# République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ben Badis-Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم كلية علوم الطبيعة و الحياة

# DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2017

# Mémoire de fin d'études

Présenté par

ZAHAF Leila et MEFTAH Hafeda

Pour l'obtention du diplôme de

# Master en BIOLOGIE

Spécialité: VALORISATION DES SUBSTANCES NATURELLES VÉGÉTALES

# Thème

Effets antimicrobiens de l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* (Thym) récolté dans la région de SETIF sur la qualité et la stabilité d'un lait alicament fermenté type yaourt ferme.

Soutenues publiquement le 02/07/2017

# Devant le Jury:

Présidente	M <sup>me</sup> SAIAH.F	MCB	Univ. Mostaganem
Encadreur	M <sup>r</sup> . BEKADA. A	Professeur	Univ. Tissemsilt
Co-encadreur	M <sup>r</sup> . AIT SAADA. D	MCA	Univ. Mostaganem
Examinateur	M <sup>r</sup> .DEBBA.MB	MAA	Univ. Mostaganem
Invité	M <sup>r</sup> . HAROUNE. K	Doctorant	Univ. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire de Chimie et le laboratoire de Microbiologie de l'Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2016/2017

# Remerciements

Avant tous nous avons remercié "Allah" qui a guidé nos pas vers la voie du savoir.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de chimie 1 de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie, de l'Université de Mostaganem sous la direction de Mr. Bekkada A. et Mr. Ait saada D, à qui nous lui adressons notre profonde gratitude pour la proposition de ce thème les conseils éclairés et les encouragements qu'elle n'a cessés de nous prodiguer tout au long de ce travail.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance au présidente du jury  $M^{me}$  SAIAH.F et l'examinateur Mr.DEBBA.MB d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre Modest travail.

Nos sincères reconnaissances vont à tous les ingénieurs des Laboratoires de chimie, biochimie et microbiologie.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste mémoire.

# Dédicaces

Je dédie ce mémoire : A mes très chers parents pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements.

Que ce travail soit, pour eux, un témoignage de ma profonde affection.

À la mémoire de mes grands parents paternels et maternels

À mes frères : Nasreddine, Abdenour et Mounir

À mes sœurs : Nesrin et Meryem

À mes oncles

À toute ma famille

 $\hat{A}$  mes chers amis de la promotion VSNV 2017.



Je dédie ce mémoire : A mes très chers parents pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements.

Que ce travail soit, pour eux, un témoignage de ma profonde affection.

 $\hat{A}$  la mémoire de mes grands parents paternels et maternels  $\hat{A}$  mes frères

À ma sœur :Nacira

 $\hat{A}$  toute ma famille  $\hat{A}$  mes chers amis de la promotion VSNV 2017

Meftah Hafeda

# Liste des abréviations

°C : Degré celsuis

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

°**D** : Degré Dornic

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: peroxyde d'hydrogène

**mg**: miligramme

**mg/l**: miligramme par litre

**g**: gramme

**pH** : potentiel hydrogène

**T°** : température optimale

**FAO**: Food Agriculture Organisation

**L.b** : Lactobacillus bulgaricus

**S.t** : Streptococcus thermophilus

**J** : jour

H : heur

l : litre

**ml**: millilitre

**NS**: non significatif

UFC: unité formant colonie

Vs : vis à vis

\* : significatif

\*\* : hautement significatif

μ : viscosité dynamique

% : pourcentage

# Liste des figures

N° Fig	Titre	Page
1	Thymus vulgaris L.	5
2	Aspects morphologiques de Thymus vulgaris L.	6
3	Aspect des cellules de St. thermophilus sous le microscope	
	électronique.	11
4	Aspect des cellules de Lb. bulgaricus sous le microscope électronique.	
		12
5	Métabolisme complémentaire de Strptococcus thermophilus et de	
	Lactobacillus bulgaricus dans le lait.	17
6	Diagramme de fabrication du yaourt ferme et brassé.	
		20
7	Diagramme de l'extraction.	24
8	Diagramme de fabrication de levain lactique.	26
9	Diagramme de fabrication du yaourt fermenté.	27
10	Diagramme de dilutions.	29
11	Evolution de pH des laits fermentés au cours de la période de	
	fermentation et post-acidification.	31
12	Évolution de l'acidité Dornic des laits fermentés au l'extrais de thym	
	durant la période de fermentation et de poste acidification.	33
13	Evolution moyenne de la viscosité de laits fermentés au cours de la	
	période de fermentation et de post –acidification.	34
14	Evolution moyenne de germe Streptococcus thermophilus des laits	
	fermentés expérimentaux au cours de la période de post-acidification.	36
15	Evolution moyenne de germe Lactobacillus bulgaricus des laits	
	fermentés expérimentaux au cours de la période de post-acidification.	37
16	Variation de la sensation de gout acide des laits fermentés	
	additionnés d'extrait à l'eau de <i>Thymus vulgaris</i> .	38

17	Variation de la sensation de gout fraicheur des laits fermentés	
	additionnés d'extrait à l'eau de Thymus vulgaris.	39
18	Variation de la sensation de la cohésivité des laits fermentés	
	additionnés d'extrait à l'eau de Thymus vulgaris.	41
19	Variation de la sensation de l'adhésivité des laits fermentés	
	additionnés d'extrait à l'eau de Thymus vulgaris.	42
20	Variation de la sensation de l'odeur des laits fermentés additionnés	
	d'extrait à l'eau de Thymus vulgaris	43
21	Variation de la sensation de l'arrière-goût des laits fermentés	
	additionnés d'extrait à l'eau de Thymus vulgaris.	44
22	Variation de la sensation de la couleur des laits fermentés additionnés	
	d'extrait à l'eau de <i>Thymus vulgaris</i> .	45

# Liste des tableaux

N° Tab	Titre	Page
1	Effet d'incorporation des extraits à l'eau de Thymus vulgaris sur le	
	pH des laits fermentés.	32
2	Effet d'incorporation des extraits à l'eau de Thymus vulgaris sur	
	l'acidité des laits fermentés.	33
3	Effet d'incorporation des extraits à l'eau de Thymus vulgaris sur la	
	viscosité des laits fermentés.	35
4	Évolution du nombre de Streptococcus thermophilus (N.104 UFC/ml)	
	des laits fermentés par additionnés du extraits à l'eau de thymus	
	vulgaris.	36
5	Évolution du nombre de Lactobacillus bulgaricus (N.104 UFC/ml)	
	des laits fermentés par additionnés du extraits à l'eau de Thymus	
	vulgaris.	38
6	Effet d'incorporation des extraits à l'eau de thymus vulgaris sur le	
	goût acide des laits fermentés.	39
7	Effet d'incorporation des extraits à l'eau de Thymus vulgaris sur le	
	goût fraîcheur des laits fermentés.	40
8	Effet d'incorporation des extraits à l'eau de Thymus vulgaris sur la	
	cohésivité des laits fermentés.	41
9	Effet d'incorporation des extraits à l'eau de Thymus vulgaris sur	
	l'adhésivité des laits fermentés.	42
10	Effet d'incorporation des extraits à l'eau de Thymus vulgaris sur	
	l'odeur des laits fermentés.	43
11	Effet d'incorporation des extraits à l'eau de Thymus vulgaris sur	
	l'arrière-goût des laits fermentés.Évolution de l'acidité Dornic des	44
12	Effet d'incorporation des extraits à l'eau de Thymus vulgaris sur la	
	couleur des laits fermentés.	45

# Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des planches	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre I : Thymus vulgaris L	
1-Historique	3
2- Présentation	4
3- Classification	5
3-1Classification classique	5
4-Description botanique	6
5-Répartition géographique	7
5-1 Dans le monde	7
5-1 En Algérie	7
6- Propriétés du thym	7
7- Principes actifs du thym	8
Chapitre II : Généralités sur le yaourt	
1-Historique	9
2-Le lait fermenté	9
3-Le yaourt	9
4-Classification du yaourt	10
4-1 Teneure en matière grasses	10
4-2 Goût	10
4-3 Texture.	10
5-Les bactéries caractéristiques du yaourt.	11
5-1 Caractéristiques générales des bactéries du yaourt	11
5-2 Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt	13
5-2-1 Production d'acide lactique.	13
5-2-2 Activité protéolytique	13
5-2-3 Activité aromatique	13
5-2-4 Activité texturant	14

6-Fabrication de Levains lactiques
6-1 Fabrication des levains lactique 15
6-2 Conservation des levains lactiques.
6-3 Rôle et propriétés des levains lactiques
6-4 Symbiose des deux souches 16
7- Fabrication de yaourt
7-1 Préparation de lait
7-2 Pasteurisation
7-3 Refroidissement.
7-4 Ensemencement.
7-5 Conditionnement.
7-6 Incubation (fermentation)
7-7Arrêt de fermentation
7-8 Conservation.
7-9 Intérêts nutritionnels du yaourt
8-Qualité du yaourt
8-1 Aspects physico-chimiques
8-2 Aspects hygiéniques 22
8-3 Qualité organoleptique 22
Partie expérimentale
Chapitre III : Matériels et méthodes
1- Objectif de l'étude
2- Matériel végétal
3-Extraction des composés bioactifs
4-Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi d'extraits de thym
4-1 Protocol expérimental 25
4-2 Préparation des levains 25
4-3Fabrication du yaourt
5- Analyses expérimentales
5-1 Paramètres physico-chimiques
5-1-1 Acidité
5-1-2 pH

5-1-3	Viscosité dynamique	28
5-2 Analys	ses microbiologiques	29
5-2-1	Streptococcus thermophilus	29
5-2-2	Lactobacillus bulgaricus	29
5.3 Test or	ganoleptique	30
6. Traitement	statistique	30
	Chapitre IV : Résultats et discussions	
1-Résultats		31
1-1 Analyse p	physico-chimique	31
1-1-1	pH	31
1-1-2	Acidité Dornic titrable.	32
1-1-3	Viscosité	34
1-2 Ana	alyses microbiologique	35
1-2-1	Streptococcus thermophilus	35
1-2-2	Lactobacillus bulgaricus	37
1-3 Test	t organoleptiques	38
1-3-1	Goût acide.	38
1-3-2	Goût fraîcheur.	39
1-3-3	Cohésivité	40
1-3-4	Adhésivité	41
1-3-5	Odeur	42
1-3-6	Arrière-goût.	43
1-3-7	Couleur	44
2-Discussion.		46
2-1 Évolution	moyennes de pH et l'acidité Dornic	46
2-2 Viscosité.		46
2-3 Streptoco	ccus thermophilis et Lactobacillus bulgaricus	47
2-4 Test orgai	noleptique	48
Conclusion		49
Références bi	bliographiques	
Annexe		

Résumé

# Introduction

L'utilisation des plantes médicinales par l'homme est une pratique antique. De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes surtout aromatiques, compte tenu de leurs effets santés et thérapeutiques avères a moindre goût contre de nombreuses maladies.

Ces dernières années l'exploitation de ses plantes suscitent un intérêt de plus en plus croissant aussi bien chez les consommateurs que chez les diététiciennes et les nutritionnistes. Ils sont au centre de l'élaboration d'un bon nombre de produits alimentaires de grande valeur énergétique et diététique : « yaourt, fromage, confiture...etc. ».

En Algérie, une quantité considérable de lait cru est collectée et sert à la fabrication de divers produits laitiers, comme les fromages, les yaourts et lait fermentés.

Avec les progrès technologiques réalisés ; le yaourt apparait comme un produit laitier très digeste largement consommé et possédant une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié par les consommateurs surtout pour son goût et sa texture. C'est un produit consommé la plupart du temps comme un dessert, de part le monde, car il convient à toutes les tranches d'âge et même chez les sujets intolérants au lait.

Les bactéries lactiques sont largement impliqués dans la fabrication du yaourt, qui est obtenu par l'action des deux bactéries spécifiques à savoir : *Streptococcus termophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* qui doivent être ensemencées simultanément et se trouvées vivantes dans le produit fini ; à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme, à la date limite de consommation.

Ces bactéries jouent également un rôle essentiel dans la conservation et l'innocuité du produit, par la production des acides organiques et d'autres composés antimicrobiens ; comme les bactériocines qui inhibent la croissance des germes pathogènes de contamination.

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêts comme source potentielle de molécules naturelles bioactives capables de lutter contre de nombreuses maladies du siècle (diabète de type 2, hypercholestérolémie, des fonctionnement lipidique, infections urinaires etc...

Dans contexte le présent travail aqueux de thym (*Thymus vulgaris*) dans le yaourt en vue de fabriquer un alicament ayant des vertus santé particulières.

Il vise aussi à suivre l'effet de variation des doses de d'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* (0%, 2%, 4%, 6%, 8%) récolté dans la région de SETIF sur la qualité physicochimique, microbiologique, et organoleptique d'un lait fermenté alicament type yaourt ferme durant 21 jours de conservation au froid à 4 °C.

# Partie bibliographique

Chapitre I:

Thymus vulgaris L

# Chapitre I: Thymus vulgaris L.

# 1-Historique

Le terme « thym » est apparue dans la langue française au XIIIe siècle, d'abord sous la forme « thym », selon certaines sources, il est dérivé du latin thymus, qui l'a emprunté du grec thumos, signifie de façon quelque peu obscure « grosseur ou loupe » (par référence à la glande, le thymus.).D'autre pensent plutôt que me mot vient du grec thymos ou thyein qui signifie « fumée », par allusion au fait qu'il était brulé et qu'on lui attribuait alors le pouvoir d'éloigner, les créatures venimeuses. D'autre, rn fin font dériver le mot du grec *Thumus*, qui signifie « courage », la plante étant jadis considérée comme revigorant (Mebareki, 2010).

Il semblerait que, pendant longtemps, le thym ait surtout été employé en médecine et dans les rituels religieux ou magiques, ses usages culinaires se limitent à aromatiser le fromage et mes liqueurs. Les Égyptiennes s'en servaient pour embaumer leurs morts, les grecs pour parfumer les temples et l'eau des bais, les romaines pour purifier leurs appartements.

Les romains ont probablement diffusé le thym en Europe durant leurs invasions, particulièrement dans les pays du sud. Au Moyen Age, on est beaucoup servi pour masquer les mauvaises odeurs, notamment celles de la viande ou du poisson varié (Rasoli *et al.*, 2006).

De nos jours le thym est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne. Ses feuilles sont riches en huile essentielle dont les propriétés sont mises à profil en phytothérapie et en médecine comme produit vétérinaire (antiparasites, antispasmodique, antiseptique et digestif). Cela a été mentionné dans plusieurs études, (Cosentino *et al.*, 1999 ;Rasoli *et al.*, 2006 ;Ibrahimi *et al.*,2008), il est très utilisé contre la toux en décoction pour guérir les maux de tète,hypertention et gastrites, en usage externe comme cicatrisants, il possède des vertus antiseptiques utilisés pour soigner les infections pulmonaires, calmer des toux quinteuses, diminuer les secrétions nasals et soulager les problèmes intestinaux comme il l'a été rapportée par certaines auteurs (Rasoli *et al.*, 2006 ;Adwan *et al.*, 2006 ;Soto-Mendivil *et al.*, 2006).

Le thym commun *(Thymus vulgaris)* est une plante médicinale majeur de la pharmacopée méditerranéenne, qu'elle soit ancienne ou moderne. Essentiellement ses feuilles qui sont utilisées en phytothérapie. Cette plante peut être utilisée sous forme d'infusion, de teinture ou d'alcoolature, elle est également reprise par bon nombre de médications allopathiques pour soulager le système respiratoire. L'utilisation d'huile essentielle extraite des feuilles est aussi fort

reconnue, elle est d'ailleurs l'exemple parfait pour introduire la notion de hémotype, qui part sa grand diversité, démontrera la variabilité de ses composantes et propriétés.

De manière générale, c'est un anti-infectieux a large spectre, un stimulant immunitaire (en association) et circulatoire, un expectorant et un digestif. Feuilles fraiches, feuilles sèches.

Le thym commun est une espèce dont les composants chimiques du métabolite secondaire varient selon le climat et l'environnement (Chatelain, 1997).

# 2- Présentation

« Thym » est la francisation de thymus qui désignait en latin (également thymun) et en grec (thymon); plusieurs labiées aromatiques de petite taille. Le nom provient de l'égyptien than, non d'une plante servant à embaumer les corps ou de la racine grec que thym, signifiant « exhaler odeur ».

Le thym commun dans le midi et fréquemment cultivé dans les jardins est le thym vulgaire, *Thymus vulgaris*. Les provençaux le nomment « farigoule » en provençal farigoule. Ce terme provient du latin féru, sauvage.

Les autres espèces sont des plantes rampantes que l'on regroupe sou le nom global de « serpolet ». Ce nom dérive, via le provençal, du latin serpyllum qui désignait les thyms rampants 'également serpillum et serpllum). Il vient du grec herpillos, désignant les plantes, d'erpo, rampet (Couplan, 2012).

Les thymus sont des plantes herbacées ou de petits buissons dont la base est ligneuse. Ils poussent bien en pot.

Le genre *Thymus*, appartement à la famille des menthes, fédère environ 350 espèces, largement originaires du bassin méditerranéen puisque 70 espèces y sont connues. La majorité des espèces de thymus poussent dans les rocailleuse de l'Europe et de l'ouest de l'Asie. Il en existe plus de 200 cultivars dans les jardins.



Figure 01. Thymus vulgaris L. (Wikipédia, 2017).

# **3- Classification**

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (Morales, 2002).

# 3-1 Classification classique

Règne: Plantae

S / règne : Tracheobionta

**Division**: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

S / Classe: Asterdae

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

**Genre**: Thymus

**Espèce**: Thymus vulgaris

# 3-2 Classification phylogénétique

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

# 4-Description botanique

**Plante :** La plante est herbacée, souvent velue. C'est un petit sous arbrisseau vivace, touffu dont les rameaux sont très aromatiques, de 7 à 30 cm de hauteur qui ont un aspect grisâtre ou vert grisâtre (**Fig. 2**).

**Tige :** Elle est généralement quadrangulaire, souvent renflée aux nœuds. Elle est ligneuse à la base, et herbacée supérieurement ou elle devient presque cylindrique. Les tiges ligneuses et très ramifiées sont groupées en touffe ou en buisson très dense. Elles peuvent acquérir, vers leur base, une assez grande épaisseur. Les tiges florifères ne produisent jamais de racines adventives, et sont rampantes, dressées ou redressées, tortueuses dans leur partie inférieure, velues et blanches tout autour chez les jeunes rameaux.

**Feuilles :** Elles sont très petites, ovales, lancéolées, à bord roulé. En dessous les nervures latérales sont distinctes, obtuses au sommet, ponctuées supérieurement, aux pétioles extrêmement courts, et blanchâtres à leurs faces inférieures opposées, disposées en paire se croisant d'un noeud à l'autre, dépourvues de stipules et à limbe généralement denté.

Racines: Les racines sont pivotantes, ce qui permet à la plante d'aller chercher l'eau en profondeur.

**Fleurs :** Les fleurs sont généralement hermaphrodites, à symétrie bilatérale ou parfois presque radiaire. Elles sont roses ou presque blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, sont pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle13 des feuilles supérieures. (Bruneton, 1999 ; Morales, 2002).



**Figure 02.** Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L. (Iserin, 2001).

# 5-Répartition géographique

#### 5-1 Dans le monde

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, selon (Dob *et al.*, 2006), il existe prés de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et méditerranée. C'est une plante très répandue dans le nord ouest africaine (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye, elle pousse également sur les montagnes d'Éthiopie et d'Arabie du sud ouest en passant par péninsule du Sinaï en Égypte, on peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya.

Selon une étude menée par Nickavar et *al.*, 2005, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen, c'est pour cela que l'on peut considérer la région méditerranéenne comme étant le centre de ce genre.

## 5-1 En Algérie

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et diversité bioclimatique. Le *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 il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément et leurs tendance à s'hybrider facilement (Mebarki, 2010).

# 6. Propriétés du thym

Les principales propriétés du thymus sont :

- Propriété d'assaisonnement des aliments et des boissons.
- Antiseptique, désinfectant dermique et potager comme un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures.
- Propriétés vermifuges et vermicides (Bazylko et Strzelecka, 2007).
- ➤ Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) (Jiminez-Arellanes et *al.*, 2006).
- Propriétés anthelminthiques (Al-Bayati, 2008).
- ➤ Propriétés antioxydantes (Takeuchi et *al.*, 2004 ; Golmakani et Rezaei, 2008) en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée

de conservation des poissons *Thunnus thymnus* durant leur stockage (Selmi et Sadok, 2008).

# 7- Principes actifs du thym

- Les acides phénoliques : Le thyme referme surtout l'acide caféique (Cowan, 1999).
- Les flavonoïdes : hesperédine, eriotrécine, narirutine (Takeuchi *et al.*, 2004), lutéoline (Bazylko et Strzelecka, 2007).
- Les polyphénols : tanin (Cowan, 1999 ; İzcan et Chalchat, 2004).

Chapitre II:

Sénéralités sur le yaourt

# Chapitre II: Généralités sur le yaourt

# 1-Historique

Originaire d'Asie ; le mot yaourt (yoghourt ou yogourt) vient de « youghurmark »mot turc signifiant « épaissir» (Tamime et Deeth, 1980).

Dans le sillage des découvertes de Louis Pasteur sur la fermentation lactique, de nombreux chercheurs s'intéressent aux micro-organismes présents dans le lait. En 1920, Ris et Khoury, deux médecins français, isolent les bactéries présentes dans lait fermenté égyptien. Metchnikoff (1845-1916) isole ensuite la bactérie spécifique du yaourt «le bacille bulgare», analyse l'action acidifiante du lait caillé et suggère une méthode de production sure et régulière (Rousseau ,2005).

De nombreux autres produites sont arrivés par la suite sur le marché : laits fermentés probiotiques, laites fermentés de longue conservation (pasteurisés, UHT, lyophilisés ou séchés) et produites «plaisirs» (à boire, pétillants ou glacés).

Traditionnellement, c'est le yaourt dit «nature» et ferme qui constituait l'essentiel des productions de laits fermentés. Dans les années 1960-1970, sont apparus les produites sucrés puis aromatisés et aux fruits. Actuellement, ils sont majoritaires sur le marché.

L'apparition du yaourt brassé a constitué une autre étape importante de la commercialisation des laits fermentés. En outre, le développement commercial des produits probiotiques est important et correspond à une demande du consommateur (Brule, 2004).

#### 2-Le lait fermenté

On appelle lait fermenté un produit laitier obtenu par la fermentation du lait, lequel peut avoir été fabriqué à base de produits obtenus à partir de lait avec ou sans modification de composition, par l'action de micro-organismes appropriés et résultant dans la réduction du pH avec ou sans coagulation (précipitation isoélectrique). Ces levains (micro-organismes) doivent être viables, actifs et abondants dans le produit à la date de durabilité minimale (Codex Alimentarius, 1975).

# 3-Le yaourt

Le yaourt est un lait fermenté moderne. Selon le *Codex Alimentarius* (norme N°A-11(a) 1975) « le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par la fermentation lactique grâce à

l'action de *Lactobacillus delbrueickii*, sous-espèce *bulgaricus* (Lb. *bulgaricus*) et *Streptococcus salivarius*, sous éspèce *thermophilus* (*St. thermophilus*) à partir du lait frais, ainsi que du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition (de lait en poudre, poudre de lait ...). Les microorganismes doivent être viables et abondants ». De plus la quantité d'acide lactique libre contenue dans 100 g de yaourt ne doit pas être inférieure à 0,7g (FRANCE / Ministère de l'Economie et des Finances, 2009).

La législation de nombreux pays exige que les bactéries du yaourt soient vivantes dans le produit mis en vente. Certains pays néanmoins admettent qu'à la suite d'un traitement thermique destiné à améliorer la durée de conservation, le produit ne contienne plus de bactéries vivantes. Cette pratique n'est toutefois pas recommandable, car elle modifier les propriétés du yaourt (FAO, 1995).

# 4-Classification du yaourt

Différentes sortes de yaourt sont trouvés sur le marché selon leurs teneurs en matière grasse, leur goût ou leur texture.

- **4-1 Teneure en matière grasses :** selon la teneur en matière grasse ont distingue trois types de yaourt
  - **Yaourt maigre :** moins de 1% de matière grasse.
  - > Yaourts nature: 1% de matière grasse.
  - ➤ Yaourt au lait entier : 3,5% de matière grasse.
- **4-2 Goût :** selon le goût les yaourts sont classés comme suit :
  - ➤ Yaourts sucrés : ils sont additionnés de saccharose à un taux variable de %.
  - Yaourts aux fruits, au miel, à la confiture : moins de 30% d'éléments ajoutés.
  - Yaourts aromatisés : aux arômes naturels ou de synthèse autorisés par la législation.
- **4-3 Texture :** selon la texture il est retrouvé :
  - Les yaourts fermes : fermentation a lieu en pots, sont généralement des yaourts nature ou aromatises (Pacikorae, 2004).

Toute adjonction de fruits ou d'arome est réalisée avant que la fermentation début.

➤ Yaourts brassés : dont la fermentation a lieu en cuve avant le conditionnement. Ce sont généralement des yaourts brassés nature ou aux fruits (Pacikorae, 2004). Ici, l'ajout des fruits ou d'aromes est réalisé après refroidissement du lait fermenté.

➤ Yaourts à boire : dans la texture est liquide (Cidil et Inra, 2009).

# 5-Les bactéries caractéristiques du yaourt

# 5-1 Caractéristiques générales des bactéries du yaourt

# 5-1-1 Streptococcus thermophilus

*St. thermophilus* est un cocci Gram positif, anaérobie facultative, non mobile. Il est retrouvé dans les laits fermentés et les fromages (Dellaglio *et al.*, 1993 ; Roussel *et al.*, 1994).

C'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistant, sensible au bleu de méthylène (0.1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (Delleglio *et al.*, 1994). 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 homofermentaire (Lamoureux, 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 de mannose) (Bergamaier, 2002).

La figure 03 illustre l'aspect microscopique des cellules de *St. thermophilus*.



**Figure 03** : Aspect des cellules de *St. thermophilus* sous le microscope électronique. (Adam et Mass, 1999).

# 5-1-2 Lactobacillus bulgaricus

Lb. bulgaricus est un bacille Gram positif, immobile, asporulé, microaérophile. Ile est isolée sous forme de bâtonnets ou de chaînettes. Il possède un métabolisme strictement 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 42°C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (Marty-Teysset et al., 2000).

Ces deux bactéries lactiques tolèrent de petites quantités d'oxygène. Ceci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 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 microaérophiles (Doleyres, 2003).

La Figure 04 illustre l'aspect microscopique des cellules de Lb. bulgaricus.



**Figure 04**. Aspect des cellules de *Lb. bulgaricus* sous le microscope électronique (Adam et Mass, 1999).

# 5-2 Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt

# 5-2-1 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 concerter et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien (Schmidt et *al* ., 1994). Le métabolisme est du type homofermentaire (production exclusif de l'acide lactique).

L'acidité du yaourt est communément exprimée en degré Dornic (1°D = 0.1g/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 :

- ➤ Il aide à déstabiliser les micelles de caséines, ce qui conduit à la formation du gel ;
- ➤ Il 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 micro-organismes indésirables (Leroy et *al.*, 2002).

# 5-2-2 Activité protéolytique

Pour satisfaire leurs besoins en acides aminés, les bactéries du yaourt doivent dégrader la fraction protéique est constitués de deux types d'enzyme 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 polypeptidasique. Elle dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique. Elle dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique en acide aminés libres.

Il est connu que l'activité protéolytique de *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* est plus élevée que celle du *St. thermophilus* (Gürsoy et *al.*, 2010).

Quelques hydrolysats de protéine augmentent le taux d'acidification de yaourt, réduisent le temps de fermentation et augmentent la viabilité des deux bactéries dans le lait (Oliveira et *al.*, 2001 ; Lucas et *al.*, 2004).

## 5-2-3 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 hétérofermentaire. Parmi ceux-ci, l'acide lactique confère au yaourt son goût acidulé. L'acétaldéhyde, qui provient en grande partie de la thréonine, joue un rôle essentiel dans ces caractéristiques organoleptiques recherchées. La concentration optimale de ce métabolite est estimée à environ 10 ppm. Sa production, due principalement au lactobacille, est augmentée lorsque ce dernier est en association avec le streptocoque qui en élabore de faibles quantités.

L'acétaldéhyde peut provenir :

➤ Du pyruvate, soit par action du pyruvate décarboxylase ou par action du pyruvate déshydrogénase (appelée aussi pyruvate formate lyase);

➤ Et de la Thréonine par l'action de la Thréonine aldolase.

Le diacétyle contribue à la transformation de l'acide citrique et, secondairement, du lactose par certaines souches de streptocoques. D'autres composés aromatiques et du maintien de ce rapport au cours de la conservation des levains et de la fabrication.

Notons que la saveur caractéristique du yaourt, due à la production du diacétyle et de l'acétaldéhyde et qui est recherchée dans les produits type « nature », est en partie masquée dans les yaourts aromatisés.

#### 5-2-4 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 et contribuent à la viscosité du yaourt.

L'augmentation de la viscosité est en général attribuée à la production d'exopolysaccharide (EPS) qui, selon une étude portant sur plusieurs souches serait essentiellement composé de rhamnos, 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 (1999), *Lb. Bulgaricus* possède une aptitude à produire des EPS composés de galactose, glucose, rhamnose à des rapports de 4/1/1.

# 6-Fabrication de Levains lactiques

Un levain est une préculture de souche à ensemencer la matière première à fermenter. D'une façon globale, il est constitué d'un mélange de souches microbiennes servant à stimuler la fermentation dans le milieu.

Les levains ou ferments lactiques sont définis comme étant des cultures pures ou des mélanges de bactéries lactiques sélectionnées et utilisées pour la fabrication de produits fermentés. Parmi ces cultures, on distingue les ferments naturels, souvent des mélanges de nombreuses souches de bactéries dont la composition exact et indéterminée des ferments mixtes, composés de cinq ou six souches soigneusement sélectionnées et cultivées séparément jusqu'au stade de culture mère ou ferment.

Au coures de la fermentation, les bactéries se multiplient et produisent des composés conférant à l'aliment ses propriétés organoleptique comme l'acidité, la saveur, l'arôme et la texture (Benech et *al.*,2002).

# 6-1 Fabrication des levains lactique

Le levain étant utilisé plusieurs fois, le fabriquer est une solution économique. Cette technique est uniquement conseillée pour le producteur fermier qui fabrique des yaourts tous les jours en grande quantité (3000 pots par cycle). Elle nécessite, pour être mise en œuvre avec succès, des compétences suffisant et des équipements adaptés. En effet, les contraintes de travail sont fortes pour obtenir des ferments purs et pour ne pas introduire de microbe indésirable.

Le levain est préparé à partir de ferment «semi-direct » achetés chez un fournisseur (sachet et poudre) mélangés avec du lait demi-écrémé stérilisé. Le producteur fermier doit disposer d'un local séparé, protégé du reste de l'atelier, et de matériels de laboratoire (fiole, bain-marie, éprouvette, ph mètre, acidimètre) (Christine, 2010).

## 6-2 Conservation des levains lactiques

Les ferments lactiques sont souvent conservés à une température inférieure à 10°C en état liquide dans le lait reconstitué après inoculation à 30°C pendant 16 à 18 heures ou à 42°C pendant 3à 4 heures. Également ces bactéries peuvent être conservées par lyophilisation présence

d'un agent protecteur. Tels que le lait écrémé et le lactose, ou par congélation dans l'azote liquide à (-40°C) (Hermier et Accolas, 1990).

# 6-3 Rôle et propriétés des levains lactiques

La première fonction des levains lactiques est d'assurer la fonction d'acide lactique à partir du lactose.

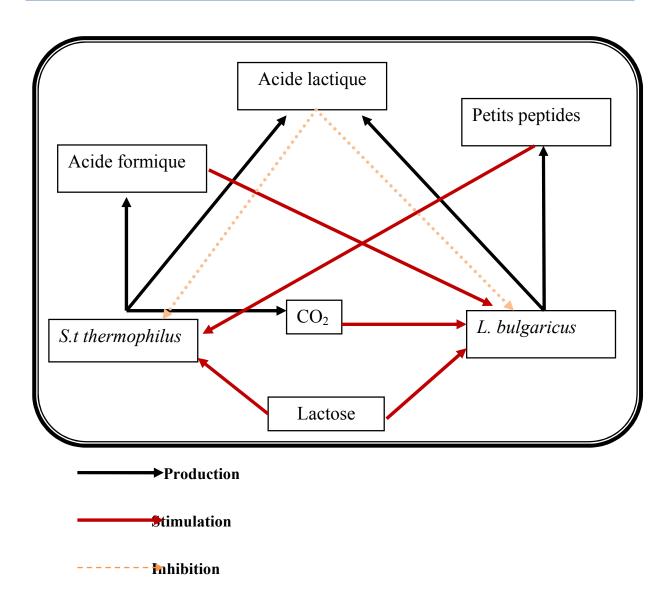
Les principales aptitudes demandées aux bactéries lactiques sont à des niveaux divers selon les produites :

- ➤ Production d'acide lactique et abaissement du ph du milieu.
- ➤ Production de substances aromatiques (diacétyl, acétaldéhyde...etc.).
- ➤ Production d'enzymes protéolytiques contribuant à l'affichage des fromages.
- ➤ Production des substances visqueuses améliorant la texture des produits.
- Abaissement du pH des milieux jouant un rôle de protection par inhibition des microorganismes nuisibles comme ceux responsables de la putréfaction (Lenoir *et al*, 1992).

## 6-4 Symbiose des deux souches

Les deux espèces, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* sont micro aérophiles. Elle vivant en symbiose dans le yaourt. Elles produisent davantage d'acide lactique cultivées ensemble que séparément. Pour se développer, les bactéries ont besoin d'acide aminés et de peptides directement utilisables. Or, le lait n'en contient que de faibles quantités permettant seulement de démarrer leur croissance. Sauf que le *Lactocillus bulgaricus* par son activité protéolytique, attaque les caséines du lait en libérant les peptides permettant au *Streptococcus thermophilus* de poursuivre sa croissance. (Lemoinnier et Brasseur, 1998).

De plus le CO<sub>2</sub> issu de la décarboxylation de l'urée à un rôle stimulateur vis-à-vis des *Lactobacillus* (Driessen, 1982) (**Figure 05**).



**Figure 05.** Métabolisme complémentaire de *Strptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus* dans le lait. (Mahaut *et al.*, 2000).

# 7- Fabrication de yaourt

En fonction da la technologie de fabrication, les yaourts sont classés en deux types :

- ➤ Yaourt fermes, dont la fermentation a lieu en pots : ce sont généralement les yaourts nature- et aromatisés.
- Yaourts brassés, dont la fermentation a lieu en cuve avant brassage et conditionnement :

C'est le cas des yaourts veloutés nature ou aux fruits.

La fabrication de ces deux types de yaourts peut être réalisés soit à partir de lait entier, soit à partir de lait partiellement ou totalement écrémé (3.5%; 1.0%; 0.0;%de Mg) (BELKADI et BELMAAZIZ, 2015).

On peut voir à la figure 05 un diagramme des principales étapes de la fabrication du yaourt.

## 7-1 Préparation de lait

Cette étape est facultative. On peut ajouter 2 à 3% de poudre de lait (20 à 30g par litre de lait) pour accroitre la consistance et obtenir des yaourts bien fermes. 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 (Luquet, 1990).

## 7-2 Pasteurisation

La température de pasteurisation en cuve avec agitateur varie entre 90°C à 95°C pendant quelque secondes. Plus le lait est « sale », plus la température et le temps de pasteurisation seront importants (Patrick et *al.*, 2010).

## 7-3 Refroidissement

Après chauffage, le lait est refroidi à 45°C cette température est maintenue lors de la fermentation (Mechtoun, 2014).

## 7-4 Ensemencement

C'est l'incubation dans le lait de deux germes spécifiques du yaourt, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* à des rapports de 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 90°D (Guyot, 1992).

## **7-5 Conditionnement**

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

# 7-6 Incubation (fermentation)

Durant cette étape on assiste au développement de l'acidité du yaourt. Celle-ci est sous la dépendance de température et la durée de fermentation des germes ensemencés. 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 générale les *Streptocoque* 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 *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Luquet, 1990).

#### 7-7Arrêt de fermentation

Il est nécessaire des produits fines bloquer l'acidification des yaourts par l'application d'un refroidissement rapide à la température de 4 à 5°C; ce qui inhibe l'activité des bactéries lactique (Keddar et Koubich, 2009).

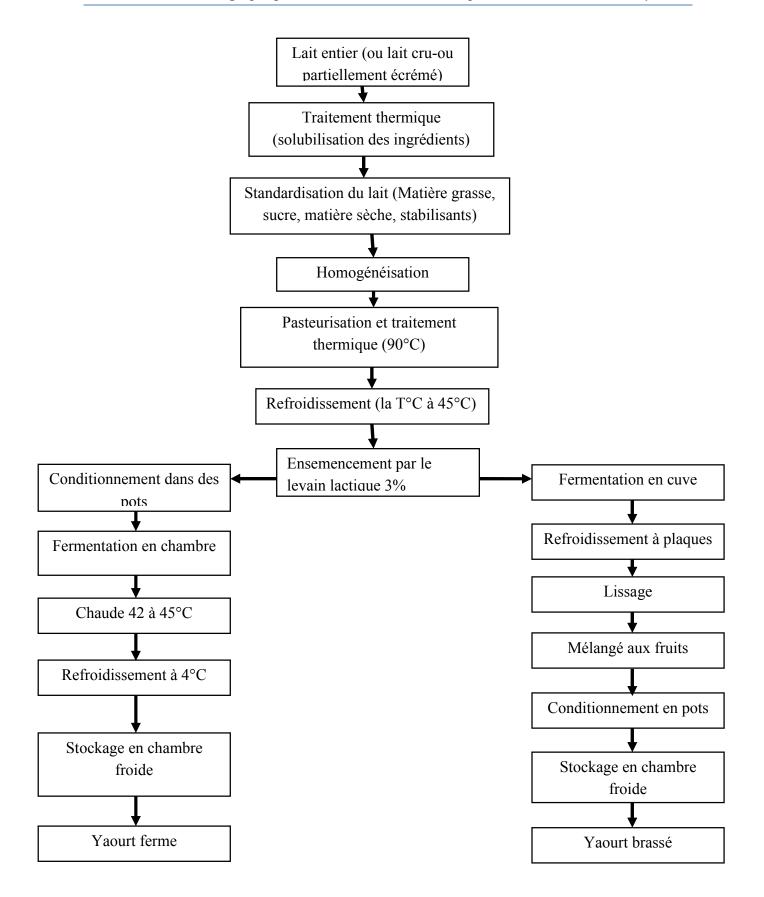


Figure 06. Diagramme de fabrication du yaourt ferme et brassé (Lmontege, 1999).

#### 7-8 Conservation

Le yaourt doit être conservé au réfrigérateur. Sa consommation doit intervenir avant la date de préparation figurant sur l'emballage (21 jours après la fabrication).

Lorsqu'un récipient est ouvert, il convient de consommer son contenu rapidement pour éviter l'installation de moisissures (Dupin et *al.*, 1992).

# 7-9 Intérêts nutritionnels du yaourt

En plus de l'appréciation pour son goût et sa texture, le yaourt est aussi apprécié pour sa valeur nutritionnelle remarquable ; le yaourt est un produit vivant.

Les bactéries lactiques spécifiques (Streptococcus salivarius thermophilus et Lactobacillus delbrueckii bulgaricus) restent vivantes dans le tube digestif et transforment les constituants du lait fermenté en améliorant leur digestivité. En effet, les laits fermentés et le yaourt ont une digestion plus aisée que le lait. Le sucre du lait (le lactose), pour être digéré a besoin d'une enzyme particulière qui est la lactase. Dans les produits laitiers fermentés, ce sucre est décomposé par les microorganismes lors de la fermentation.

L'acide lactique est légèrement antiseptique. Cette acidité inhibe surtout le développement de germes pathogènes dans le tube digestif du consommateur.

De plus, l'acidité stimule les mouvements péristaltiques du tube digestif, facilitant l'élimination du micro-organisme pathogène.

Streptococucus thermophilus semble aussi empêcher l'implantation de certaines bactéries pathogènes dans l'intention telle que les salmonelles et les colibacilles. Cependant, les bactéries du yaourt ne s'implantent pas dans la flore intestinale. C'est pourquoi, pour maintenir leurs effets bénéfiques, un appert régulier est nécessaire.

Les bactéries du genre *Lactobacillus* sécrètent du peroxyde d'hydrogène qui agit aussi comme un antiseptique.

Le yaourt est donc un aliment vivant qui, d'une façon générale ; diminue les symptômes de dérangement intestinal (Fredot, 2005).

#### 8-Qualité du yaourt

#### 8-1 Aspects physico-chimiques

Le yaourt doit répondre aux caractéristiques suivantes :

- > Couleur franche et uniforme ;
- ➤ Gout franc et parfum caractéristique ;
- Texture homogène (pour le yaourt brassé) et ferme (yaourt étuvé) (Pacikora, 2004).

#### 8-2 Aspects hygiéniques

Selon la norme nationale de 1998, N°35 parue au Journal Officiel, les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène.

Le traitement thermique appliqué sur le lait avant fabrication du yaourt est suffisant pour détruire les micro-organismes non sporulé pathogènes ou non. Leur présence dans le yaourt ne peut être que de manière accidentelle. Le pH acide du yaourt le rend hostile aux germes pathogènes, comme pour la plupart des autres germes indésirables.

Les levures et les moisissures peuvent se développer dans le yaourt. Ces dernières proviennent principalement de l'air ambiant dont la contamination se situe au stade du conditionnement (Larpent et Bourgois, 1989).

#### 8-3 Qualité organoleptique

La qualité organoleptique des aliments regroupe les propriétés d'un produit perceptibles par les organes des sens (norme ISO 5492, 1992). Nous développerons ci-après seulement les aspects liés aux sensations en bouche perçues par le panel entrainé lors de la consommation du produit à savoir : l'odeur, le goût et la texture.

L'odeur et l'arôme sont perceptibles par l'organe olfactif. Pour l'arôme « yaourt », l'acétaldéhyde est considéré comme le principal composé d'arôme, mais la 2,3 pentanedione, le diméthylsulfure, le limonène ont également un impact (Imhof *et al.*, 1994).

Par ailleurs, de nombreuses notes aromatiques supplémentaires peuvent être apportées au yaourt par ajoute de composés d'arome et de fruits.

La saveur correspond à la sensation perçue par l'organe gustatif lorsqu'il est stimulé par certaines substances solubles. Le yaourt est caractérisé par une saveur acide due à la présence d'acide lactique. D'autre saveurs, mais moins intenses, sont les saveurs sucrée et amère. La saveur sucrée est due à la présence du lactose non hydrolysé et du galactose produit au cours de la fermentation. Elle peut être renforcée par l'ajout du saccharose. La saveur amère, considérée indésirable, est due aux peptides amères produits par certains ferments ou à une contamination par des germes protéolytiques (Biliaderis et *al.*, 1992 ; Weber, 1994).

La texture est définie comme l'ensemble des propriétés mécanique, géométrique et de surface d'un produit, perceptibles par les mécanorécepteurs, les récepteurs tactiles, et éventuellement les récepteurs visuels et auditifs.

Les propriétés mécaniques sont celles liées à la réaction du produit à une contrainte. Elles sont subdivisées en cinq caractéristiques primaires : dureté, cohésion, viscosité, élasticité et adhérence.

Les propriétés géométriques sont celles liées aux dimensions, à la forme et à l'arrangement des particules dans un produite.

Les propriétés de surface sont celles liées aux sensations telles que celles produits par l'eau et la matière grasse.

Enfin, la texture en bouche des yaourts est caractérisée le plus fréquemment par le caractère épis, nappant et « mouthfeel » qui une sensation relative à la densité et la viscosité. Elle est faible pour les produits liquides et importante pour les produite qui replissent et restent en bouche.

## Partie expérimentale

Chapitre III:

Matériels et méthodes

#### 1- Objectif de l'étude

Ce travail expérimental consiste à suivre l'effet de variation des doses de d'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* récolté dans la région de SETIF sur la qualité physicochimique, microbiologique, et organoleptique d'un lait fermenté alicament type yaourt ferme durant 21 jours de conservation au froid à 4 °C.

#### 2-Matière végétale

Le matériel végétal objet de l'étude le thym (*Thymus vulgaris*) a été prélevé le mois de Mars 2017, dans la Wilaya de SETIF. Un échantillon de 2 à 3 kg pris uniquement sur la partie aérienne de l'espèce étudiée à été récolté d'une manière aléatoire dans la région de la Wilaya de l'étude. La matière végétale à 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 à température ambiante et à l'abri de l'humidité.

#### 3-Extraction des composés bioactifs

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs contenus dans le *Thymus vulgaris*, on a opté pour la méthode d'extraction discontinue solide-liquide par macération, qui consiste à laisser tremper le broyat de *Thymus vulgaris* dans l'eau à température ambiante 6h et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

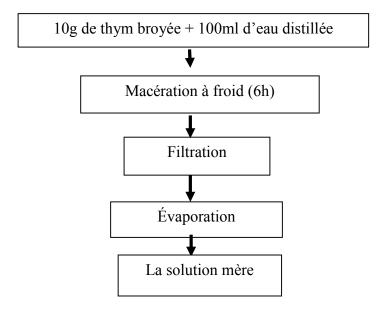


Figure 07. Diagramme de l'extraction.

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

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

Les extraits purs à l'eau de la plante (*Thymus vulgaris*) seront 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 suite ensemencés 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 arome, ni autres 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.

#### 4-1 Protocol expérimental

#### 4-2 Préparation des levains

Un litre de lait servant à la confection du ferment est préparé à un taux de 130g/l de poudre de lait « écrémé », puis pasteurisé durant 2 minutes à 100°C, et un refroidissement à 45°C.

Ce lait a été fractionné en deux échantillons de 500 et 250 ml. Le premier a été ensemencé avec 0,5 g d'une prise de la souche lactique lyophilisée pure de *Streptococcus thermophilus*. Le second échantillon a été ensemencé avec 0,25 g de la souche pure 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 à l'emploi avec un rapport de souches de 2 *Streptococcus thermophilus* pour 1 *Lactobacillus bulgaricus* (2S/1L, v/v) est incorporé dans les laits destinés à la fabrication des laits fermentés alicaments à 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) (**Figure 08**).

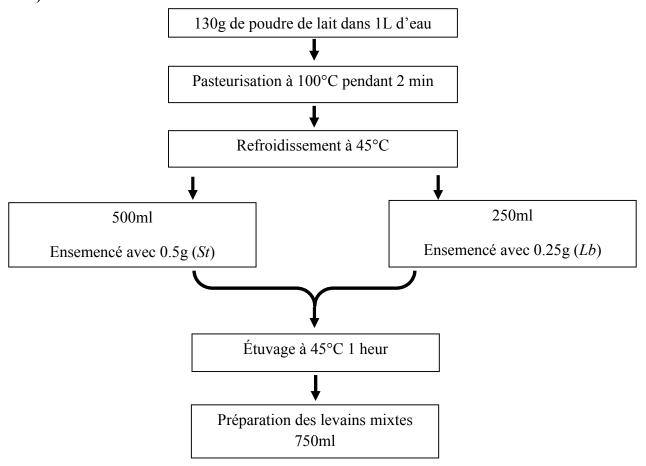


Figure 08. Diagramme de fabrication de levain lactique.

#### 4-3Fabrication du yaourt

Le yaourt expérimental a été fabriqué selon le mode opératoire suivant :

Le lait utilisé dans l'étude est un lait cru pasteurisé conservé au froid à 4 °C. Après un léger chauffage à 45°C, à des prises (de 03 X 100ml) d'échantillons de lait maintenus à cette température sont additionnés des extraits de *Thymus vulgaris* à raison de 0, 2, 4, 6 et 8%, respectivement. Les échantillons sont ensuite ensemencés chacun à 3% avec un levain lactique renfermant un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* de 2S/1L. Les pots des différentes préparations sont 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 seront conservés au froid positif à 4°C dans un réfrigérateur pendant une période de conservation de 21 jours.

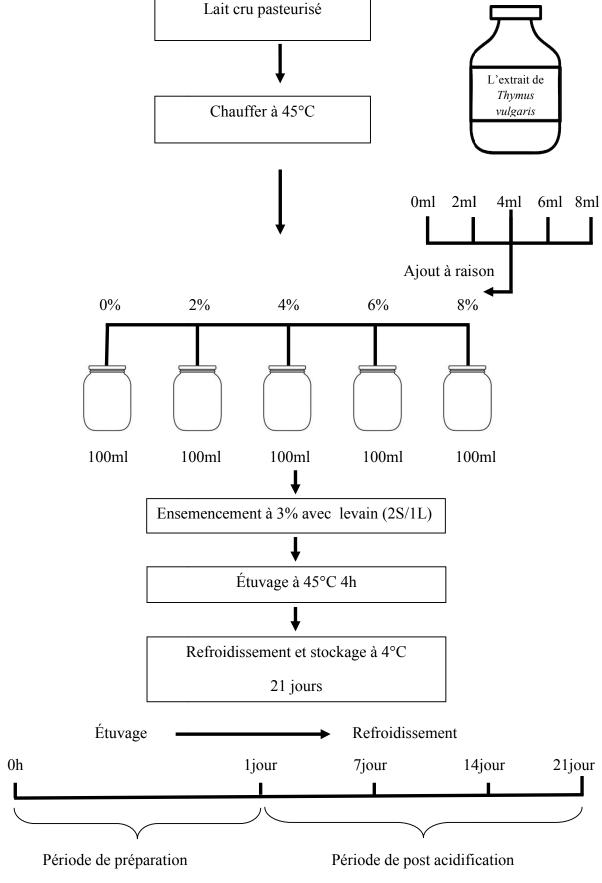


Figure 09. Diagramme de fabrication du yaourt fermenté.

#### 5- Analyses expérimentales

Les analyses expérimentales sont réalisées en triple essais pour chaque paramètre étudie selon les normes dictées par AFNOR, 1982 et 1992.

Au cours de la période de post acidification, les mêmes analyses sont reprises chaque semaine pour durée échelonnée sur 21 jours.

#### 5-1 Paramètres physico-chimiques

#### 5-1-1 Acidité

L'acidité sera 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 est réalisé par un pH-mètre étalonné par deux solutions : l'une acide et l'autre basique.

#### 5-1-3 Viscosité dynamique

La viscosité est 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.

La viscosité est déterminée comme suit :

$$\mu$$
= K. ( $\xi$  bille –  $\xi$  yaourt).t K= 2. r<sup>2</sup>.g/9.x

Donc : 
$$\mu = (2r^2 \cdot g/9x)$$
. ( $\xi$  bille –  $\xi$  yaourt).t

**μ**: viscosité dynamique (kg/ms)

**K**: constante, tel que  $K=74.10^{-3}$  m

ξ bille: la masse volumique de la bille = 2800 g/ m<sup>3</sup>

 $\xi$  yaourt : la masse volumique de yaourt (kg/m<sup>3</sup>)

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

 $\mathbf{r}$ : rayon de la bille tel que. r=D/2=0.6

**g**: la force de pasteur, tel que g=9.81m/s<sup>2</sup>

x: la distance d'écoulement de la bille, x=10cm

#### 5-2 Analyses microbiologiques

#### 5-2-1 Streptococcus thermophilus

Le dénombrement des germes sera réalisé par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « M17 » incubé à 37°C pendant 48h.

#### 5-2-2 Lactobacillus bulgaricus

Le dénombrement des germes sera effectué par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « MRS » incubé à 30°C pendant 48h.

Pour les analyses microbiologiques, la solution mère est préparée en introduisant 10g de yaourt dans 9ml d'eau physiologique, ensuite des dilutions (10<sup>-1</sup>,10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>,10<sup>-4</sup>) sont effectuées en diluant 1ml de la solution dans 9ml de l'eau physiologique.

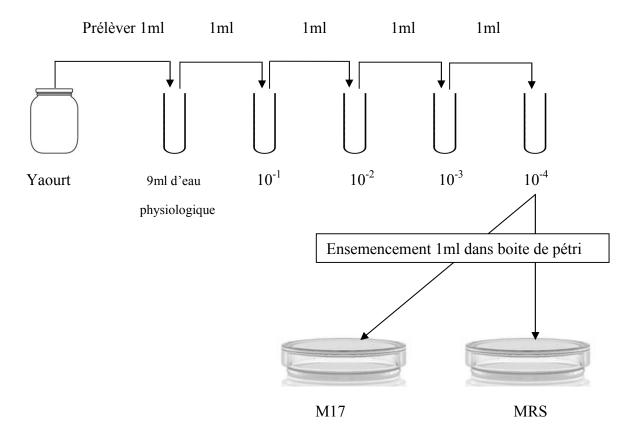


Figure 10. Diagramme de dilutions.

#### 5.3 Test organoleptique

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

- Goût acide : Consiste à apprécier l'ampleur de l'acidité développée par les germes lactiques ensemencées dans les laits fermentés type yaourt au cours de l'entreposage.
- ➤ Goût de fraicheur : Consiste à apprécier l'ampleur de la sensation de fraicheur 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 vont être 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.

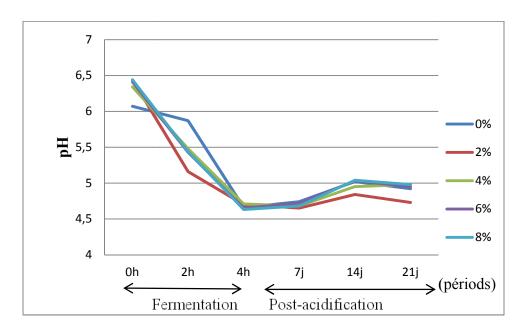
## Chapitre IV: Résultats et discussions

#### 1-Résultats

#### 1-1 Analyse physico-chimique

#### 1-1-1 pH

Les résultats obtenus montrent que les valeurs de pH de l'ensemble des échantillons diminuent progressivement durant la période de fermentation en moyenne de (6.07 à 4.66) après 4 heures de fermentation par contre durant tout la période de poste –acidification, les laits expérimentaux connaissent une faible augmentation de pH, soit des valeurs qui varient de 4.69, 4.98 et à 4.9 respectivement le 7<sup>ème</sup> j, 14<sup>ème</sup> j et 21<sup>ème</sup> j (**Figure11**).



**Figure 11.** Évolution de pH des laits fermentés au cours de la période de fermentation et post-acidification.

L'analyse de variance montre un effet hautement significatif de taux de ferment lactique sur l'évolution moyenne des valeurs de pH des laits fermentés au cours de la période de fermentation et post –acidification (**Tableau 1**).

Cependant, durant tout l'expérimentation le pH témoin est significativement (p<0.01) plus élevé que les essais préparés à 2,4,6 et 8% d'extrait de thym, 5.21, 5.19, 5.02 et 5.2 en moyenne

**Tableau 1.** Effet d'incorporation des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur le pH des laits fermentés.

Les	résultats	sont	exprimés	en	valeurs	moyennes,	suivies	des	écarts	types
corresponda	ints.									

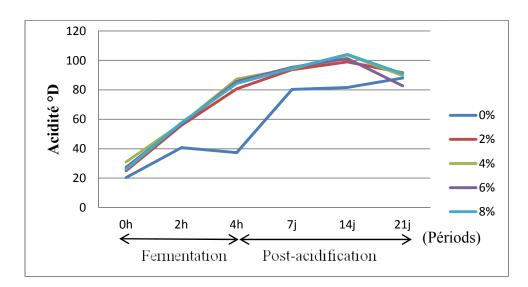
	Facteur étudié	Doses d'é ajouté	extrait à l'	eau de <i>Thy</i>	mus vulga	ris	Moyennes	Effet d'extrait
Périodes		0%	2%	4%	6%	8%		de thym
	0h	6.07 <sup>b</sup>	6.44 <sup>a</sup>	6.34 <sup>a</sup>	6.41 <sup>a</sup>	6.44 <sup>a</sup>	6.34	
ion		±0.01	±0.02	±0.07	±0.02	±0.08		P<0.01
Période de fermentation	2h	5.87 <sup>a</sup>	5.16 <sup>c</sup>	5.48 <sup>b</sup>	5.43 <sup>b</sup>	5.44 <sup>b</sup>	5.48	P<0.01
Période ferment	4h	±0.08 4.66	±0.01 4.70	±0.02 4.71	±0.01 4.65	±0.02 4.63	4.67	P>0.05
P 3		±0.18	±0.01	±0.03	±0.01	±0.01	1.60	NS
le ion	7j	$4.74^{a}$ $\pm 0.05$	$4.65^{b}$ $\pm 0.02$	4.68 <sup>ab</sup> ±0.01	$4.72^{a}$ $\pm 0.02$	$4.68^{ab} \pm 0.01$	4.69	P<0.01 **
ode d	14j	5.02 <sup>a</sup> ±0.03	4.84° ±0.01	4.95 <sup>b</sup> ±0.01	5.03 <sup>a</sup> ±0.02	5.04 <sup>b</sup> ±0.03	4.98	P<0.01
Période de post- acidification	21j	4.92 <sup>a</sup> ±0.16	4.73 <sup>b</sup> ±0.07	4.98 <sup>a</sup> ±0.03	4.95 <sup>a</sup> ±0.04	4.98 <sup>a</sup> ±0.06	4.91	P<0.01
	Valeurs	5.21	5.09	5.19	5.2	5.2		
	moyennes							

<sup>\*\*:</sup> Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym; NS: Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym; a, b, c, d: test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes); H: heurs; J: jours.

#### 1-1-2 Acidité Dornic titrable

Au cours de la période de fermentation, l'acidité des laits fermentés a connue une augmentation de (25.93°D) à 0 heure au moment de la préparation à (53.6°D) après 2 heures d'étuvage et à (75.07°D) après 4 heurs d'étuvage.

Les valeurs diminuent du 7<sup>ème</sup>, au 14<sup>ème</sup>, au 21<sup>ème</sup> jour de 97.93, à 91.67 et à 91.67 °D, en moyenne (**Figure12**).



**Figure 12.** Évolution de l'acidité Dornic des laits fermentés au l'extrais de thym durant la période de fermentation et de poste acidification.

Il est noté également que l'évolution de l'acidité durant les deux périodes de fermentation est proportionnelle au taux et d'extrait de thym, soit les valeurs enregistrées de l'ordre de 31, 53.6, et 87.33 pour le taux de l'extrait de thym de 4%.

L'analyse de variance montre un effet hautement des taux d'extrait de thym incorporé sur l'évolution de l'acidité des laits fermentés (Tableau 2).

**Tableau 2.** Effet d'incorporation des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur l'acidité des laits fermentés.

	Facteur étudié	Doses d'e ajouté	extrait à l'	ris	Moyennes	Effet d'extrait		
Périodes		0%	2%	4%	6%	8%		de thym
_	0h	20.33 <sup>d</sup>	25°	31 <sup>a</sup>	27.33 <sup>b</sup>	26 <sup>bc</sup>	25.93	P<0.01
e ior		±0.58	±1	±1	$\pm 0.58$	±1		**
Période de fermentation	2h	40.67 <sup>b</sup>	56 <sup>a</sup>	57 <sup>a</sup>	56.67 <sup>a</sup>	57.67 <sup>a</sup>	53.6	P<0.01
odo		±2.08	±2	±1	$\pm 2.52$	$\pm 2.52$		**
éri eri	4h	87.33 <sup>d</sup>	80.67 <sup>c</sup>	87.33 <sup>a</sup>	85.67 <sup>ab</sup>	84.33 <sup>b</sup>	75.07	P<0.01
P fe		±1.53	$\pm 2.08$	±0.58	$\pm 1.15$	$\pm 0.58$		**
	7j	80.33	93.67	94.33	95.33	94.67	97.93	P>0.05
on 0		±1.53	±1.15	±7.02	$\pm 9.07$	$\pm 9.29$		NS
e de atio	14j	81.66 <sup>b</sup>	99ª	103.67 <sup>a</sup>	101.33 <sup>a</sup>	104 <sup>a</sup>	91.67	P<0.01
ode - ific		±0.58	$\pm 4.36$	±2.08	$\pm 1.53$	$\pm 2.65$		**
Période de post- acidification	21j	88	91.67	89.67	82.67	91	88.6	P>0.05
D DC		±2	±4.16	±6.81	$\pm 3.21$	±1		NS
	Valeurs	58.05	74.33	77.17	74.83	76.28		•
	moyennes							

\*\* : Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; NS : Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; a, b, c, d : test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes); H : heurs ; J : jours.

#### 1-1-3 Viscosité

L'analyse de variance montre l'effet hautement significatif des taux d'extrait de thym significatif sur les variations de la viscosité des produits durant les 2 périodes d'étude (fermentation et post-acidification) (**Tableau 3**).

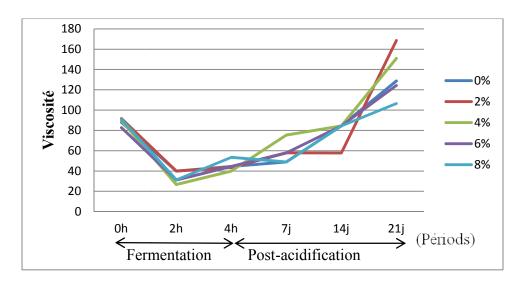
Au début de la fermentation, la viscosité des essais expérimentaux est comparable et variable de 82.67 à 91.67 kg/ms.

De 2 heurs à 4 heurs de la période de fermentation, la viscosité des produits augment nettement ; de 31.29 à 53.44 kg/ms.

La viscosité continue à augmenter dans les essais sans et avec extrait de thym, 48.95 au 7<sup>ème</sup> jour, 84.33 au 14<sup>ème</sup> jour et 69.25 kg/ms aux 21<sup>ème</sup> jours.

D'une manière générale durant l'expérimentation, les laits fermentés préparés à 2 et 4% d'extrait à l'eau de thym présentent des valeurs de viscosité meilleures que le témoin, 76.54 vs 77.86 72.41 kg/ms.

Au contraire, les diverses résultats sont observés à 6 et 8% d'incorporation d'extrait de la plante, 70.77 et 69.25 en moyenne.



**Figure 13.** Évolution moyenne de la viscosité de laits fermentés au cours de la période de fermentation et de post –acidification.

L'analyse de variance montre l'effet hautement significatif de taux de ferment lactique et de taux d'extrait de thym **(Tableau 3).** 

**Tableau 03.** Effet d'incorporation des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur la viscosité (kg/ms) des laits fermentés.

	Facteur	Doses d'e	extrait à l'	eau de <i>Th</i> y	mus vulga	ris	moyennes	Effet
	étudié	ajouté					_	d'extrait
Périodes		0%	2%	4%	6%	8%		de thym
	0h	88	91.67	89.67	82.67	91	88.6	P>0.05
Période de fermentation		±2	±4.16	±6.81	±3.21	±1		NS
e de tati	2h	39.96 <sup>a</sup>	39.96 <sup>a</sup>	26.64 <sup>b</sup>	31.08 <sup>ab</sup>	31.29 <sup>ab</sup>	33.79	P<0.01
Période ferment		$\pm 0$	±0	±0	$\pm 7.69$	±7.51		**
éri eri	4h	44.45	43.45	39.96	44.45	53.44	45.15	P<0.01
P fe		$\pm 7.78$	$\pm 8.78$	±0	$\pm 7.78$	±13.32		**
	7j	48.95 <sup>b</sup>	57.83 <sup>b</sup>	75.48 <sup>a</sup>	57.83 <sup>b</sup>	48.95 <sup>b</sup>	57.81	P<0.01
e on		$\pm 7.78$	$\pm 7.60$	±7.69	$\pm 7.60$	$\pm 7.78$		**
e de	14j	84.33 <sup>a</sup>	57.67 <sup>b</sup>	84.33 <sup>a</sup>	84.33 <sup>a</sup>	84.33 <sup>a</sup>	79	P<0.01
od -		$\pm 7.68$	±7.74	$\pm 7.68$	$\pm 7.68$	$\pm 7.68$		**
Période de post- acidification	21j	128.77 <sup>c</sup>	168.67 <sup>a</sup>	150.93 <sup>b</sup>	124.27 <sup>c</sup>	106.5 <sup>d</sup>	135.83	P<0.01
P D D		±7.68	±7.68	±7.68	±7.74	±13.3		**
	Valeurs	72.41	76.54	77.83	70.77	69.25		
	moyennes							

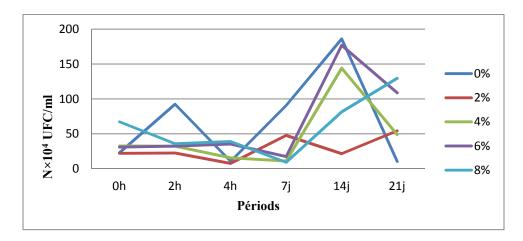
<sup>\*\* :</sup> Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; NS : Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; a, b, c, d : test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes) ; H : heurs ; J : jours.

#### 1-2Analyses microbiologique

#### 1-2-1 Streptococcus thermophilus

L'évolution moyenne en nombre de germes *Streptococcus thermophilus* dans les laits expérimentaux est caractérisée par une augmentation de 35.10<sup>4</sup> UFC/ml à 36 10<sup>4</sup> UFC/ml à 39 10<sup>4</sup> UFC/ml du début à 0 heure, 2 et 4 heur de fermentation respectivement.

Au 7<sup>ème</sup> jour de post-acidification, le nombre de germes enregistré dans les échantillons expérimentaux est faibles 9.10<sup>4</sup> UFC/ml. Au 14<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jour de la même période, le *Streptococcus thermophilus* connaît un accroissement spectaculaire à 81.10<sup>4</sup> et 130.10<sup>4</sup> UFC/ml, successivement (**Figure14**).



**Figure 14.** Évolution moyenne de germe *Streptococcus thermophilus* des laits fermentés expérimentaux au cours de la période de post-acidification.

Le nombre de *Streptococcus thermophilus* dans le yaourt témoin est bien supérieur durant touts les périodes expérimentales à ceux des laits fermentés supplémentés d'extrait de thym à 2, 4, 6 et 8%, 69.10<sup>4</sup> vs 29.10<sup>4</sup> vs 47.10<sup>4</sup> vs 67.10<sup>4</sup> et 60.10<sup>4</sup> UFC/ml, successivement.

L'analyse de variance, montre l'effet significatif des doses d'extraits de thym incorporées sur l'évolution moyenne des germes *Streptococcus thermophilus* (Tableau 4).

**Tableau 04.** Évolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* (N.10<sup>4</sup> UFC/ml) des laits fermentés par additionnés de l'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

	Facteur étudié	Doses d'e	extrait à l'	eau de <i>Thy</i>	mus vulga	<i>ris</i> ajouté	moyennes	Effet d'extrait
Périodes		0%	2%	4%	6%	8%		de thym
uo	0h	23 <sup>b</sup>	22 <sup>b</sup>	32 <sup>b</sup>	31 <sup>b</sup>	67ª	35	P<0.01 **
de de entati	2h	92°	23 <sup>b</sup>	32.5ª	32ª	35 <sup>a</sup>	36	P<0.01 **
Période de fermentation	4h	11 <sup>d</sup>	8 <sup>e</sup>	16 <sup>c</sup>	36 <sup>b</sup>	39ª	39	P<0.01 **
le ion	7j	100°	48 <sup>d</sup>	11 <sup>b</sup>	17ª	9°	9	P<0.01 **
Période de post- acidification	14j	186ª	22°	144 <sup>a</sup>	177 <sup>a</sup>	81 <sup>b</sup>	81	P<0.01 **
Péric post- acidi	21j	10 <sup>b</sup>	54 <sup>ab</sup>	49 <sup>ab</sup>	109 <sup>ab</sup>	130 <sup>a</sup>	130	P<0.01 **
	Valeurs moyennes	69	29	47	67	60	NG F	0.0

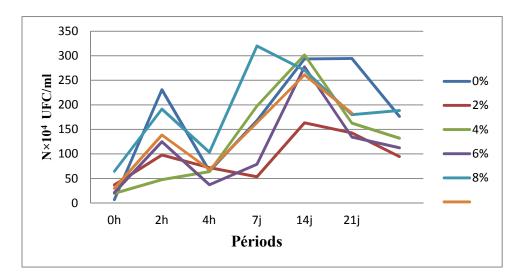
\*\* : Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; NS : Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; a, b, c, d : test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes) ; H : heurs ; J : jours.

#### 1-2-2 Lactobacillus bulgaricus

Au cours de la période de fermentation (à 0.2 et 4 heurs) et de poste-acidification (au  $7^{\text{ème}}$ ,  $14^{\text{ème}}$  et 21 jour), le nombre du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* évolue respectivement de  $30.10^4$ , à  $139.10^4$ , à  $68.10^4$ , à  $164.10^4$  et à 173 UFC/ml (Figure 15).

Par ailleurs, les essais préparés à 2, 4 et 6% d'extrait de thym s'avèrement présenter un nombre de germe réduit par comparaison au témoin durant tout les périodes d'essais, 95.10<sup>4</sup>, 132.10<sup>4</sup> et 112.10<sup>4</sup> contre 176.10<sup>4</sup> pour yaourt standard.

Cependant, le produit à 8% d'extrait accuse un nombre de *Lactobacillus bulgaricus* remarquablement plus élevé, 180.10<sup>4</sup>UFC en moyenne durant les deux périodes (fermentation et post-acidification) (Figure 15).



**Figure 15.** Évolution moyenne de germe *Lactobacillus bulgaricus* des laits fermentés expérimentaux au cours de la période de post-acidification.

En outre, quelque soit la période de fermentation, il à été remarqué que l'accroissances des germes *Lactobacillus bulgaricus* est proportionnel au taux d'extrait de thym incorporé et variable de 2 à 8%.

L'analyse de variance montre l'effet hautement significatif du taux d'extrait de thym de ferment sur les variances du nombre moyen de *Lactobacillus bulgaricus* des laits fermentés **(Tableau5).** 

	Facteur étudié	Doses d'	extrait à l'	Moyennes	Effet d'extrait			
Périodes		0%	2%	4%	6%	8%		de thym
ion	0h	7 <sup>d</sup>	37 <sup>b</sup>	20	21°	64.66 <sup>a</sup>	30	P<0.01
Période de fermentation	2h	231 <sup>a</sup>	98 <sup>d</sup>	48	125°	1913 <sup>b</sup>	139	P<0.01 **
Période ferment	4h	65 <sup>b</sup>	72 <sup>b</sup>	64 <sup>b</sup>	83°	103ª	68	P<0.01 **
u o	7j	168	54	190	79	320	164	P>0.05 NS
Période de post- acidification	14j	293ª	163 <sup>b</sup>	302ª	277ª	271ª	261	P<0.05
Péri post acidi	21j	294ª	143 <sup>bc</sup>	163 <sup>bc</sup>	134°	180 <sup>b</sup>	172.79	P<0.01

**Tableau 05.** Évolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* (N.10<sup>4</sup> UFC/ml) des laits fermentés par additionnés de l'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

132

112

180

#### 1-3 Test organoleptiques

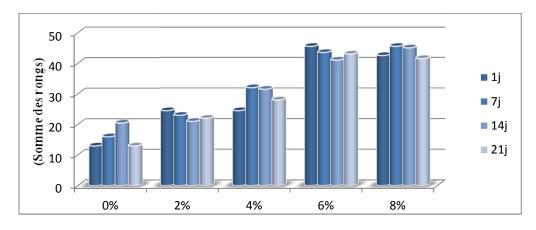
Valeurs moyennes

176

95

#### 1-3-1 Goût acide

Au cours de la période de post acidification, les laits fermentés additionnés d'extrait de thym à 0, 2 et 4% présentent le meilleur goût acide; avec des sommes des ranges de 15.62, 22.62 et 29 contre 43.29 et 43.62 pour les échantillons préparés à 6et 8% au l'extrait de thym respectivement (**Figure 16**).



**Figure 16.** Variation de la sensation de gout acide des laits fermentés additionnés d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

<sup>\*\* :</sup> Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; NS : Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; a, b, c, d : test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes).

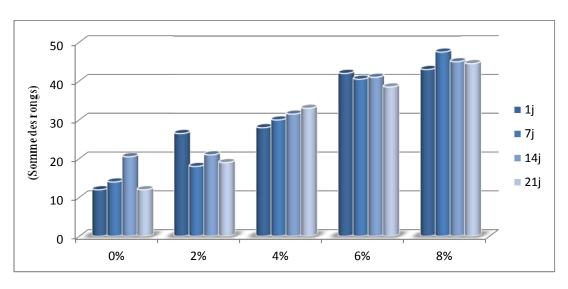
Facteur étudié	Doses d' ajouté	extrait à l	lgaris	moyennes	Effet d'extrait		
Périodes	0%	2%	4%	6%	8%		de thym
1j	13°	24.5 <sup>b</sup>	24.5 <sup>b</sup>	45.5ª	42.5ª	30	P<0.01 **
7j	16 <sup>d</sup>	23°	32 <sup>b</sup>	43.5ª	45.5ª	32	P<0.01
14j	20.5°	21°	31.5 <sup>b</sup>	41 <sup>a</sup>	45ª	31.8	P<0.01 **
21j	13°	22 <sup>b</sup>	28 <sup>b</sup>	43ª	41.5 <sup>a</sup>	29.44	P<0.01 **
moyennes	15.62	22.62	29	43.25	43.62		

**Tableau 06.** Effet d'incorporées des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur le goût acide des laits fermentés.

\*\* : Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; NS : Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; a, b, c, d : test comparaison des sommes des rangs deux à deux (groupe homogènes); J : jours.

#### 1-3-2 Goût fraîcheur

Durant l'expérimentation la sensation de fraicheur est meilleur dans l'échantillon témoin que ceux additionnés d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*. Cependant à 2% d'incorporation d'extrait e cette plante, les panelistes n'ont presque enregistré surtout au 7<sup>ème</sup> et 14<sup>ème</sup> jour aucune différence (p>0.05) au standard témoin sans extrait avec des moyennes des sommes des ranges de 21.12 vs 14.62, pendant tout la période d'essais de conservation des échantillons à 4°C (**Figure17**).



**Figure 17.** Variation de la sensation de gout fraicheur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

Doses d'extrait à l'eau de Thymus vulgaris ajouté Effet Facteur moyennes d'extrait étudié Périodes 0% 2% **4%** 6% 8% de thym 12° 28.5<sup>b</sup> 1j  $26.5^{b}$ 42<sup>a</sup> 43<sup>a</sup> 30.3 P<0.01 \*\* 14<sup>d</sup> 18<sup>d</sup>  $30^{\rm c}$  $40.5^{\rm b}$  $47.5^{a}$ 30 P<0.01 7j 21<sup>b</sup>  $20.5^{\rm b}$ 31.5<sup>b</sup> 41<sup>a</sup> 45<sup>a</sup> 14j 31.7 P<0.01 \*\* 12<sup>e</sup> 19<sup>d</sup> 38.5<sup>b</sup> 44.5<sup>a</sup> 33° 29.4 P<0.01 21j \*\* 14.62 21.12 30.75 43.25 45 moyennes

**Tableau 07.** Effet d'incorporation des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur le goût fraîcheur des laits fermentés.

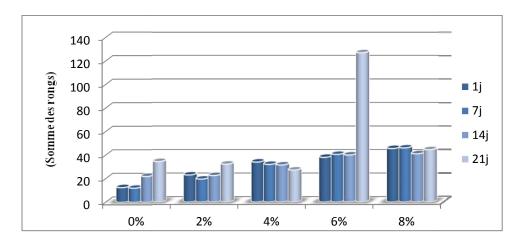
#### 1-3-3 Cohésivité

La cohésivité des laits fermentés expérimentaux additionnés d'extrait de thym est satisfaisante ; avec des moyennes des sommes des rangs variables de 20.22 à 24.30 à 31.17 à 53.74 et à 42.1 pour le témoin (0%) les autres essais expérimentaux préparés d'extrait de thym à 0,2,4,6, et 8% respectivement.

La cohésivité des yaourts expérimentaux préparés à 0 et 2% d'extrait de thym ont présent des bien meilleure cohésivité très proche, 20.22 vs 24.30contre 44.5, des sommes des ranges en moyenne.

L'étude de variance montre l'effet hautement significatif du facteur taux de l'extrait de thym sur l'évolution de la cohésivité des laits fermentés au cours de la période de post acidification (**Figure 18**).

<sup>\*\* :</sup> Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; NS : Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; a, b, c, d : test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes) ; J : jours.



**Figure 18.** Variation de la sensation de la cohésivité des laits fermentés additionnés d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

**Tableau 08.** Effet d'incorporation des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur la cohésivité des laits fermentés.

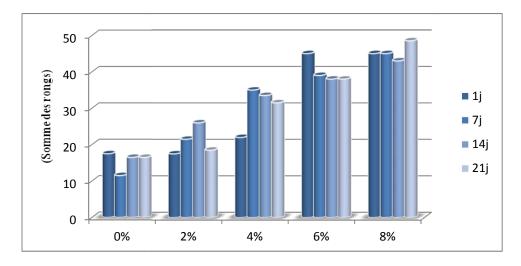
Facteur étudié	Doses d'e	extrait à l'	ris ajouté	Moyennes	Effet d'extrait		
Périodes	0%	2%	4%	6%	8%		de thym
1j	12.5 <sup>d</sup>	23°	34 <sup>b</sup>	38 <sup>b</sup>	45.5ª	30.6	P<0.01 **
7j	12 <sup>e</sup>	19.5 <sup>d</sup>	32°	40.5 <sup>b</sup>	46 <sup>a</sup>	30	P<0.01 **
14j	22 <sup>b</sup>	22.51 <sup>b</sup>	31.5 <sup>ab</sup>	40 <sup>a</sup>	41 <sup>a</sup>	31.4	P<0.01 **
21j	34.4°	32.2 <sup>d</sup>	27.2 <sup>e</sup>	126.9 <sup>a</sup>	35.9 <sup>b</sup>	51.32	P>0.05 NS
moyennes	20.22	24.30	31.17	54.73	42.1		

\*\* : Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; NS : Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym ; a, b, c, d : test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes); J : jours.

#### 1-3-4 Adhésivité

Durant la période de poste acidification, les laits fermentés présentent une augmentation légère de l'adhésivité la sommes des ranges varie de 15.5, 20.87, 30.5, 39.25 et 45.37 pour les variations de 0 à 2 à 4 à 6 et 8% d'extrait de thym dans les essais expérimentaux.

L'analyse de variance, montre l'effet hautement significatif du facteur étudié (extrait de thym) sur l'évolution de l'adhésivité des laits fermentés au 7<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jour du période de post-acidification (**Figure 19 et tableau 09**).



**Figure 19.** Variation de la sensation de l'adhésivité des laits fermentés additionnés d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

**Tableau 09.** Effet d'incorporation des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur l'adhésivité des laits fermentés.

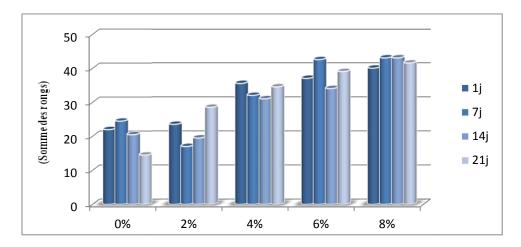
Facteur étudié	Doses d'e	extrait à l'	eau de <i>Thy</i>	mus vulga	ris ajouté	moyennes	Effet d'extrait
Périodes	0%	2%	4%	6%	8%		de thym
1j	17.5 <sup>b</sup>	17.5 <sup>b</sup>	22 <sup>b</sup>	45ª	45ª	29.4	P<0.01 **
7j	11.5 <sup>d</sup>	21.5 <sup>d</sup>	35°	39 <sup>b</sup>	45 <sup>a</sup>	30.4	P<0.01 **
14j	16.5°	26 <sup>b</sup>	33.5 <sup>ab</sup>	38 <sup>a</sup>	43ª	31.4	P<0.01 **
21j	16.5 <sup>d</sup>	18.5 <sup>d</sup>	31.5°	38 b	48.5ª	30.6	P<0.01 **
moyennes	15.5	20.87	30.5	39.25	45.37		

\*\*: Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym; NS: Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym; a, b, c, d: test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes); J: jours.

#### 1-3-5 Odeur

Au cours de toute la période de post-acidification et par comparaison au témoin, l'essai préparé à 2% d'extrait à l'eau de thym été le mieux apprécié  $7^{\text{ème}}$ ,  $14^{\text{ème}}$  et 21 jour (p<0.01), (17 vs 24.5), (19.5 vs 20.5) et (2212 vs 28.27) sommes des ranges respectivement.

Au contraire à des doses supérieures à 2%, les laits fermentés expérimentés ont accusé de mauvais résultats au plan odeur par comparaison au témoin (Figure 20 et tableau 10).



**Figure 20.** Variation de la sensation de l'odeur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

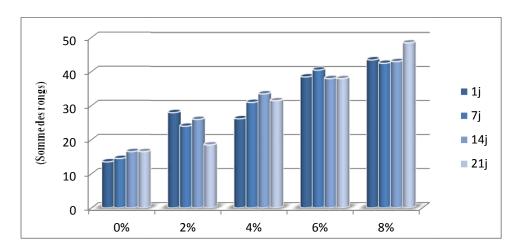
**Tableau 10.** Effet d'incorporation des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur l'odeur des laits fermentés.

Facteur étudié	Doses d'o	extrait à l'	aris	moyennes	Effet d'extrait		
Périodes	0%	2%	4%	6%	8%		de thym
1j	22 <sup>b</sup>	23.5 <sup>b</sup>	35.5 <sup>b</sup>	37ª	40 <sup>a</sup>	31.6	P<0.01 **
7j	24.5 <sup>bc</sup>	17°	32 <sup>ab</sup>	42.5ª	43ª	31.8	P<0.01 **
14j	20.5°	19.5°	31 <sup>b</sup>	34 <sup>b</sup>	43ª	29.6	P<0.01 **
21j	14.5°	28.5 <sup>b</sup>	34.5 <sup>ab</sup>	39 <sup>a</sup>	41.5 <sup>a</sup>	31.6	P<0.01 **
Moyennes	28.27	22.12	30.5	38.12	41.87		

\*\*: Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym; NS: Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym; a, b, c, d: test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes); J: jours.

#### 1-3-6 Arrière-goût

Il s'avère qu'à de fortes doses d'extraits à l'eau de thym les laits fermentés développements chez les panelistes une sensation d'arrière-goût très prononcées (p<0.01), soit des hausses des sommes des ranges de 15.5 à 20.87, à 30.5, à 39.25 et à 45.37 pour les taux d'extrait incorporés de 0,2,4,6 et 8% en moyenne respectivement dans les produits (**Figure 21** et tableau 11).



**Figure 21.** Variation de la sensation de l'arrière-goût des laits fermentés additionnés d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

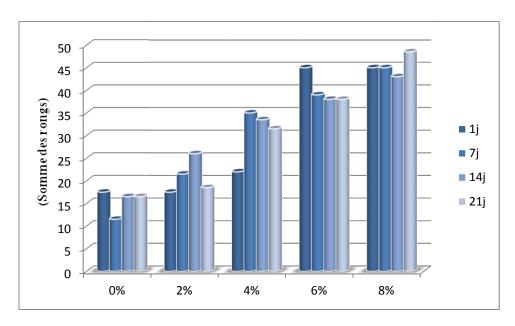
**Tableau 11.** Effet d'incorporation des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur l'arrière-goût des laits fermentés.

Facteur étudié	Doses d'e	extrait à l'o	ris ajouté	moyennes	Effet d'extrait		
Périodes	0%	2%	4%	6%	8%		de thym
1j	13.5 <sup>b</sup>	28 <sup>b</sup>	26.2 <sup>b</sup>	38.5ª	43.5ª	29.94	P<0.01 **
7j	14.5°	24 <sup>b</sup>	31 <sup>b</sup>	40.5ª	42.5ª	30.5	P<0.01 **
14j	16.5°	26 <sup>b</sup>	33.5 <sup>ab</sup>	38ª	43ª	31.4	P<0.01 **
21j	16.5 <sup>d</sup>	18.5 <sup>d</sup>	31.5°	38 b	48.5ª	30.6	P<0.01 **
moyennes	15.5	20.87	30.5	39.25	45.37		

\*\*: Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym; NS: Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym; a, b, c, d: test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes); J: jours.

#### **1-3-7 Couleur**

D'une façon générale, durant tout la période de post acidification, les produits ont de diverses couleurs par l'augmentation de la concentration de l'extrait de thym tout fois, le témoin à accusé les meilleurs résultats (Figure 22 et tableau 12).



**Figure 22.** Variation de la sensation de la couleur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

**Tableau 12.** Effet d'incorporation des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur la couleur des laits fermentés.

Facteur étudié	Doses d'e	extrait à l'	<i>ris</i> ajouté	moyennes	Effet d'extrait		
Périodes	0%	2%	4%	6%	8%		de thym
1j	17.5 <sup>b</sup>	17.5 <sup>b</sup>	22 <sup>b</sup>	45ª	45ª	29.4	P<0.01 **
7j	11.5 <sup>d</sup>	21.5 <sup>d</sup>	35°	39 <sup>b</sup>	45 <sup>a</sup>	30.4	P<0.01 **
14j	16.5°	26 <sup>b</sup>	33.5 <sup>ab</sup>	38 <sup>a</sup>	43ª	31.4	P<0.01 **
21j	16.5 <sup>d</sup>	18.5 <sup>d</sup>	31.5°	38 b	48.5ª	30.6	P<0.01 **
Moyennes	15.5	20.87	30.5	39.25	45.37		

<sup>\*\*:</sup> Effet hautement significatif de l'ajout de l'extrait de thym; NS: Effet non significatif de l'ajout de l'extrait de thym; a, b, c, d: test comparaison des moyennes deux à deux (groupe homogènes); J: jours.

#### 2-Discussion

#### 2-1 Évolution moyennes de pH et Acidité Dornic

D'une façon globale, durant la période expérimentale (fermentation et post-acidification) les laits fermentés sont caractérisés par une diminution du pH de 6.34à 4.91 en moyenne accompagnées d'augmentation remarquable d'acidité Dornic de (25.39 à 97.93). Cette réduction du pH est la conséquence d'une fermentation du lactose du lait en acide lactique effectuée par les souches spécifiques du yaourt (Cachon *et al.*, 1998).

Apparemment, le pH et l'acidité ne sont pas affectés par l'ajout d'extrait de thym. Ceci semble contradiction, du fait que plusieurs auteurs (Rasoli *et al.*, 2006) ont rapporté l'existence de nombreux composés bioactifs dans le *Thymus vulgaris* tels (huiles essentielles-thymol-carvaerol-polyphénols-flavonoïdes) ajout des propriétés antimicrobiennes contre plusieurs germes pathogènes et banaux comme (straphylococcus aureus—candidalbicans ...etc) (Driessen, 1982).

Dans l'ensemble l'acidité des taux des essais expérimentaux reste conforme à la norme admise de 150°D de rapportée par (Artignan, 1997).

#### 2.2 Viscosité

L'évolution des valeurs de la viscosité des laits fermentés expérimentaux est marquée par de légères augmentations au cours de la fermentation et la période de post-acidification.

Ces réponses peuvent être expliquées par fait que les souches spécifiques du yaourt ensemencées dont notamment les *Streptococcus thermophilis* plus actives au cours de la fermentation et les *Lactobacillus bulgaricus* possédant une plus forte prolifération particulière durant la période de post-acidification, présentation la capacité de produire des macromolécules de type glucidique appelées exopolysaccharides, ayant la faculté d'augmenter la viscosité et d'améliorer l'onctuosité du yaourt tout en modifiant sa texture (Meilee et Chen, 2004).

Cependant, de légères basses de la viscosité peuvent être observées durant la conservation des produits à 4°c en particulier en fin de la période de post-acidification expliquées par (Artignane,1997) par la faculé des germes spécifiques du yaourt(*Streptococcus thermophilis* et *Lactobacillus bulgaricus*) de secréter au cours de leurs cycle de développement des enzymes dégradant d'une part les exopolysaccharides et en d'autre part la

matrice protéique du caille, avec comme conséquence une diminution de la viscosité du yaourt et une légère exsudation du lactosérum.

Par ailleurs l'addition d'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* (thym) à une conservation de 6 et 8% dans les laits fermentés occasionne de faibles viscosités des laits fermentés (fermes), alors qu'à de faible taux d'incorporation de 2 et 4 % la viscosité des produits sont présenté. Il est bien établi que le thym est riche en plusieurs composés bioactifs ayant des propretés antimicrobiennes dont (huiles essentielles-thymol-carvacrol-polyphénols-flavonoïdes) (Rasoli *et al.*, 2006).

L'effet antimicrobien de l'extrait expérimental de thym semble dans se manifester d'une manière apparente à des taux de 6 et 8% au la production d'exopolysaccharides par les germes spécifiques du yaourt est vrai semblablement réduit avec comme résultante une baisse de la viscosité et de la qualité rhéologique des produits.

#### 2-3 Streptococcus thermophilis et Lactobacillus bulgaricus

Le nombre des germes spécifiques à savoir (*Streptococcus thermophilis* et *Lactobacillus bulgaricus*) connaît une croissance remarquable durant la période expérimentale Cependant, pendant la 2<sup>ème</sup> période de l'étude, de post-acidification fication, le nombre des *Lactobacillus bulgaricus* est bien plus élevé que leurs équivalents les *Streptococcus thermophilis*. A ce propos, d'après, les *Streptococcus thermophilis* assurent le démarrage de la fermentation jusqu'à un certain pH du milieu de 4.9 ou leur croissance est freinée et achevée en suite par les *Lactobacillus bulgaricus* dont la prolifération continue à se poursuivre même au cours de la conservation des échantillons (produit) au froid à 4°C.

Cependant, ces bactéries lactiques spécifiques (*Streptococcus thermophilis* et *Lactobacillus bulgaricus*) ensemencé simultanément dans les produits sont retrouvées à l'état vivant à un nombre normale (Laprent, 1999), jusqu'à la date limite de consommation fixée dans cette étude d'environ 21 jours.

Par ailleurs, il à été observé durant l'étude que les laits fermentés aux extraits de thym présentent un faible nombre de germes *Streptococcus thermophilis* et *Lactobacillus bulgaricus* que le yaourt témoin préparé sans extrait de thym riche en composés bioactifs (thymol- carvacrol-polyphénols-flavonoïdes...etc) ayant une activité antimicrobienne est sans doute à l'origine de ces réponses.

#### 2-4 Test organoleptique

Le jury de dégustation a bien accepté les laits fermentés préparés à 2 et 4% d'extrait aqueux de thym. Tout fois, le yaourt témoin, été mieux accepté que les autres essais expérimentaux additionnée d'extrait de thym. Apparemment plus le niveau d'extrait est important plus la qualité organoleptique des produits est altérée. Par ailleurs, pour le critère odeur, les laits fermentés préparés à 2% d'extrait de thym ont été qualifiées par les panelistes de meilleurs que le témoin. En effet l'ajout d'extrait de thym riche en composes bioactifs possédant une activité antimicrobienne avérée peut freiner partiellement l'activité microbienne des germes spécifiques ensemencées à produire normalement de l'acide lactique et des exopolysaccharides ce qui a pu affecter vraisemblablement certains critères sensoriels chez les dégustateurs inclus dans l'étude connue le gout acide, l'adhésivité et la cohésivité. L'amélioration de l'odorat des laits fermentés préparés à 2% d'extrait de thym est sans doute liée a certaines de ces composés bioactifs de la plante aromatique tels (huiles essentielles-thymol...etc), ramenés dans le produit lors de la préparation.

## Conclusion

#### Conclusion

Au terme de cette étude expérimentale et à travers les résultats obtenus il apparaît claire qu'il est possible d'incorporer les principaux composés bioactifs du *Thymus vulgaris* extrait par simple macération à l'eau dans le yaourt en vue de fabriquer un lait fermenté alicament.

L'ajout d'extrait aqueux de thym ne semble pas affecter l'acidité et le pH des laits fermentés dont les valeurs restent comparables au yaourt témoin.

Cette acidité, au cours des deux périodes de l'étude n'a pas dépassée dans les essais avec au sans extraits de thym la norme de 150°D.

Quand, à la viscosité, les laits fermentés préparés à des taux s'avères de 6 et 8% d'extrait de thym ont enregistré une chute (p<0.001) de la viscosité par comparaison au témoin.

Apparemment, l'ajout d'extrait à 2 et 4% occasionne des résultats comparables (p>0.05) au témoin.

La prolifération de la flore spécifique du yaourt (*Streptococcus thermophillus* et *Lactobacillus bulgaricus*) est relativement freinée (p<0.01) dans les laits fermentés additionnés d'extraits aqueux de thym que le yaourt standard.

La qualité organoleptique des laits fermentés est proportionnellement détériorée avec l'élévation du taux d'extrait de thym incorporés.

Néanmoins, les panelistes ont bien accepté les laits fermentés préparés à 2 et 4% d'extrait aqueux de *Thymus vulgaris*.

En perspective, il serait fait intéressant de reconduire cette étude pour confirmer les résultats trouvés. Il est encore plus intéressant de tester les reparussions d'autres extraits aqueux de plantes médicinales telle (la menthe poivrée, le gingembre, le laurier...etc.) sur la qualité et les germes spécifiques du yaourt.

# Références bibliographiques

### Références bibliographiques

A

Adam M.R., Mass M.O.1999. Food microbiology. 2nd Edition, Royal Society of Chemistry.

**Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F. 2006.** Antibacterial Effects of Naturaceutical Plants Growing in Palestine on Pseudomonas aeruginosa-Turk J Biol; Vol. 30; pp 239-242.

**Al-Bayati F.A.,2008.** Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology.*, 166 (3): 403-406.

**Artignan JM., Corrieu G., Lacroix C. 1997.** Rheology of pure and mixed Kappacarrageenan gels in lactic-acid fermentation conditions. J.Texture Stud. 28: 47-70.

B

**Bazylko A., Strzelecka H. 2007.** A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitotherapia.*, **78:** 391-395.

**Belkadi. F., Belmaaziz. S. 2015.** Effet des extraits de thym (*Thymus vulgaris*) sur la qualité d'un lait fermenté alicament type yaourt étuvé au cours de la conservation.

**Benech. Ro., Kheadr.Ef., Laridi. R., Lacroix.,** C **Fliss. I. 2002**. Inhibition of *Listeria innocua* in cheddar cheese by addition of nisin Z in liposomes or in situ production by mixed culture . Appl. Environ. Microbiol. 68:3683-3690.

**Bergamaier D. 2002.** Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées le *lactobacillus rhamnosus* RW-959M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de Doctorat, Université de Laval, Canada.

**Biliaderis C.G., Khan M.M., Blank G. 1992.** Rheological and sensory proprties of yogurt from skim milk and ultrafilterd retentates. International Dairy Jornal, 2, 311-323.

**Brule. G. 2004.**Progrès technologiques au sein des industries alimentaires impact sur la qualité des produits—La filière laitière, Rapport commun de l'Académie des technologies et de l'Académie d'Agriculture de France : 8 (24 pages)

**Bruneton J. 1999.** Pharmaconosie et phytochimie des plantes médicinales. *3*<sup>ème</sup> *Ed Tec&Doc. Paris*.

C

Cachon R., Antérieux P., Diviès C. 1998. The comparative behaviour of Lactococcus lactic in free and immobilized culture processes. J. biotechnol. 63:211-218.

Chatelain. 1997. «Tela Botania » Thymus vulgaris (fr)

CIDIL., INRA. 2009. Du lait aux produits laitiers. -Paris FRANCE: Cidil. p: 19.

CODEX ALIMENTARIUS . 1975. Normes n°A 11(A).- Rome :FAO/OMS.p: 86.

Corvi A., 1997. Événement, les yaourts, les laits fermentes. Tech&doc. Sepiac. Paris P14-17.

Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M, Mascia V., Arzedi E and Palmas. 1999.F-*In-vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils- Letters in Applied Microbiologie; Vol. 29; pp130-135.

D

Dellaglio F., de Rossart H., Torrianis S., Curk M. et Janssens D. 1994. Le dosage des protéines. *Biofutur*, 41, 3-11.

**Dob,T., Dahmane, D., Benabdelkader. T., Chelghoum, C.2006.**chemical composition of the essential oil of salvia officinalis from Algeria.

**Doleyres Y. 2003.** Production en contenure du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse Doctorat Université de Laval. Quebec. 167 pages.

**Driessen F.M, 1982.** Evedence that lactobacillus in yaourts is stimulated by carbon produced by streptococcus thermophilus, Mill. Dairy journal N°22.P134-144.

**Dupin H, cup j.l., Malviak m.i., leynaud-rouaud C. Et Berthier a.m., 1992.** Alimentation et nutrition humain. Ed: esf, paris, 1515p.

F

FAO. 1995. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Amazon, Rome, Italie.

FRANCE / Ministère de l'Economie et des Finances, 2009. Spécifications techniques de l'achat public lait et produits laitiers. – Paris : OEAP.-47p.

**FREDOT E. 2005.** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 10-14 (397 pages).

9

Golmakani et Rezaei, 2008. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from Thymus vulgaris L

**Cowan. 1999.**Plant products as antimicrobial agents. *Clinicalmicrobiologreviews.*, 12(4): 564-570.Guyot P, 1992 les yaourts D.L.G. foods. Tec. P4-8-10-11.

Gürsoy A., Durlu-Özkaya F., Yildiz F. et Aslim B., 2010. Set Type Yoghurt Production by Exopolysaccharide Producing Turkish Origin Domestic Strains of Streptococcus thermophilus (W22) and Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus (B3). *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 16, 81-86.

H

Hermier D., Accolas J.P., et Desmazeau M.J. 1990. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire. Ed. Apria. P190-196.

1

**Imhof R.,Glattli H. and Brosset J.O., 1994.** Volatile organique aroma compoundes produced by thermophilic mixed strain dairy started cultures. Lebensmittel Wissensechaft and Technologie, 27, 442-449.

**Iserin P. (2001)** Encyclopédie des plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226.

J

**Jiminez-Arellanes et al., 2006.** Thymus vulgarisas apotential source of antituberculosis compounds. Pharmacologyonline.,3: 569-574.

K

**Keddar. F., Koubich. S. 2009.** Etude de l'effet antagoniste entre les deux bactéries du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) et les germes pathogènes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*).

L

Lamoureux L. 2000. Exploitation de l'activité  $\beta$ - galactosidase de culture de bifidobacteries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligasaccharides. Mémoire de maitrise, Université de Laval, Canada.

**Larpent J.P. Bourgois.**, **1989.** Microbiologie alimentaire. Ed, techniques et documentation Lavoisier. Paris, 46, 1-117.

**Laprent.Jp,1990.** les bactéries lactiques. International journal of systematique bacterilogy p3\_9.

**Lemoinnier D., Brasseur et Weber E. 1998.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Ed.ISP.N°2-5-20534-6. P44.

Lenoir J., Hermier J., et Weber E. 1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitiers. Ed. Lavoisier. TEC et doc. Paris, P(8-38).

Lucas A., Sodini I., Monnet C., Jolivet P. et Corrieu G. 2004. Probiotic cell counts and acidification in fermented milks supplemented with milk protein hydrolysates. *International Dairy Journal*, **14**, 47–53.

**Luquet F.M. 1990.** Les produits laitiers transformation et technologie. 2eme édition Lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tech&Doc Apria Lavoisier. P2-85-206.

M

Mahaut M., Jeantet R., Brulé G and Schuck P. 2000. Les produits industriels laitiérs. *Tech&Doc*, Lavoisier, Paris.

Marty-Teysset C. De La Torre F.and Garel J-R. 2000. Increased production of hydrogen peroxyde by *lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* upon aeration: involvement. Applied and Environmental Microbiology, 66(1), 262-267.

**Mebarki N. 2010**. Thèse de magistère. De chimie, Université – M'Hamed Bougara-Boumerdes.

**Mechtoun.A. 2014.** Essai de fabrication d'un yaourt natural aromatisé par un sirop de romarin.

Meillee. Shiao., Chen. Jinru. 2004. The influence of an extracellular polysaccharide, comprised of colanicacid, on the fate of Escherichia coli O157:H7 during processing and storage of stirred yogurt, Department of Food Ssience and Technologie, The University of Georgia, 1109 Experiment Street, Griffin, GA 30223-1797. USA.

**Morales, R. 2002.** The history, botany and taxonomy of the genus Thymus. In: Thyme: the genus Thymus. *Ed. Taylor & Francis, London.* pp. 1-43.

N

**Nickavar B., Mojab F., Dolat –Abadi R**. 2005.analysis of the essential oils of two Thyumus species from Iran-Food Chemistry; Vol. 90; pp 609-611.

0

Oliveira M.N., Sodini I., Remeuf F. et Corrieu G. 2001. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties, and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 11, 939–946.

Özcan M., Chalcha J. C. 2004. Aroma profile of Thymus vulgaris L growing wild in

Turkey. Bulgarian journal of plant physiology., 30 (3-4): 68-73

P

**Pacikora E, (2004):** Interaction physico-chimique et sensorielle dans le yaourt brasse aromatise, Quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur? Thèse présenté pour obtenir la grande de l'Institue National agronomique Paris, Grignon. Pp : 25.

Patrick., Van dessel; M.D; Dtmh; Mph. 2005. Unit ofepidemiology metzoon, scientific institut of Public Health, J Wytsmansrraat 14,1050 Brussels, Belgium.

Patrick G.L, 2003. Chimie pharmaceutique. 2° édition. éd. De boeck.

R

Rasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M.B. 2008. Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermumcopticum*L. essential oils.International Journal of Food Microbiology.Pp135-139.

Rousseau M. 2005. La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA. 9pages.

Roussel Y., Pebay M., Guedon G., Simonet J.P.& Decarisn B. 1994. Physical and genetic map of *streptococcus thermophillus* A054. *Journal of Bacteriology*, 176 (24), 7413-7422.

S

**Schmidt J.L, Tourneur C. et Lenoir J. (1994).** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in « bactéries lactiques ». Vol II. De Roissart H. et Luquet F.M. Ed. Lorica

**Soto-Mendivil E.A., Moreno-Rodriguez J.F., Estarron-Espinoza M., Garcia- Fajardo JA et Obledo – Vazquez E.N.** 2006. Chemical composition and fungicidal avtivity of the essentail oil of thymus vulgaris against alternaria citri- E-Gnosis (on line); Vol 4, N°16.

T

**Takeuchi H., Lu Z. G., Fujita T. 2004.** New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (Thymus vulgaris L). Bioscience, biotechnology and biochemistry., 68 (5): 1113-1134.

**Tamime A.Y. and Deeth H.C. 1980.** Yogurt: technology and biochemistry. Journal of Food Protection, 43, 939-977.

**Tamime A.Y. and Robinson R.K. 1999.** Yogurt science and technology. 2<sup>nd</sup> Ed. Cambridge : woodhead Publishing.



**Weber F. 1994.** Altération des produits laitiers par les bactéries lactiques. In « Bactéries lactiques ». de Roissart, H. Luquet, F.M.(Eds), lorica, Uriage. 567-572.

Annexe

#### Annexe I : composition des bouillons et des géloses

### La composition de milieu MRS Extrait de levure déshydraté......5g Hydrogène-ortho phosphate di potassique (K2HP).....2g Acétat de sodium, tri hydraté (CH3 CO2 Na3 H2O).....2g Citrate d'ammoniaque (C6 H6O7 (NH4)2).....2g Agar-agar ......9-18g Ajuster le pH du milieu à......6.2 La composition de milieu M17 Extrait de levure déshydratée. 2.50g Extrait de viande ......5g Agar-agar 9-18g Eau 950ml

Ajuster le pH du milieu entre......7.1-7.2

#### Annexes II: Analyses physico-chimiques et microbiologique

#### **Analyses physico-chimiques**

#### 1-1 Mesure le pH

#### 1-1-1 Réactifs et appareillage

- > PH mètre
- ➤ Solution tampon (pH=4 et pH=7)

#### 1-1-2 Mode opératoire

Le pH des échantillons est déterminé par l'introduction de la cathode à l'intérieur du produit après étalonnage par les solutions tampons (pH=4 et pH=7).

#### 1-1-3 Expression des résultats

Les résultats se fait par lecture directe sur le pH mètre.

#### 1-2 Mesure de l'acidité

#### 1-2-1 Réactifs et appareillage

- > 50 g de soude (NaOH, N/9)
- > 1g de phénolphtaléine (1%)
- Burette
- Béchers
- ➤ Pipette (10ml)

#### 1-2-2 Mode opératoire

L'acidité Dornic est déterminer par titration d'un échantillon de 10ml à l'aide de soude dornic (N/9) en présence d'indicateur coloré (phénolphtaléine 1% dans l'éthanol 95 u) jusqu'au virage au rose-pal.

#### 1-2-3 Expression des résultats

Acidité Dornic= V<sub>NaOH</sub>.10

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

#### 1-3 Mesure la viscosité

#### 1-3-1 Appareillage

- Bille de de masse, de 1.2 cm de diamètre et de masse volumique égale à kg/m³.
- Tube cylindrique de 12cm de longueur.
- Chronomètre servent à mesure le temps de chute de la bille.

#### 1-3-2 Mode opératoire

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

#### 1-3-3 Expression des résultats

$$\mu$$
= K. (ξ bille – ξ yaourt).t K= 2. r<sup>2</sup> .g/9.x

Donc: 
$$\mu = (2r^2 \cdot g/9x) \cdot (\xi \text{ bille} - \xi \text{ yaourt}) \cdot t$$

μ: viscosité dynamique (kg/ms)

**K**: constante, tel que  $K=74.10^{-3}$  m

 $\xi$  bille : la masse volumique de la bille = 2800 g/ m<sup>3</sup>

 $\xi$  yaourt : la masse volumique de yaourt (kg/m³)

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

r: rayon de la bille tel que. r=D/2=0.6

g: la force de pasteur, tel que g=9.81m/s<sup>2</sup>

x: la distance d'écoulement de la bille, x=10cm

#### Analyses microbiologiques

#### 2-1 Dénombrement des Streptococcus thermophilus

Les germes est dénombrée en boite de pétri stérile sur le milieu de culture M17.

#### 2-1-1 Inoculation

1 ml de chaque dilution est ensemencé dans les boites de pétri, puis on verse la gélose. L'omogenation est réalisée par des mouvements circulaires doux et plat, dans les deux sens, au moins dix fois. Solidification de la gélose près du bec et couvercle entrouvert pour permettre un séchage du milieu.

#### 2-1-2 Incubation

L'incubation est faite à 37°C pendant 24 à 48h.

#### 2-1-3 Lecture des résultats

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

#### 2-2 Dénombrement des Lactobacillus bulgaricus

Les germes est dénombrée en boite de pétri stérile sur le milieu de culture MRS (Man Rogosa Sharp).

#### 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 Rogosa Sharp).

#### 2-2-2 Incubation

L'incubation est faite à 30°C pendant 48 à 72h.

#### 2-2-3 Lecture des résultats

Les *Lactobacillus bulgaricus* se formant des colonies lenticulaires souvent en forme d'étoile, de 1 à 3 mm de diamètre.

#### Annexes III : Fiche de dégustation

Université Abdelhamid Ben Badis-Mostaganem

Département de Biologie

Paneliste N° :
Nom :
Prénom:
Sexe :
Fonction:

### Fiche de dégustation

	Echan.1	Echan.2	Echan.3	Echan.4	Echan.5
Goût acide					
Goût de					
fraicheur					
Cohésivité					
Adhésivité					
Odeur					
Arrière- Goût					
Couleur					

Il est demandé aux panelistes d'apprécier la qualité des produites 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).

#### **Définition:**

- ➤ Goût acide : Le dégustateur doit évaluer l'acidité du produit en le dégustant.
- ➤ Goût de fraicheur : Le dégustateur doit évaluer la sensation de fraicheur lors de la mise en bouche du produit.
- Cohésivité: Traduit la capacité maximale de déformation de l'échantillon après écrasement du produit en pots 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 : Le dégustateur est appelé à apprécier le niveau d'acceptabilité de la couleur des produits par.

### Résumé

Notre étude expérimentale est basée sur l'effet de variation des taux d'incorporation d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris* sur l'évolution des paramètres physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques des laits fermentés fermes au cours de la période de fermentation et de post-acidification.

Le pH et l'acidité des laits fermentés ne sont pas affectés par l'ajout d'extrait de thym.

Les laits fermenté sans et avec extraits de thym ont maintenu une acidité normale de moins de 150°D jusqu'à la fin de période de poste-acidification, au 21<sup>ème</sup> jour.

La viscosité des laits fermentés à 2 et 4% d'extrait aqueux de thym reste comparable au témoin, l'addition d'extrait de thym semble réduire le nombre de *Strepococus thermophlis* et de *Lactobacillus bulgaricus* dans les laits fermentés par comparaison au témoin. Cependant, le nombre de ces germes spécifiques du yaourt reste proche de la normale de 10<sup>6</sup> germes vivants/ml dans les essais expérimentaux.

En fin, les meilleurs résultats de gout, de cohésivité et d'adhésivité sont décelés au niveau de l'échantillon préparé à un taux de 2% d'extrait aqueux de *Thymus vulgaris*.

Mots clés: Laits fermenté, thym, yaourt, qualité, extrait.

## Summary

Our experimental study is based on the effect of variation of the incorporation rates of water extract of *Thymus vulgaris* on the evolution of the microbiological and organoleptic physico-chemical parameters of firm fermented milks during the fermentation period and of post-acidification. The pH and acidity of the fermented milks are not affected by the addition of thyme extract. Fermented milks with and without thyme extracts maintained a normal acidity of less than 150 ° D until the end of the post-acidification period on the 21st day. The viscosity of the fermented milks at 2 and 4% of aqueous extract of thyme remains comparable to the control, the addition of thymus extract seems to reduce the number of *Strepococus thermophlis* and *Lactobacillus bulgaricus* in the fermented milks as compared to the control. However, the number of these specific yoghurt germs remains close to the normal of 10<sup>6</sup> live organisms / ml in the experimental tests. At the end, the best results of taste, cohesiveness and adhesiveness are detected at the level of the sample prepared at a rate of 2% aqueous extract of *Thymus vulgaris*.

**Key words:** Fermented milk, thyme, yogurt, quality, extract.