P<0.05
	2H	131,39 ^a ± 1,50	105,06 ^b ± 5,69	98,70 ^c ± 0,35	91,89 ^d ± 0,48	88,34 ^d ± 0,91	103,08	** p<0.01
	4H (1J)	220,19 ^a ± 0,35	195,26 ^b ± 3,03	180,68 ^c ± 0,69	176,53 ^d ± 1,29	170,48 ^e ± 0,58	188,63	** p<0.01
Poste-acidification (4°C)	7 ^{ème} J	400,35 ^a ± 1,70	368,1 ^b ± 24,93	317,79 ^c ± 2,15	293,80 ^d ± 6,88	220,89 ^c ± 0,13	320,19	** P<0.01
	14 ^{ème} J	551,83 ^a ± 1,59	497,49 ^a ± 2,18	464,84 ^{ab} ± 4,54	417,11 ^{ab} ± 1,85	306,02 ^b ± 170,77	447,46	* p<0.05
	21 ^{ème} J	398,86 ^a ± 1,17	383,24 ^b ± 0,96	349,77 ^c ± 1,55	310,39 ^d ± 2,18	298,19 ^e ± 0,51	348,09	** p<0.01
Moyenne		297,33	272,10	249,64	228,13	194,42	248,32 248,32	

H : heures ; J : Jours. Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentration d'extrait de Thym) ; * : Effet significatif du facteur étudié (extrait de thym) ; a, b, c, d, e : comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls.

1.1.4) *Streptococcus thermophilus*

Le nombre de *Streptococcus thermophilus* dans les essais expérimentaux a connu d'une façon globale une augmentation de 87.10^4 à 250.10^4 UFC/ml en moyenne de 0 heure jusqu'au 14^{ème} jour, puis diminue à 181.10^4 UFC/ml à la dernière semaine de conservation au 21^{ème} jour (**Figure 07**).

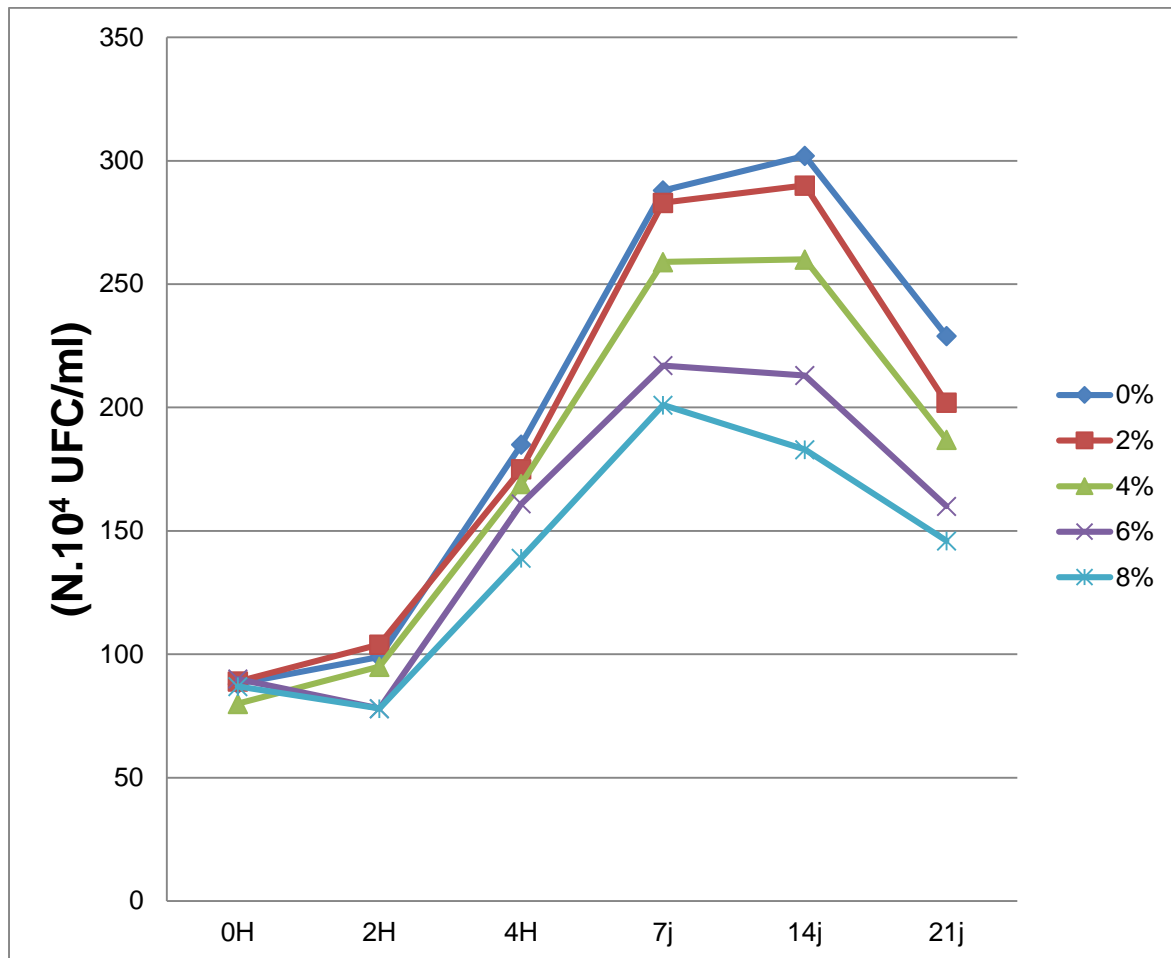


Figure 07. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*.

Au cours de l'étude expérimentale, il est remarqué une évolution décroissante du nombre de *Streptococcus thermophilus* en fonction des doses incorporées d'extrait à l'héxane de thym ; avec un nombre de 198.10^4 UFC/ml pour l'échantillon témoin et 175.10^4 UFC/ml pour celui préparé à 4% d'extrait de thym vs 136.10^4 UFC/ml pour l'échantillon de 8% d'extrait de thym.

En outre, l'analyse de variance sur l'évolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* durant les périodes de fermentation et de poste acidification a montré un effet hautement significatif du facteur étudié: taux d'incorporation d'extrait de thym (Tableau 11).

Tableau 11. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extraits à l'héxane de *thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Fermentation	0H	88 ^a	89 ^a	80 ^b	90 ^a	87 ^a	87	** P<0.01
	2H	99 ^{ab}	104 ^a	95 ^b	78 ^c	78 ^c	91	** p<0.01
	4H (1J)	185 ^a	175 ^b	169 ^c	161 ^d	139 ^c	166	** p<0.01
Poste-acidification (4°C)	7 ^{ème} J	288 ^a	283 ^a	259 ^b	217 ^c	201 ^d	250	** P<0.01
	14 ^{ème} J	302 ^a	290 ^b	260 ^c	213 ^d	183 ^e	250	** p<0.01
	21 ^{ème} J	229 ^a	202 ^b	187 ^c	160 ^d	126 ^e	181	** p<0.01
Moyenne		198	190	175	153	136	170 170	

H : heures ; J : Jours. Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentration d'extrait de Thym) ; a, b, c, d, e : comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls.

1.1.5) *Lactobacillus bulgaricus*

Durant les deux périodes de fermentation et poste acidification, le nombre de *Lactobacillus bulgaricus* dans les différent laits fermentés expérimentaux s'avère augmenter de 14.10^4 à 111.10^4 UFC/ml en moyenne de 0 heure jusqu'au 14^{ème} jour, puis diminue à 82.10^4 UFC/ml au 21^{ème} jour de la période de conservation (**Figure 08**).

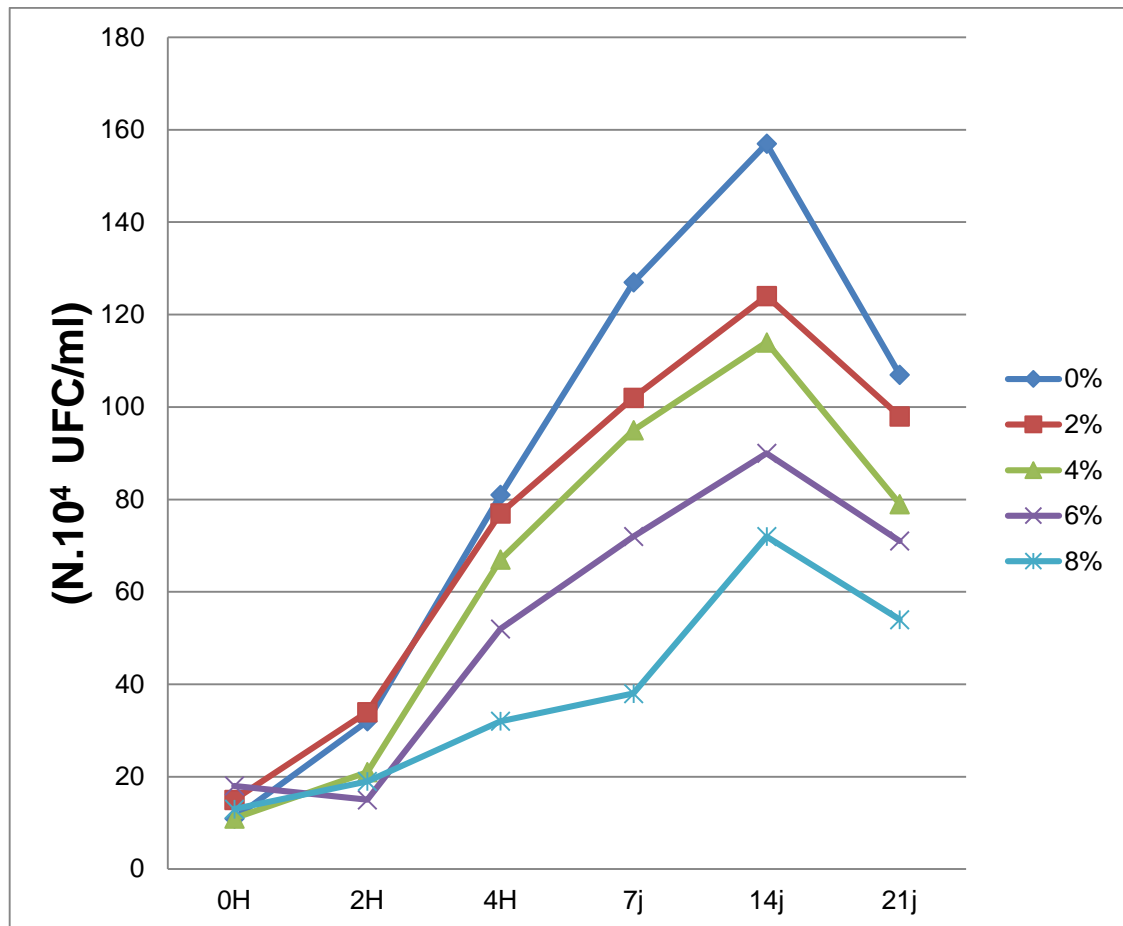


Figure 08. Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*.

Pendant l'expérimentation, il a été constaté une relation inversement proportionnelle entre le nombre des *Lactobacillus bulgaricus* et l'élévation des taux d'extrait de thymus *vulgaris* dans les produits ; suit des baisses du nombre des germes de 86.10^4 à 65.10^4 à 53.10^4 et 38.10^4 UFC/ml pour les taux d'extrait incorporés de 0, 2, 4, 6 et 8% respectivement.

L'analyse de variance sur l'évolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* au cours de la fermentation et la phase de poste acidification montre l'effet hautement significatif d'incorporation d'extrait à l'héxane de thym (**Tableau 12**).

Tableau 12. Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* (N.10⁴ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extraits à l'héxane de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Fermentation	0H	11	15	11	18	13	14	p>0.05 NS
	2H	32 ^a	34 ^a	21 ^b	15 ^b	19 ^b	24	** p<0.01
	4H (1J)	81 ^a	77 ^a	67 ^b	52 ^c	32 ^d	62	** p<0.01
Poste-acidification (4°C)	7 ^{ème} J	127 ^a	102 ^b	95 ^b	72 ^c	38 ^d	87	** P<0.01
	14 ^{ème} J	157 ^a	124 ^b	114 ^b	90 ^c	72 ^d	111	** p<0.01
	21 ^{ème} J	107 ^a	98 ^a	79 ^b	71 ^b	54 ^c	82	** p<0.01
Moyenne		86	75	65	53	38	63 63	

H : heures ; J : Jours. Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types ; NS : Effet non significatif du facteur étudié (concentration d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*) ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentration d'extrait de Thym) ; a, b, c, d : comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls.

1.2) Test organoleptique

1.2.1) Goût acide

Globalement, durant les 4 périodes de poste acidification, le yaourt témoin a été classé au premier rang du côté goût acide avec une moyenne des sommes des rangs de 39,75 par rapport aux autres essais expérimentaux qui ont marqué d'après les dégustateurs, un abaissement d'acidité avec des moyennes des sommes des rangs de 30,12 pour 4% et le moins acide de 8% avec 16,5 sommes des rangs.

L'analyse de variance sur l'évolution du goût acide des yaourts expérimentaux avec ou sans extraits de thym a montré des effets hautement significatifs pendant toute la phase de poste acidification (**Tableau 13**).

Tableau 13. Variation du goût acide des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	33,5 ^{ab}	43,5 ^a	29 ^b	21 ^b	23 ^b	30	** p<0.01
	7 ^{ème} J	37,5 ^a	40,5 ^a	34 ^a	22,5 ^b	12,5 ^c	29,4	** P<0.01
	14 ^{ème} J	42,5 ^a	42 ^a	27 ^b	24 ^b	14,5 ^c	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	45,5 ^a	40 ^a	30,5 ^b	18 ^c	16 ^c	30	** p<0.01
Moyenne		39,75	41,5	30,12	21,37	16,5	29,85 29,85	

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.2.2) Goût de fraîcheur

Au cours de la période de conservation, les dégustateurs ont bien apprécié le goût de fraîcheur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*, dont les meilleurs résultats ont été montrés pour l'échantillon de 2 et 4% d'extrait de thym, avec des moyennes des sommes des rangs de 19,87 et 21,12, successivement par rapport aux autres essais préparés à 0, 6 et 8% qui n'ont pas été vraiment bien appréciés par les dégustateurs ; 30 vs 35 vs 44 somme des rangs en moyenne.

L'analyse de variance sur l'évolution du goût de fraîcheur montre nettement des effets hautement significatifs des concentrations d'extraits de thym incorporés dans les produits pendant toute la période de poste acidification (**Tableau 14**).

Tableau 14. Variation du goût de fraîcheur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	33,5 ^b	19 ^c	13,5 ^c	38 ^b	46 ^a	30	** p<0.01
	7 ^{ème} J	40,5 ^a	21,5 ^b	19 ^b	28,5 ^b	41,5 ^a	30,2	** P<0.01
	14 ^{ème} J	30 ^{ab}	21 ^b	22,5 ^b	33,5 ^{ab}	43 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	16 ^c	18 ^c	29,5 ^b	40,5 ^a	46 ^a	30	** p<0.01
Moyenne		30	19,87	21,12	35,12	44,12	30,05 30,05	

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.2.3) Cohésivité

La cohésivité a tendance à diminuer avec l'augmentation de la dose de thym dans les yaourts expérimentaux; soit des moyennes de sommes des rangs qui varie de 16,12 pour le témoin à 46,75 sommes des rangs, en moyenne pour l'essai préparé à 8% d'extrait de thym.

L'analyse de variance sur l'évolution de cohésivité des yaourts additionnés d'extrait à l'héxane de thym montre un effet hautement significatif durant toute la période expérimentale (**Tableau 15**).

Tableau 15. Variation de la cohésivité des laits fermentés additionnés d'extrait de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	19,5 ^d	16 ^d	27 ^c	37,5 ^d	50 ^a	30	** p<0.01
	7 ^{ème} J	15,5 ^d	18,5 ^d	26 ^c	41 ^b	49 ^a	24	** P<0.01
	14 ^{ème} J	15 ^d	18,5 ^d	28,5 ^c	38,5 ^b	49,5 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	14,5 ^d	19 ^d	29 ^c	39,5 ^b	48,5 ^a	30,1	** p<0.01
Moyenne		16,12	18	27,62	39,12	46,75	29,52 29,52	

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.2.4) Adhésivité

Au cours de toute la phase de conservation les dégustateurs ont noté nettement que l'adhésivité du témoin est meilleure par rapport aux autres échantillons ; avec des moyennes des sommes des rangs de 14 contre, 19 ; 26,75 ; 41,5 et 48 pour ceux préparés à 2, 4, 6 et 8% d'extrait à l'héxane de thym.

Pour l'analyse de variance effectuée sur l'évolution de l'adhésivité des laits fermentés à base d'extrait de thym montre cette fois un effet hautement significatif pendant toute la phase de poste acidification (**Tableau 16**).

Tableau 16. Variation de l'adhésivité des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	13 ^e	19 ^d	26,5 ^c	42 ^b	48 ^a	29,7	** p<0.01
	7 ^{ème} J	16,5 ^d	18,5 ^d	24 ^c	41 ^b	48,5 ^a	29,7	** P<0.01
	14 ^{ème} J	12 ^e	21,5 ^d	27,5 ^c	40 ^b	49 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	14,5 ^d	17 ^d	29 ^c	43 ^b	46,5 ^a	30	** p<0.01
Moyenne		14	19	26,75	41,5	48	29,85 29,85	

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d, e : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.2.5) Odeur

Selon les dégustateurs, l'odorat du 2^{ème} et 3^{ème} échantillon à 2 et 4% d'extrait de thym marquent les meilleures notes par rapport aux autres essais expérimentaux ; avec des moyennes des sommes des rangs de 19,25 et 21,62 ; respectivement (**Tableau 17**).

Tableau 17. Variation de l'odeur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	36 ^b	16 ^c	16,5 ^c	32 ^b	48 ^a	29,7	** p<0.01
	7 ^{ème} J	33,5 ^a	20 ^b	18 ^b	33,5 ^a	45 ^a	30	** P<0.01
	14 ^{ème} J	17 ^c	24 ^c	21 ^c	39,5 ^b	48,5 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	14,5 ^d	17 ^d	31 ^c	38 ^b	47,5 ^a	29,6	** p<0.01
Moyenne		25,25	19,25	21,62	35,75	47,25	29,82 29,82	

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.2.6) Arrière-goût

Pendant les 4 périodes de conservation, l'échantillon témoin a été clairement mieux apprécié au plan de l'arrière-goût par les dégustateurs que les yaourts expérimentaux additionnés d'extrait de thym. Cependant, l'essai préparé à 2 et 4% s'avère proche du témoin ; 21 vs 25,75 vs 16,62 sommes des rangs en moyenne (**Tableau 18**).

Tableau 18. Variation de l'arrière-goût des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	19,5 ^b	18,5 ^b	22,5 ^b	42 ^a	47,5 ^a	30	** p<0.01
	7 ^{ème} J	18 ^c	21,5 ^c	26,5 ^c	37,5 ^b	46,5 ^a	30	** P<0.01
	14 ^{ème} J	16,5 ^d	20,5 ^{cd}	25 ^c	39,5 ^b	48,5 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	12,5 ^c	23,5 ^b	29 ^b	40 ^a	45 ^a	30	** p<0.01
Moyenne		16,62	21	25,75	39,75	46,87	30	

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.2.7) Couleur

D'une façon générale, les dégustateurs ont bien aimé la couleur des laits fermentés additionnés d'extrait de thym spécialement, celles préparés à 2 et 4% d'extrait de thym ; avec des moyennes de sommes des rangs de 16,75 et 20,62, successivement (**Tableau 19**).

Tableau 19. Variation de la couleur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'héxane de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses d'extraits à l'héxane de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyenne	Effet d'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	35,5 ^b	14 ^c	16 ^c	38,5 ^b	45 ^a	29,8	** p<0.01
	7 ^{ème} J	32 ^a	20 ^b	17 ^b	36 ^a	43 ^a	29,6	** P<0.01
	14 ^{ème} J	26 ^b	13,5 ^c	23,5 ^b	40 ^a	47 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	15 ^c	19,5 ^c	26 ^b	43 ^a	46,5 ^a	30	** p<0.01
Moyenne		27,12	16,75	20,62	39,37	45,37	29,85 29,85	

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

2) Discussion

Pendant les deux périodes de fermentation et poste acidification, les valeurs de pH ont tendance à diminuer de 6,37 à 4,48. Ces réductions de pH résultent sans doute d'une production d'acide lactique suite à une fermentation du lactose du lait par les deux souches spécifiquesensemencées à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Alais et Lenden, 1984 ; Luquet, 1990).

Par ailleurs, les valeurs de pH ont connu une croissance remarquable en fonction des doses incorporés d'extrait à l'héxane de thym dans les produits ($p < 0,01$) ; soit des augmentations variables de 4,88 à 5,14 en moyenne pour des taux d'extrait variables de 0 à 8%.

Contrairement au pH, l'acidité a marqué une augmentation durant tout la période expérimentale à partir de 17,31°D à 0 heure pour atteindre 88,28°D au 21^{ème} jour.

Il est bien connu que l'association symbiotique nommée actuellement protocoopération de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* se traduit par un effet synergique notable sur l'activité acidifiante du milieu. Le démarrage de la fermentation lactique est ainsi assuré par les *Streptococcus thermophilus* qui utilisent comme facteurs de croissance les acides aminés et les peptides se trouvant dans le milieu et libérés des caséines par hydrolyse partielle enzymatique des amino-peptidases sécrétés par les *Lactobacillus bulgaricus*. Durant cette première phase de la période de fermentation, l'acide lactique produit abaisse le pH du milieu jusqu'à 5,4 où la croissance des *Streptococcus thermophilus* est freinée. La fermentation est ensuite relayée par les *Lactobacillus bulgaricus* qui utilisent comme facteurs de croissance le CO₂ et l'acide formique produit au préalable par les *Streptococcus thermophilus* (Ebenzer et Vedamuthu, 1991). Au pH d'environ 4,6 de caillage correspondant à la fin de fermentation, les laits fermentés sont stockés au froid à 4°C. Pendant 21 jours où la croissance et donc la production d'acide lactique par notamment les *Lactobacillus bulgaricus* continue à se faire à de faibles quantités. Les valeurs enregistrées restent ainsi conformes aux normes requises pour un yaourt destiné à la consommation ; inférieur à 115°D pour l'acidité et supérieur à 4 pour le pH (Blanc, 1984).

Par ailleurs, durant cette période expérimentale, il a été constaté une évolution décroissante de l'acidité en fonction des taux d'incorporation d'extrait de thym ; avec une valeur moyenne de 68,84°D pour l'échantillon témoin qui varie jusqu'à 56,37°D pour le lait fermenté préparé à 8% d'extrait de thym. Ceci suppose que les principaux composés antimicrobiens contenus dans le thym dont (huile essentielle, flavonoïdes, dérivés de l'acétophénone et triterpènes) (**Theusher, 2005**) ont réduits à différents doses incorporées l'activité fermentaire des souches spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, ce qui s'est traduit par une baisse de production de lactate dans le milieu.

Les laits fermentés additionnés ou non d'extrait de thym sont nettement visqueux. Quoique, cette viscosité s'avère diminuer avec les doses sévères de thym incorporés dans les produits. Il est bien établis que les souches *Streptococcus thermophilus* et *Lctobacillus bulgaricus* présentent la faculté de produire au cours de leurs fermentation lactique des substances glucidiques composées pour l'essentiel de rhamnose, arabinose et mannose appelés exopolysaccharides (EPS) (**Schmidt et al., 1994**) capable de se lier au caséines du lait tout en conférant aux laits fermentés ainsi qu'au yaourt une viscosité et une qualité rhéologique particulière (**Lenoir et al., 1992**). Il est couramment admis que la production d'exopolysaccharides est le résultat de l'action exercée surtout par les *Streptococcus thermophilus* au cours de la période de fermentation ou ils sont plus actives (**Tamime, 1999**). Ceci c'est traduit par des augmentations spectaculaires de la viscosité des laits fermentés aux 14^{ème} jour avec une moyenne de viscosité de 447,46 Kg/ms. D'après le même auteur, *Lactobacillus bulgaricus* possède aussi une aptitude à produire des exopolysaccharides composés de galactoses, glucose et manose à des rapports 4/1/1 ; ce qui peut expliquer en partie les relatives augmentations de la viscosité des produits au cours des 21 jours de conservation au froid.

Desmazeaud, confirme ainsi que les *Lactobacillus bulgaricus* peuvent produire en phase précoce des exopolysaccharides formés de fructose et de glucose (2/1) à partir de divers substrats carbonés et d'accroître la viscosité des laits fermentés.

Il apparait que plus le taux d'incorporation d'extrait de thym est élevé, moins est la viscosité des laits fermentés expérimentaux. Ces réponses sont certainement dues à l'effet antimicrobien inhibiteur des principes actifs (huile essentielle, flavonoïdes, dérivés de

l'acétophénone et triterpènes) contenus dans le thym (**Theusher, 2005**) et qui s'avèrent capable de freiner la production par les germes spécifiques du yaourtensemencés d'exopolysaccharide responsables de la viscosité des produits (**Biliaderis et al., 1992**).

Durant la fermentation, le nombre de germes *Streptococcus thermophilus* a connu une nette augmentation de 87.10^4 UFC/ml à 249.10^4 UFC/ml en moyenne de 0 heure jusqu'au 14^{ème} jour, puis il est marqué une légère diminution à 181.10^4 UFC/ml à la dernière semaine de conservation. En revanche, le nombre de *Lactobacillus bulgaricus* a tendance à augmenter de 14.10^4 à 111.10^4 UFC/ml en moyenne de 0 heure jusqu'au 14^{ème} jour, puis il a diminué à 82.10^4 UFC/ml au 21^{ème} jour.

Nos résultats corroborent que les espèces de *Streptococcus thermophilus* assurent en général durant la fabrication des laits fermentés, le départ de la fermentation lactique en produisant du lactate, qui abaisse le pH du milieu jusqu'à 5,2 (**Ebenzer et Vedamuthu, 1991**), où la croissance de ces germes est ensuite inhibée et ce sont ensuite d'autres germes plus acidotolérants tels les *Lactobacillus bulgaricus* qui prennent le relais et terminent la fermentation ; particulièrement en phase de stockage des produits à froid à 4°C.

Toutefois, plus le taux d'incorporation d'extrait de thym est élevé, plus le nombre moyen des germes spécifiques est diminué. Ces réponses peuvent être liées à l'effet inhibiteur des extraits de thym sur les germes spécifiquesensemencés. Apparemment, l'augmentation d'extraits de thym réduit remarquablement le nombre des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* dans les yaourts expérimentaux. Ceci justifie bien l'existence de substances bioactives dans la plante ayant un pouvoir d'inhiber la croissance des germes spécifiques du yaourt.

Globalement, durant les 4 périodes de poste acidification, le yaourt témoin a été classé au premier rang du point de vue goût acide, par rapport aux autres essais expérimentaux. Cette acidité révélée lors de la dégustation, est du assurément à une fermentation lactique du lactose constitutif du lait, par le biais particulièrement des souches lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*)ensemencées dans les laits fermentés (**William, 1989 ; Fazel, 1997**).

Concernant, le goût de fraîcheur, l'odeur, l'arrière-goût et la couleur des produits, il s'avère que les dégustateurs ont moins bien apprécié les laits fermentés additionnés d'extrait de thym. D'après les dégustateurs, la cohésivité ainsi que l'adhésivité des yaourts expérimentaux sont acceptable surtout pour les échantillons à 2 et 4% d'extrait de thym y compris le yaourt témoin.

En conclusion, il est à signalé que cette plante autochtone médicinale qui pousse bien dans la région de Naama à savoir le *Thymus vulgaris* peut être exploitée comme conservateur bio en yaourterie pour fabriquer un yaourt santé, alicament ayant des vertus thérapeutiques particulières.

Conclusion

A l'issu de cette étude, et d'après les résultats obtenus au cours des deux phases, à savoir ; de fermentation et de poste acidification, il s'avère que les valeurs moyennes de pH démontrent une croissance proportionnelle aux taux d'extrait de thym additionnés dans les laits fermentés ; alors que celles de l'acidité, au contraire sont plutôt diminués dans les produits.

En outre, il apparait que le nombre des germes spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* est inversement proportionnelle avec le taux d'incorporation d'extrait de thym. Le nombre de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* présent dans les yaourts expérimentaux au thym répond néanmoins au nombre requis pour un yaourt étuvé standard de ; 10^7 germes vivants/ml.

Au cours de toute la période de l'étude, d'une façon globale, les dégustateurs ont bien accepté les critères sensoriels (goût acide, goût de fraîcheur, cohésivité, adhésivité, odeur, arrière-goût et couleur) des laits fermentés, type yaourt étuvé expérimental additionné d'extrait du thym, malgré que la qualité à tendance à diminuer à certaines doses sévères d'extrait du thym.

Enfin, il est devenu primordial pour les industriels de yaourt d'intégrer ce genre d'études sur les laits fermentés en essayant d'incorporer d'autres extraits de plantes médicinales autochtones ayant des vertus particulières tels que le Romarin, l'armoise, la Menthe...etc.

En ce qui concerne le test des hypothèses, les résultats sont comme suit :

En fonction des expériences que nous avons menées, et de par leurs résultats, les tests se présentent ainsi :

- L'hypothèse principale a été validée.
- La première sous hypothèse a été également validée.
- Tandis que, la deuxième sous hypothèse a été invalidée.

Références

- 1- Accolas JP, Hemme D, Desmazeaud MJ, Vassal L, Brouillames C, Veaux M.** Le lait. Revue N° 60. P487-52. « On the approximation of the laws of the member states concerning foods additives authorized for use in foods tuffs intended for human consumption ». Official journal of the European communities. L 40. 1989 ; 27-33.
- 2- Adzet T, Vila R, Cafiigueral S.** Chromatographic analysis of polyphenols of some Iberian *Thymus vulgaris* L. *Ethnopharm.* 1988 ; 22 : 147-154.
- 3- Akgul A, Kivanc M,** Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. *International journal of Food Microbiology.* 1988 ; 6 : 263-268.
- 4- Alais C, Lenden G.** Abrégé de Biochimie Alimentaire. Edition Masson, pris, Milan, Barcelone. 1984 : 134-148.
- 5- Alilou H, Hassani LMI, Barka N, Bencharki B.** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d’*Asteriscus graveolens* subsp. *odorus*, Afrique Science. 2014 ; 10(3) : 316 – 328.
- 6- Alvarez F, Arguelles C, Caberd M.** Fermentation of concentrated skim-milk Effet of different protein/Lacto-ratios obtained by ultra-filtration, Diafiltration. *Journal of dairy science* N° 45. 1998 ; 655-700.
- 7- Amiot J.** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l’écologie évolutive des composés secondaires. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d’Agronomie de Montpellier. 2005 ; O.P : 109-639-64.
- 8- Assche PV.** Produits laitiers fermentés à activité probiotique. *Nutri-News*, 1994 ; (4): 4-9.
- 9- Baccigalupi L, Naclerio G, De Felice M, Ricca E.** Mutagénèse efficace d’insertional dans le *Streptocoque* thermophile. *Gène*, 2000 ; 258 : 9-14.
- 10- Balladin DA, Headly O.** Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linnée) herols. *Renewable Energy.* 1999 ; 17 : 523-531.
- 11- Baydar H, Sagdic O, Ozkan G, Karadogan T.** Antibacterial actitivity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Saturja* spices with commercial importance in Turkey. *Food Control.* 2004 ; 15 : 169-172.

- 12- Benzi IFF.** Lipid peroxidation : a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 1996 ; 47 : 233-261.
- 13- Bergamaier D.** Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *Lactobacillus rhamnosus* RW-959M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de Doctorat, Université de Laval, Canada. 2002 :55.
- 14- Bhashara Reddy MV, Angrers P, Gossin A, Paul J.** Characterisation of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*. 1998 ; 47 : 1515-1520.
- 15- Biliaderis CG, Khan MM, Blank G.** Rheological and sensory properties of yogurt from skim milk and ultrafiltered retentates. *International Dairy Journal*. 1992 ; 2 : 311-323.
- 16- Blanc B.** La valeur nutritionnelle des produits laitiers fermentés. *Bull. FIL/IDF*. 1984 ; 179 : 31.
- 17- Bouhdid S, Idaomar M, Zhiri A, Bouhdid D, Skali NS, Abrini J.** *Thymus* essential oils : chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies, Agadir*. 2006 ; 324-327.
- 18- Bourgeois CM, Leveau JY.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier : Tech. Et Doc. 1980 ; 331.
- 19- Bourgeois CM, Mexele JF, Zucca J, Larpent JP.** Microbiologie alimentaire. Ed Lavoisier. Tec et Doc. 1989 ; 2 : 18-30.
- 20- Boutekedjiret C, Khalfi O, Hamoudi S, Bentahar F.** Etude de l'activité insecticide de l'huile essentielle d'origan (*Origanum glandulosum*). IV^e congrès international. Environnement et Identité en Méditerranée, Cors, France. 2004.
- 21- Bruneton J.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Editions Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 1999 ; 1120.
- 22- Bruneton J.** Pharmacognosie – phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Ed Tec & Doc Lavoisier, Paris. 1999 ; 1120 : 381-484-497-546-549.

- 23- Bruneton J.** Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. 2^{ème} Edt. Tech & Doc, Lavoisier, Paris. 1993.
- 24- Burrus V, Bontemps C, Decaris B, Guedon G.** Caractérisation d'un système de restriction-modification du type II de roman, Sth368I, codé par l'élément ingénieur ICES*St*I du streptocoque CNRZ368 thermophile. APPL. Entourez. Microbiologie. 2001 ; 67 : 1522-1528.
- 25- Cayot P, Lorient D.** La micelle de caséine. In Structures et technofonctions des protéines du lait. Cay ot p, & Lorient D. (Eds). Technique et Documentation, Lavoisier. Paris. 1998, 51-79.
- 26- Codree PE, Somkuti GA.** Clonage et expression de l'opéron de pediocin dans les bactéries de fermentation de streptocoque thermophile et autre lactique. Curr. Microbiologie. 1999 ; 39 : 295-301.
- 27- Corvi A.** Evénement, le yaourt, les laits fermentés. Tec&doc. Sepiac. Paris. 1997, 14-17.
- 28- Courtin P, Monnet M, Rul F.** Cell-wall proteinases PrtS B have a different role in *Streptococcus thermophilus/ Lactobacillus bulgaricus* mixed cultures in milk. Microbiology, 2002 ; 148 : 3413-3421.
- 29- Danone.** La valeur nutritionnelle des produits Danone. 2000.
- 30- Dellaglio F, De Rossart H, Torrianis S, Curk M, Janssens D.** Caractérisation générale des bactéries lactiques. Tec & Doc (Eds), Lorica, 1994 ; 1 :25-116.
- 31- Desmazeaud MJ.** Les bactéries lactiques. CIPILP 1992 : 200-201, 210-300.
- 32- Doleyres Y.** Production en conteneu du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse Doctorat. Université de Laval. Quebec. 2003 : 167.
- 33- Dorman HJD, Deans SG.** Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied microbiology. 2000 ; 88 : 308-316.
- 34- Dorman HJD, Peltoketo A, Hiltunen R, Tikkanen HJ.** Characterisation of the antioxidant properties of odourised aqueous extracts from selectes lamiaceae herbs. Food chemistry. 2003 ; 83 : 255-262.
- 35- Driessen FM.** « EVEDENCE that Lactobacillus in yoghurt is stimulated by carbon produced by Streptococcus thermophiles ». Mille. Dairy journal, 1992 ; 22 : 134-144.

- 36- Ebenzer et Vedamutu.** « The yaourt story, post, present and future ». Dairy food environmental sanitation. J. Sci. Food. 1991 ; 2 : 265-266.
- 38- Faleiro MF, Miguel MG, Venancio F, Taveares R, Brito JC, Figueiredo AC, Brrosoet JG, Pedro LG.** Antibacterial activity of the essential oils from portuguese endemic spices of *thymus*. Letter in applied Microbiology. 2003 ; 36 : 35-40.
- 39- Fernandes AM, Oliviera CAF, Lima CG.** Effects of somatic cell counts in milk of physical characteristics of yoghurt. International Dairy Journal. 2007, 17-111-115.
- 40- Giordani R, Kaloustian J, Abou L, Mikail C, Regli P, Portugal H.** Etude de l'action antifongique de différentes huiles essentielles : action synergique entre l'amphotericine B et l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*. 6^e symposium international d'aromathérapie scientifique et plantes médicinales, Grasse, France. 2004.
- 41- Gravie EL, Farrow JAE.** *Streptococcus lactis* subsp. *Cremotis* and *Lactobacillus lactis subs diacetylactis*. In : J Sut, Bcteriol. 1982 ; 32 :453-455.
- 42- Guedon G, Bourgoïn F, Peby M, Roussel Y, Colmin C, Simonet JM, Decaris B.** Caractérisation et distribution de deux ordres d'insertion, ISI191 et iso-IS981, dans le streptocoque thermophile : le transfert intergeneric des ordres d'insertion se produit-il dans des co-cultures de bactéries d'acide lactique ? Mole. Microbiologie. 1995 ; 16 : 69-78.
- 43- Guillén MD, Manzanos MJ.** Study of the composition of the different parts of a spanish *Thymus vulgaris* L. plant. *Food chemistry*. 1998 ; 63 : 373-383.
- 44- Guyot P.** Les yaourts D.L.G. Foods. Tec. 1992, 4-8-10-11.
- 45- Haddaf Y, Kaloustian J, Giordan R, Regli P, Chefour A, Abdou L, Mikail C, Portugal H.** Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. et de *Thymus numidicus* Poiret d'Algérie. 6^e symposium international d'aromathérapie scientifique et plantes médicinales, Grasse, France ; 2004.
- 46- Harding JJ.** The unusual links and cross-links of collaen. Advance in protein chemistry, 1965 ; 20 : 190-090.
- 47- Hassan AN, Frank JF, Farmer ML, Schmidt KA, Shalabi SI.** Observation of encapsulated lactic acid bacteria using confocal scanninglaser microscopy. Journal of Dairy Science. 1995, 78-2624-2628.

- 48- Heerje I, Visser J, Smits P, 1985.** Structure formation in acid milk gels. *Food Microstructure*, 1985, 4-267-277.
- 49- Helander MI, Alakomi HL, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid EJ, Gorris LGM, Vonwright.** Characterisation of the action of selected essential components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 1998 ; 46 : 3595-3595.
- 50- Hess SJ, Roberts RF, Ziegler GR.** Rheological properties of nonfat yogurt stabilized using *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* producing expolysaccharide or using commercial stabilizer systems. *Journal of Dairy Science*. 1997, 252-263.
- 51- Hudaib K, Speroni E, Di Pietra AM, Cavrini V.** GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris L.*) oil composition and variation during the vegetative cycle. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*. 2002 ; 29 : 691-700.
- 52- Imhof R, Glattli H, Bosset JO.** Volatil organic aroma compounds produced by thermophilic and mesophilic mixed strain dairy starter cultures. *Biochemistry and technology*, 1994 ; 27 : 442-449.
- 53- Juven B, Kanner J, Schved F, Weisslowicz H.** Factor that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology*. 1994 ; 76 : 626-631.
- 54- Karman S, Digrak M, Ravid U, Ilcim A.** Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*. 2001 ; 76 : 183-186.
- 55- Kulsic T, Dragovic-Uzelac V, Milos M.** Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.* 2006 ; 44 : 485-492.
- 56- Lamoureaux L.** Exploitation de l'activité B-galactosidase de culture de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. Mémoire de maîtrise Université de Laval, Canada, 2000 : 157.
- 57- Lenoir J, Hermier J, Weber F.** Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Tec et Doc. Edition Lavoisier. CEPIL. France, 1992 ; 73 : 251-259.

- 58- Leory J, Hermier J, Weber F.** Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Tec et Doc. Edition Lavoisier. CEPIL. France, 1992 ; 75384 : 15-375.
- 59- Ling B, Zhang M, Kong C, Pang X, Liang G.** Chemical composition of volatile oil from *Chromolaena odorata* and chemical proprieties of *Eucalyptus saligna* from Zaire. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*. 1982 ; 16 : 34-38.
- 60- Loones A.** Lait fermenté par des bactéries lactiques. In « bactéries lactiques ». Vol II. De Roissart H, Luquet FM Ed. Loriga, Paris. 1994 : 37-151.
- 61- Luquet FM, Carrieu G.** Bactéries lactiques et probiotiques. Collection sciences et techniques agroalimentaires, Ed Lavoisier Tec et Doc, Paris, 2005, 307.
- 62- Luquet FM.** Les produits Laitiers transformation et technologie. 2^{ème} édition lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tec&doc Apria lavoisier.1990, 85-206.
- 63- Marty-Taysset C, De La Torre F, Gareal J-R.** Increased production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus delbrueckii*ssp*bulgaricus* upon aeration : involvement. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000 ; 66(1) : 262-267.
- 64- Mietton B, Weber F, Desmazeaud M, De Roissart H.** Transformation des produits animaux. Transformation du lait en fromage. In *Bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques*. Vol 2. De Roissart H & Luquet FM. (Eds), Loriga, 1994, 55-133.
- 65- Morales R.** The story, botany and taxonomy of the genre *Thymus*. In : *Thyme : the genre Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. 2002 ; 1-43.
- 66- Morimitsu Y, Yoshida K, Esaki S, Hirota A.** Protein glycation inhibitors from thyme (*Thymus vulgaris*). *Biosci. Biotechn. Biochem.* 1995 ; 59 : 2018-2021.
- 67- Özcan M, Chalcha JC.** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30(4). 2004 ; 68-73.
- 68- Paci Kora E.** Interaction physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la saveur ? Thèse de doctorat de l'institut national agronomique de Paris-Grignon, science des aliments, 2004, 258.
- 69- Pamo TE, Tapondjou L, Tendonkeng F, Ngandeu F, Kana JR.** Effet des huiles essentielles des feuilles et des extrémités fleuries de *Cupressus lucitanica* sur la tique

(*Rhipicephalus appendicalatus*) à l'Ouest-Cameroun. Revue de l'Académie Des Sciences. 1982.

70- Pavela R. Insecticidal activity of certain medicinal plants. *Fitoterapia*. 2004 ; 75 : 745-749.

71- Perrin C, Guimont C, Bracquart P, Gaillard JL. Expression d'une nouvelle protéine froide de choc du 21.5KDa et de la protéine froide principale de choc par le Streptocoque thermophile après choc froid. *Curr. Microbiol.* 1999 ; 39 : 342-347.

72- Pibiri MC. Assainissement microbiologique de l'air de synthèse de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat. Institut des infrastructures, des ressources et de l'environnement. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne. 2005.

73- Piccaglia R, Marotti M. *Flavor Fragrance Journal*. 1993 ; 8 :115.

74- Poolman B, Royer TJ, Mainzer SE, Schmidt BF. Système de transport de lactose de streptocoque thermophile : une protéine hydride avec l'homologie au porteur et à l'enzyme III de melibiose des systèmes phosphoénolpyruvate-dépendants de phosphotransferase. *J.Bacteriol.* 1989. 171 : 244-253.

75- Quezel P, Santa MS. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques. CNRS, Paris. 1962-1963.

76- Rassoli I, Abyaneh MR. Inibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Chemistry*. 2004 ; 15 : 479-483.

77- Rossel Y, Pebay M, Guedon G, Simonet JP, Decarism B. physical and genetic map of *Streptococcus thermophilus* A054. *Journal of Bactériology*, 1994 ; 176(24) : 7413-7422.

78- Sagdic O, Ozkan M. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food control*. 2003 ; 14 : 141-143.

79- Schkoda A, Stumph A, Kessler HG. Stability of texture of fermented milk products in relation to composition. In *Texture of fermented milk product and dairy dessert*. Proceedings of the IDF symposium. Vicenza, Italy. 1998, 115-121.

80- Schmidt JL, Tourneur C, Lenoir J. Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in « bactéries lactiques », Vol II. De Roissart H, Luquet F.M.E.D. Loriga, Paris. 1994 ; 37-46.

- 81- Singh Sudheer K, Ahmed Syesd U, Ashok P.** Yogurt science and technology. 2nd. Cambridge : Woodhead Publishing. 2006.
- 82- Sokmen A, Gulluce M, Akpultat HA, Deferera D, Tepe B, Poissiou M, Sokmen M, Sahin F.** The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. Food Control. 2004 ; 15 : 627-634.
- 83- Solow BT, Somkuti GA.** Propriétés moléculaire de streptocoque plasmide thermophile pER35 codant un système de modification de restriction. Curr. Microbiologie. 2000. 42 : 122-128.
- 84- Tamime AY, Kalab M, Davies G.** Microstructure of set-style yoghurt manufactured from cow's milk fortified by various methods. Food Microstructure. 1984, 3-83-92. Composition. In Texture of fermented milk products and dairy dessert. Proceedings of the IDF Symposium Vivenza, Italy. 1998, 93-105.
- 85- Tamime AY, Robinson RK.** Background to manufacturing practice. In Yoghurt. Science and technology. Tamime AY & Robinson RK. (Eds), Pergamon Press, Paris, 1985, 7-90.
- 86- Tamime AY, Robinson RK.** Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge : woodhead Publishing, 1999.
- 87- Tepe B, Sokmen M, Akpultat HA, Deferera D, Poissiou M, Sokmen A.** Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus supyleus* subsp. *Sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *Sipyleus* var. *rosolans*. Journal of Food Engineering. 2005 ; 66 : 447-454.
- 88- Tomaino A, Cimino F, Zimbalatti V, Venuti V, Sulfaro V, De Pasquale A, Saija A.** Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. Food Chemistry. 2005 ; 89 : 549-554.
- 89- Ultee A, Slump RA, Stegin G, Smid EJ.** Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. Journal of Food Protection. 2004. 63 ; 620-624.
- 90- Ultee A, Smid EJ.** Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. International Journal of Food Microbiology. 2001 ; 64 : 373-378.
- 91- Valero M, Salmeron MC.** Antibacterial activity of 11 essential oils *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. International Journal of Food Microbiology. 2003 ; 73-81-85.

92- Visser J, Minihan A, Smits P, Tjian SB, Heertje I. Effects of Ph and température of the milk salts system. Nertherlands Milk Dairy Journal. 1986, 40-351-368.

93- Whatson RH. Les maladies du bétail transmises par les tiques et leurs vecteurs : résistance aux acaricides. Revue Mondiale de Zootechnie, FAO. 1976 ; 20 : 8-15.

94- Wiliam T, Hamma H, Elmer H, Marth H. Survial of *Streptococcus thermophiles* and *Lactobacillus bulgaricusin* commercial and expérimental yagourt. Ed. App. Ear Microbiology, 1984 ; 41 : 807-815.

Annexe

1) Annexes des analyses physico-chimiques :

1.1) Mesures de l'acidité :

1.1.1) Réactifs et appareillages :

- ✓ 50g de soude (NaOH,N/9)
- ✓ 1g de phénolphataléine (1%)
- ✓ 100ml d'éthanol
- ✓ Burette
- ✓ Béchers
- ✓ Pipettes (10ml)

1.1.2) Mode opératoire :

L'acidité dornic est déterminée par titration d'un échantillon de 10ml à l'aide de soude dornic (N/9) en présence d'indicateur coloré (phénolphthaléine 1% dans l'éthanol à 95ù) Jusqu'au virage au rose pal.

1.1.3) Expression des résultats :

$$\text{Acidité dornic} = V_{\text{NaOH}} \cdot 10$$

V_{NaOH} : le volume de NaOH (N/9) nécessaire pour titrer l'échantillon jusqu'à l'apparition de la couleur rose pal.

1.2) Mesure de la viscosité :

1.2.1) Appareillages :

- ✓ Bille de 7g masse, de 12 mm de diamètre et de masse volumique égale à 7,612 g.m⁻³.
- ✓ Tube cylindrique de 20 cm de longueur.
- ✓ Chronomètre servant à mesurer le temps de chute de la bille.

Annexe

1.2.2) Mode opératoire :

Introduire la bille de 7g dans le tube cylindrique rempli avec le produit à analyser par une chute libre sur une distance constante de 10 cm, tout en mesurant le temps par le biais d'un chronomètre.

1.2.3) Expression des résultats :

$$\mu = K \cdot (\varepsilon_{\text{bille}} - \varepsilon_{\text{yaourt}})$$

$$K = \frac{2 \cdot r^2 \cdot g}{9 \cdot x}$$

Donc

$$\mu = \frac{2r^2g}{9x} \cdot (\varepsilon_{\text{bille}} - \varepsilon_{\text{yaourt}}) \cdot t$$

μ : Viscosité dynamique ($\text{Kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$).

K : constante, tel que $K = 8,175 \cdot 10^{-4} \text{m}^{-2}$.

r : rayon de bille tel que, $r = D/2 = 6 \text{ mm}$.

x : la distance d'écoulement de la bille, $x = 10 \text{ cm}$.

g : la force de pasteur, tel que, $g = 9.81 \text{ m/s}^2$.

$\varepsilon_{\text{bille}}$: la masse volumique de bille $\varepsilon_{\text{bille}} = 7,612 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$.

$\varepsilon_{\text{yaourt}}$: la masse volumique de yaourt ($\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$).

t : temps parcouru pour la bille entre deux points A et B.

1.3) PH :

Le dosage du pH est réalisé par un pH-mètre étalonné par deux solutions, l'une acide et l'autre basique.

Annexe

2) Annexe des analyses microbiologiques :

2.1) Dénombrement des *Streptococcus thermophilus* :

2.1.1) Inoculation :

Prélever 1 ml de dilution 10^{-4} , et introduire dans la boîte de pétri, ensuite, couler le flacon de M₁₇ dans les boîtes pétries (en masse).

2.1.2) Incubation :

Placer les boîtes de pétris dans l'incubateur à 37°C pendant 24 à 48 heures.

2.1.3) Lecture des résultats :

Les *Streptococcus thermophilus* se développent en donnant des colonies rondes à contour régulier d'une coloration blanche-crème.

2.2) Dénombrement des *Lactobacillus bulgaricus*

2.2.1) Inoculation :

La même démarche précédente citée par les *Streptococcus thermophilus* est effectuée dans le dénombrement des *Lactobacillus bulgaricus*, mais le milieu sélectif adapté est le MRS « Man Rogasa et sharpe ».

2.2.2) Incubation :

Les boîtes de pétri retournées sont placées dans l'incubateur à 44°C pendant 48 à 72 heures.

2.2.3) Lecture des résultats :

Les colonies de *Lactobacillus bulgaricus* ont un diamètre de 0,5 à 1mm. Elles sont opaques, lisses ou parfois granuleuses, de formes circulaires et de couleur blanchâtre.

Composition M17 :

Peptone	10g
Extrait de viande	5g

Annexe

Extrait de levures	2.5g
Glycérophosphat de sodium	12g
Sulfate de magnésium	0.25g
Acide ascorbique	0.5g
Agar-agar	15g
Glucose	0.5g
Eau distillé	1L
Ajuster le pH du milieu entre	7.1 à 7.2

Composition de MRS :

Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levures	5g
Glucose	20g
Tween80	1ml
Phosphate di potassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0.2g
Sulfate de maganèse	0.05g
Agar	20g
Eau distillé	1L
Ajuster le pH du milieu entre	6.4 à 6.7

Annexe

Université Abdelhamid ben Badis-Mostaganem

Département d'Agronomie

Paneliste N° :.....

Nom :.....

Prénom :

Sexe :.....

Fonction :.....

Fiche de dégustation

	<i>Echan· 1</i>	<i>Echan· 2</i>	<i>Echan· 3</i>	<i>Echan· 4</i>	<i>Echan· 5</i>
<i>Gout acide</i>					
<i>Gout de fraicheur</i>					
<i>Cohésivité</i>					
<i>Adhésivité</i>					
<i>Odeur</i>					
<i>Arrière-</i>					

Annexe

<i>Couleur</i>					

Il est demandé aux panelistes d'apprécier la qualité des produits selon les critères suivants et une échelle variable de 1 à 10 :

- **1,2,3 : Mauvais (e) ,**
- **3,4,5 : Bon (Bonne)**
- **6,7,8 : Très bon (bonne)**
- **9 et 10 : Excellent (Excellente).**

Définitions :

- **Gout acide** : Consiste à apprécier l'ampleur de l'acidité développée par les germes lactiques ensemencés dans les laits fermentés type yaourt au cours de l'entreposage.

- **Gout de fraîcheur** : Consiste à apprécier l'ampleur de la sensation de fraîcheur lors de la mise en bouche du produit.

- **Cohésivité** : Consiste à déterminer la capacité maximale de déformation en pot de l'échantillon avant de se rompre lorsqu'il est écrasé entre les doigts.

- **Adhésivité** : Exprime l'intensité des forces inter faciales développées entre la surface d'une cuillère et celle de l'échantillon lors d'une prise en pot du produit.

- **Odeur** : Le panéliste est appelé à apprécié la sensation d'odeur désagréable des produits conservés au froid à 4°C.

- **Arrière-goût** : Le panéliste est appelé à apprécier la sensation de l'arrière gout amère dans les produits présentés.

- **Couleur** : Consiste à apprécier le niveau d'acceptabilité de la couleur des produits par les consommateurs.

Résumé

Cette étude vise à déterminer l'effet des extraits de thym (*Thymus vulgaris*) sur la qualité et la stabilité (physicochimique, microbiologique et organoleptique) d'un lait fermenté alicament type yaourt étuvé au cours de sa conservation à 4°C durant 21 jours.

En ce qui concerne les résultats physicochimiques, les valeurs de pH mesurées sont proportionnelles, avec la concentration d'extrait de thym additionné aux produits expérimentaux. Cette tendance est inversée pour l'acidité dont de nettes diminutions des valeurs sont enregistrées avec l'augmentation des doses d'extrait de thym ajoutés lors de la préparation des laits fermentés.

Ensuite, pour les résultats microbiologiques, le nombre des germes spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* apparaît répondre aux normes requise pour un yaourt étuvé ; de 10^7 germes vivants/ml.

Enfin, pour les résultats organoleptiques, l'utilisation à de faibles doses de 2 et 4% de l'extrait de *Thymus vulgaris* comme adjuvant aux yaourts expérimentaux n'a pas altéré les principaux critères organoleptiques des produits. Toutefois, les laits fermentés préparés à de fortes doses d'extrait de thym de 6 et 8% ont présenté de médiocres résultats organoleptiques.

Mots clés : Thym (*Thymus vulgaris*), yaourt étuvé, lait fermenté.