



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

MOULAY Mouna & GHOMRI Ismahene

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUÉE

THÈME

Effets des extraits phénoliques de la Menthe poivrée (*Mentha piperita L*)
sur la croissance des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.
Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament.

Soutenues publiquement le 29/06/2016

DEVANT LE JURY :

Président	M. BOUDEROUA. K	Prof. U. Mostaganem
Encadreur	M. AIT SAADA. D	MCB U. Mostaganem
Co-encadreur	M ^{me} . AIT CHABANE.O	MAA U. Mostaganem
Examineur	M. BEKADA. A	Prof. U. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire de Microbiologie de l'Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2015/2016

Dédicaces

On tient à dédier ce travail à :

* La mémoire de mon défunt père. J'espère que je serai toujours à la hauteur de ses espérances ;

* Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

* Nos très chers fiancés qui nous ont motivé et soutenu tout au long de ce travail ;

* Nos très chère mères, nos frères et sœurs pour leur encouragement ;

* Nos belles familles ainsi que toute la famille MOULAY et GHOMRI ;

* Une spéciale dédicace à une personne qui a été très paternaliste avec nous : MR AIT SAADA Djamel. Trouvez dans ce modeste travail nos sincères gratitude et reconnaissance. Ce travail est le votre.

Remerciement :

On tient à remercier Monsieur AIT SAADA Djamel, Docteur à la faculté des Sciences Biologiques de MOSTAGANEM et Mme AIT CHABANE Ouizapour avoir accepté de diriger ce travail et pour tous ses conseils avisés.

Un grand merci à Monsieur Djilali, Technicien du laboratoire de microbiologie, pour son soutien pour son aide précieuse et sa disponibilité et tous ses conseils scientifiques. Que tous les participants trouvent ici, l'expression de notre sincère gratitude pour leur disponibilité et leur application.

On exprime notre reconnaissance à Monsieur BOUDEROUA. K Professeur à l'université Abd El Hamid Ibn Badis de MOSTAGANEM qui a accepté de présider le jury et nous le remercions pour nous avoir permis de réaliser une partie de notre travail au sein de son laboratoire.

On remercie également Monsieur BEKADA A., Professeur à l'université Abd El Hamid Ibn Badis de MOSTAGANEM qui nous fera l'honneur d'être un examinateur de ce mémoire.

Résumé :

L'étude expérimentale est consacrée à l'évaluation des effets antimicrobiens des poly-phénols de la menthe poivrée (*Mentha piperita L*) sur la croissance des germes spécifiques du yaourt. Les composés phénoliques de la plante objet de l'étude récoltée dans la wilaya de Mostaganem ont été extraits par macération dans une solution hydro-alcoolique. Un essai de fabrication d'un lait fermenté additionné d'extrait poly phénols a été aussi réalisé. Les mesures effectuées ont concerné : les tests d'inhibitions, physicochimiques, microbiologiques et organoleptiques.

Les extraits phénoliques de la menthe poivrée (*Mentha piperita L*) semblent exercer un effet inhibiteur de type bactéricide sur la croissance des germes lactiques: *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

L'ajout d'extrait de menthe dans le lait fermenté a réduit relativement l'acidité, la viscosité et l'accroissement des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Toutefois, tous les laits fermentés additionnés de menthe ont été très bien appréciés par le jury de dégustation, au même titre que le yaourt témoin.

Mots clés : Yaourt, poly-phénols, menthe poivrée, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*.

Abstract:

The experimental study is devoted to the evaluation of antimicrobial effects of polyphenols from peppermint (*Menthapiperita L*) on the growth of specific bacteria yogurt. Phenolic compounds of the object plant study harvested in the wilaya of Mostaganem were extracted by soaking in a water-alcohol solution. A test of manufacturing a fermented milk supplemented with extract polyphenols was also realized. The measurements were: inhibitions tests, physical-chemical, microbiological and organoleptic.

Phenolic extracts of peppermint (*Menthapiperita L*) appear to exert a bactericidal type of inhibitory effect on the growth of lactic acid bacteria: *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*.

The addition of mint extract in the fermented milk has reduced relatively acidity, viscosity and increasing germs *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. However, all fermented milk with added mint were very well appreciated by the tasting panel, along with the control yoghurt.

Keywords: yogurt, polyphenols, peppermint, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*.

Plan de travail :

Introduction.....01

Partie 1 : Etudes bibliographique

Chapitre 1 : Présentation du yaourt.....03

1 Définition.....03

1.2 Historique.....03

2 Matières utilisées pour la production du yaourt.....04

2-1 Lait frais.....04

2-1-1 Problématique du lait en Algérie.....04

2-1-2 La poudre de lait.....05

2-2 Les bactéries caractéristiques du yaourt.....06

2-2-1 Caractéristiques générales des bactéries du yaourt.....06

2-2-1-1. *Streptococcus thermophilus*.....06

2-2-1-2 *Lactobacillus bulgaricus*.....06

2-2-2 Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt.....07

2-2-2-1 Production d'acide lactique.....07

2-2-2-2 Activité protéolytique.....08

2-2-2-3 Activité aromatique.....08

2-2-2-4 Activité texturante.....09

2-2-3 Comportement associatif des deux souches.....09

3 Les différents types de yaourt.....10

4 Technologie du yaourt.....10

4-1 Standardisation du mélange.....10

4-2 Traitement thermique.....11

4-3 Ensemencement.....11

4-4 Réchauffage.....	11
4-5 Etuvage/ brassage.....	12
4-5-1 Phase d'incubation (étuvage).....	12
4-5-2 Brassage.....	12
4-6 Conservation des yaourts.....	14
5 Qualités du yaourt.....	14
5-1 Aspects physico-chimiques.....	14
5-2 Aspects hygiénique.....	14
5-3 Défauts et altérations du produit.....	15
5-4 Qualité organoleptique.....	17
5-4-1 Gélification acide.....	17
5-4-2 Comportement rhéologique.....	17
5-4-3 Propriétés et analyses sensorielles.....	19
5-4-3-1 Propriétés organoleptiques	19
5-4-3-2 Analyse descriptive quantitative.....	20
5-4-3-2-1Sélection du jury.....	21
5-4-3-2-2 Choix des descripteurs.....	21
5-4-3-2-3 L'échelle de notation	21
5-4-3-2-4 L'entraînement des sujets et le contrôle des performances.....	21
5-4-3-2-5 Organisation des séances.....	22
Chapitre II : Les Polyphénols.....	22
1- Généralités biochimiques.....	23
2. Localisation et rôle dans les plantes.....	23
3. Classification des composés phénoliques.....	24
3.1. Composés phénoliques largement répondus.....	25

3.1.1 Flavonoïdes.....	25
3.1.2 Les anthocyanes.....	25
3.1.3 Flavones et flavonoles.....	25
4 Intérêts des composés phénoliques.....	26
4-1 Rôle nutritionnel et thérapeutique.....	26
4.2 Rôle physiologique.....	27
4.3 Rôle technologique.....	27
5. Mode d'action des polyphénols	28

Chapitre III : Généralité sur les espèces de la Menthe poivrée

1. Généralités.....	29
2. Définition.....	29
3. Avantages de la phytothérapie.....	29
4. Les Menthes.....	30
4.1. Origines historiques.....	30
4.2. La menthe poivrée.....	30
4.2.1. Classification.....	31
4.3. Caractéristiques.....	31
4.3.1. Description	31
4.3.2. Pays d'origine.....	32
4.3.3. Principaux pays producteurs.....	32
4.3.4. Culture.....	32
4.3.5. Récolte.....	33
4.4. Conservation.....	33
4.5. Composition.....	33

4.5.1. Constituants principaux de la plante.....	33
4.5.2 Dosage.....	34
5. Propriétés et emplois.....	34
5.1. Propriétés.....	34
5.2. Toxicologie.....	34
5.3. Emploi comme épice.....	34
5.4 Autres emplois.....	35
6- Usages.....	35
6.1 Usages internes.....	35
6.2. Usage externe.....	35

Partie 2 : Méthodologie

1 Objectifs.....	36
2. Matériel végétal.....	36
3. Extraction des polyphénols.....	36
4. Préparation des solutions d'extraits de polyphénols.....	37
5. Etude des effets antimicrobiens des extraits phénoliques de la Menthe.....	36
5.1 Activation des souches microbiennes expérimentales.....	37
5.2 Méthode de contact direct.....	37
5.3 Méthode des disques par diffusion sur gélose.....	38
5.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice : CMI.....	38
5.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	39
6. Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi de polyphénols.....	40
6.1 Protocole expérimental.....	40
6.2 Préparation des levains.....	40

6.3 Mise en fabrication des laits fermentés expérimentaux :	40
7. Mesures et contrôles	41
7.1 Paramètres physicochimiques	41
7.1.1 Acidité	41
7.1.2 pH	41
7.1.3 Viscosité	41
7.2 Analyses microbiologiques	41
7.3 Test organoleptique	42
8. Traitement statistique	42

Partie 3 : Résultats et discussion

1. Résultats	43
1.1. Rendement d'extraction	43
1.2. Effet inhibiteur des extraits phénoliques de la menthe	43
1.2.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	43
1.2.1.1. Diamètre d'inhibition	43
1.2.1.2. Taux d'inhibition	44
1.2.1.3. Taux de croissance	45
1.2.1.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI)	45
1.2.1.5. Concentration minimale bactéricide CMB	46
1.2.1.6. Rapport CMB/CMI	46
1.2.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	47
1.2.2.1. Diamètre d'inhibition	47
1.2.2.2. Taux d'inhibition	48
1.2.2.3. Croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	48

1.2.2.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	49
1.2.2.5. Concentration minimale bactéricide (CMB).....	50
1.2.2.6 Rapport CMB / CMI.....	50
1.3. Qualité des laits fermentés additionnés de poly-phénols de Menthe poivrée.....	50
2. Discussion.....	52
Conclusion générale.....	56

Liste des figures et des tableaux

Liste des figures :

Figure	Titre	Page
01	Aspect microscopique des bactéries lactiques du yaourt	07
02	Interactions de <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i> en culture mixte dans le lait	09
03	Diagramme des principales étapes de fabrication du yaourt.	12
04	Effet du traitement thermique sur la microstructure du yaourt	18
05	Structure de base des flavonoïdes	26
06	Structure de base des anthocyanes	26
07	Diamètres d'inhibition des extraits phénoliques de la menthe sur la croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i>	43
08	Détermination de la CMB des extraits phénoliques de la MENTHE POIVREE vis-à-vis de <i>Streptococcus thermophilus</i> .	46
09	Effet inhibiteur des extraits phénoliques de la Menthe poivrée déterminé par la méthode des disques sur la croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	47
10	Détermination de la CMB des extraits phénoliques de la MENTHE POIVREE vis-à-vis de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	50

Liste des tableaux :

Tableau	Titre	Page
01	Principaux défauts rencontrés dans la fabrication des yaourts.	15
02	Classification des polyphénols selon le nombre d'atomes de carbone	24
03	Activités biologiques des composés phénoliques	27
04	Variation du diamètre de la zone d'inhibition de <i>Streptococcus thermophilus</i> en fonction des différentes concentrations d'extrait brut phénolique de la menthe	44
05	Variation de taux d'inhibition de <i>Streptococcus</i> en fonction des différentes concentrations d'extraits des polyphénols de la menthe.	44
06	Effet des extraits polyphénols de la menthe sur la croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i>	45
07	Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait phénolique de la menthe sur la croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i> .	45
08	Action inhibitrice des extraits phénoliques de Menthe sur la croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i> .	46
09	Variations du diamètre de zone d'inhibition de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> en fonction des différentes concentrations d'extraits phénoliques de la menthe.	48
10	Variations des taux d'inhibition de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> en fonction des différentes concentrations d'extraits phénoliques de la menthe poivrée	48
11	Effet des extraits polyphénols de la menthe poivrée sur la croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	49
12	Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait phénolique de la menthe sur la croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	49
13	Action inhibitrice des extraits phénoliques sur la croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	50

Introduction :

La menthe est, avant tout, une plante bienfaitrice ayant un pouvoir positif sur la santé. On prête d'ailleurs à cette plante d'innombrables vertus antibactériennes, antidouleur, anti-inflammatoire ... etc., qui ont été vérifiés scientifiquement. Ces effets sont dus à la présence de certains composés bioactifs tels que l'eugénol, l'acide caféique et l'acide rosmarinique (**Arumugam et al., 2009**).

Beaucoup d'études ont été réalisées au sujet de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès scientifique d'aromathérapie. Il résulte que, les extraits phénoliques possèdent de nombreuses activités biologiques. Selon les travaux de **Freeman et Carel (2006)**, ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques.

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

Pour cela, nous nous sommes proposé de connaître le comportement *in vitro* des souches de levains lactiques vis-à-vis des inhibiteurs de croissance tels les polyphénols de la menthe poivrée extraits par la méthode de macération.

L'effet inhibiteur des extraits phénoliques de la menthe poivrée a été étudié principalement par deux méthodes d'approches : la méthode de diffusion sur gélose et la méthode de contact direct. Les extraits poly phénoliques ont été appliqués à différentes

concentrations. Un lait fermenté supplémenté d'extraits phénoliques de menthe a été enfin fabriqué en vue d'étudier sa qualité physicochimique et microbiologique.

Le manuscrit objet de l'étude comporte trois parties :

- Une première partie bibliographique traitant sur le yaourt, les poly-phénols et la menthe poivrée.
- Une seconde partie faisant la description du matériel et des méthodes appliquées dans l'approche expérimentale en vue d'étudier les effets antimicrobiens des poly-phénols de la menthe poivrée sur les germes spécifiques du yaourt.
- Enfin, une dernière partie consacrée à la critique et à la discussion des résultats obtenus au terme du travail expérimental entrepris au laboratoire.

Chapitre I : Présentation du yaourt

1 Définition :

D'après le Codex Alimentaire, le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*) et de *Streptococcus salivarius*, sous-espèce *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 substances (lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines lactosériques concentrées ou non, la caséine alimentaire ...etc.). Les micro-organismes du produit final doivent être viables et abondants.

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 modifie les propriétés du yaourt (**Anonyme, 1995**).

1-2 Historique :

Lemot yaourt (yoghourt ou yogurt) originaire d'Asie, vient de « yoghurmark » 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 **1902, Ris et Khoury**, deux médecins français, isolent les bactéries présentes dans un 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 sûre et régulière (**Rousseau, 2005**).

De nombreux autres produits sont arrivés par la suite sur le marché : laits fermentés probiotiques, laits fermentés de longue conservation (pasteurisés, UHT, lyophilisés ou séchés) et produits « 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 produits 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, 2003**).

2 Matières utilisées pour la production du yaourt :

2-1 Lait frais :

Le lait est un produit de forte valeur nutritionnelle. C'est l'un des rares aliments à contenir une teneur équilibrée en nutriments de base (glucides, lipides et protides). C'est aussi l'un des rares à convenir aux différentes tranches d'âge (nourrissons, enfants, adolescents, adultes, personnes âgées) qui le consomment tel quel à l'état liquide (lait frais) ou sous forme de produits dérivés (fromages, yaourts, crèmes glacées . . . etc). Avec une valeur énergétique de l'ordre de 700Kcal/l, le lait de plusieurs espèces animales constitue une source importante et relativement bon marché d'apport quotidien en acides aminés et en acides gras essentiels ainsi qu'en calcium alimentaire. Le lait est aussi riche en d'autres sels minéraux (notamment phosphore et magnésium) et en vitamines du groupe B (B1, B2, B5 et B12) et en vitamine A.

Pour répondre à ces besoins, le lait bovin est le plus utilisé dans le monde et dans notre pays. Les espèces voisines (ovin, caprin, camelin) représentent un pourcentage de production relativement faibles, n'excédant pas 10%.

2-1-1 Problématique du lait en Algérie :

Considéré à juste titre comme un produit de base dans le modèle de consommation algérien, le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire de la population. Les besoins sont estimés à 3,2 milliard de litres et une consommation moyenne de l'ordre de 100 à 110 L/habitant/an. La production nationale, estimée à 1,6 milliard de litres par an, ne couvre que 40 % des besoins (**Yakhlef et al., 2010**). Le reste est importé sous forme de poudre de lait et de matière grasse laitière anhydre (MGLA) auxquels il faut rajouter d'autres ingrédients de fabrication (levains, enzymes coagulantes, arômes... etc).

Ce déficit fait en sorte que les structures des unités de transformation étatiques et privées fonctionnent en majeure partie grâce au traitement du lait recombinaison à partir de poudre de lait et de MGLA importées. Néanmoins, ces dernières années des tonnages sans cesse croissants en lait collecté à travers plusieurs fermes d'élevages nationales sont utilisés et mélangés au lait recombinaison (à différentes proportions) dans les fromageries et les yaourtières.

En dehors du souci de combler le déficit et répondre aux besoins de la population algérienne, le lait frais de collecte est de nature à améliorer sensiblement la qualité organoleptiques des produits fabriqués, étant entendu que la multiplication des traitements technologiques opérés généralement pour l'obtention de la poudre, pour sa reconstitution et pour la stabilisation de son état physico-chimique et hygiénique engendrent inéluctablement des effets néfastes sur la qualité finale du produit obtenu.

Comme ce dernier volet est intimement lié à l'objet de cette présente étude, nous donnerons ci-après quelques caractéristiques sur la poudre de lait et ses implications sur la qualité des produits.

2-1-2 La poudre de lait :

Constitué essentiellement de matière sèche du lait et d'une très faible quantité d'eau (de 2 à 5%), la poudre de lait a l'avantage de pouvoir se stocker et se transporter aisément pour être utilisée via la recombinaison comme matière première pour la production de fromages, de laits fermentés, de crèmes glacées ...etc.

Les poudres commercialisées sont en réalité de trois types, classées selon l'intensité du traitement de déshydratation (le degré de dénaturation qu'il génère) opéré : poudre « lowheat », « medium heat » et « high - heat ». Le degré de dénaturation est exprimé par l'indice d'azote protéique (IAP ou WPNI en anglais) en milligrammes de protéines sériques non dénaturées (psnd) par gramme de poudre considérée.

Les poudres ayant été préparées avec un traitement thermique bas (lowheat, WPNI égal ou supérieur à 6) contiennent une faible quantité de protéines dénaturées et sont utilisées dans des produits où les propriétés de solubilité, de gélification et d'émulsion sont recherchées. Il s'agit des poudres de meilleure qualité convenant aussi bien à la préparation du lait de consommation que celui destiné à la fromagerie ainsi qu'à la fortification du yaourt **(Nozinck, 1982 ; Modler, 1985)**.

Les poudres type « médium heat » (WPNI compris entre 1,5 et 5,9) possèdent une bonne capacité d'hydratation et d'activité de surface. Elles sont utilisées notamment dans les fabrications de crèmes glacées, desserts congelées...etc.

Enfin, les poudres « highheat » (WPNI inférieur à 1,5) sont hautement dénaturées et peu solubles. Ce type de poudre trouve une utilisation dans les produits structurés (boulangerie, biscuiterie, et confiserie) **(Modler, 1985 ; Campbell et Pavlasek, 1987)**.

En plus de l'intensité du traitement thermique suivi, il y a lieu de signaler que la

qualité de la poudre du lait peut varier aussi selon le type de séchage subi qui peut être fait sur cylindres (procédé Hatmaker) ou par atomisation. Le chauffage brutal qui se produit dans le premier cas entraîne des modifications de la structure physico-chimique du produit conduisant à une faible solubilité et générant un goût de cuit et des réactions de brunissement. Il est admis que la poudre préparée par atomisation (procédé Spray) présente de meilleures caractéristiques et aptitudes technologiques (**Anonyme, 1995**).

2-2 Les bactéries caractéristiques du yaourt :

2-2-1 Caractéristiques générales des bactéries du yaourt :

2-2-1-1. *Streptococcus thermophilus* :

St. thermophilus est une bactérie cocci Gram positive, aéro-anaérobie facultative, non mobile. On le trouve 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, thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (**Dellaglio 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 homo-fermentaire (**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. Augmente aussi la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhanmose, arabinose et de marmose) (**Bergamaier, 2002**).

2-2-1-2 *Lactobacillus bulgaricus* :

Lb. Bulgaricus est un bacille Gram positif, immobile, asporulé, microaérophile. Il est isolé 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-Teyssset *et al.*, 2000).

Ces deux bactéries lactiques tolèrent de petites quantités d'oxygène. Ceci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 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 d'hydrogène, elles sont dites micro-aérophiles (Doleyres, 2003).

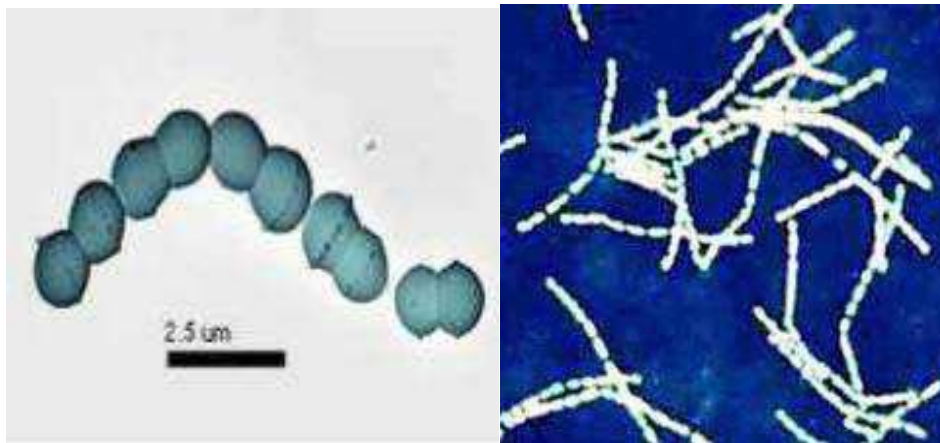


Figure 1. Aspect microscopique des bactéries lactiques du yaourt

2-2-2 Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt

2-2-2-1 Production d'acide lactique :

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

L'acidité du yaourt est communément exprimée en degré Dornic ($1^{\circ}D = 0,1 \text{ g/l}$ d'acide lactique). Elle se situe entre 100 et 130 °D (Loones, 1994).

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

- 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 (Leory *et al.*,

2002).

2-2-2-2 Activité protéolytique :

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

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

St. thermophilus est considérée comme ayant une faible activité endopeptidasique. Elle dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique en acides aminés libres.

2-2-2-3 Activité aromatique :

Divers composés volatiles et aromatiques interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt. C'est principalement le lactose qui intervient dans la formation de ces composés dans une fermentation de type hétéro-fermentaire. Parmi ceux-ci, l'acide lactique confère au yaourt son goût acidulé. 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). Il peut aussi résulter de la Thréonine par l'action de la Thréonine-aldolase.

Le diacétyl contribue à donner un goût délicat qui est dû à la transformation de l'acide citrique, et secondairement, du lactose par certaines souches de streptocoques. D'autres composés (acétone, acétoïne, ...etc.) contribuent à l'équilibre et à la finesse de la saveur. Ceci résulte d'un choix avisé des souches, de leur capacité à produire dans un juste rapport les composés aromatiques et du maintien de ce rapport au cours de la conservation des levains et de la fabrication (**Anonyme, 1995**).

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

2-2-2-4 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 du yaourt est en général attribuée à la production d'exopolysaccharide (EPS) qui, selon une étude portant sur plusieurs souches serait essentiellement composée de rhamnose, arabinose et marmose (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.

2-2-3 Comportement associatif des deux souches :

St. thermophilus et *Lb. bulgaricus* se développent en association (appelée protocoopération) dans des cultures mixtes (figure 2) ayant un intérêt à la fois d'ordre technologique et nutritionnel.

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

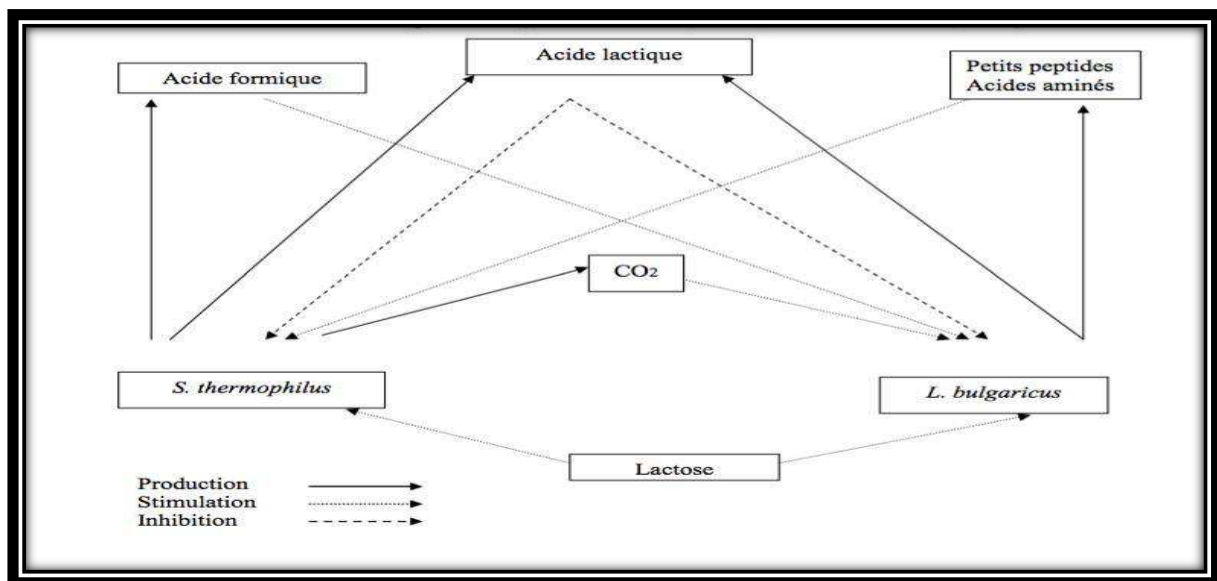


Figure 2. Interactions de *Sreptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* en culture mixte dans le lait (Mahaut *et al.*, 2000)

3 Les différents types de yaourt :

En technologie, trois types de yaourts, différents selon la consistance ou non du gel formé peuvent être fabriqués : yaourts liquides (ou à boire), brassés ou fermes.

Le yaourt « à boire » ou liquide est battu après avoir été brassé puis conditionné et stocké au froid. Le yaourt « brassé » est préparé en vrac. Le caillé subit un brassage puis un refroidissement avant d'être conditionné en pots qui seront stockés au froid. Le yaourt « ferme » est conditionné en pots après mélange des ingrédients, passage à l'étuvage à 45°C puis en chambre froide pour arrêter l'acidification.

4 Technologie du yaourt :

La fabrication du yaourt, même si elle est connue depuis des temps très lointains, demeure un procédé assez complexe et en perpétuelle évolution car, il intègre à chaque fois les connaissances et les progrès réalisés dans des domaines variés tels : la biologie moléculaire et cellulaire, la chimie, la biophysique . . . etc.

Les étapes de fabrication (**figure3**) peuvent différer selon qu'on a affaire à un yaourt « étuvé » dont la fermentation se fait après conditionnement en pots et le yaourt « brassé », dont la fermentation se fait en cuve. Le coagulum obtenu dans ce dernier cas est dilacéré et brassé pour être rendu plus ou moins visqueux, puis conditionné en pots.

Globalement, nous distinguons dans le processus d'élaboration les étapes énumérées ci-dessous :

4-1 Standardisation du mélange :

La matière première utilisée (lait frais, lait recombinaé, mélange des deux) doit être de bonne qualité microbiologique, exempte d'antibiotiques ou autres inhibiteurs et parfaitement homogénéisée.

La teneur en matière grasse du yaourt est variable. Généralement, elle est ajustée de sorte que le produit entre dans l'une des catégories ci-après :

- Yaourt entier : au minimum 3 % (en poids) de matière grasse ;
- Yaourt partiellement écrémé : moins de 3 % de matière grasse ;
- Yaourt écrémé : au maximum 0,5% de matière grasse.

L'homogénéisation (à des pressions de 250 atmosphères) réduit le diamètre des globules gras et permet ainsi une meilleure dispersion de celle-ci dans le produit, limite sa remontée au cours de l'incubation et donnent une consistance plus uniforme au yaourt fabriqué (**Litim, 1984**).

La consistance et la viscosité du yaourt sont pour une grande partie sous la dépendance de la matière sèche du lait. La matière grasse confère de l'onctuosité, masque l'acidité et améliore la saveur. Les protéines améliorent la texture et masquent aussi l'acidité. Selon le code des recommandations **FAO/OMS (1975)**, la teneur minimale en matière sèche laitière non grasse doit être de 8,2 % (en poids) quelle que soit la teneur en matière grasse.

4-2 Traitement thermique :

Lorsque la préparation du lait terminée, celui-ci est soumis alors à un traitement thermique de pasteurisation (de 94 à 96°C pendant 3 à 5 minutes).

Ce traitement a pour but de:

- Détruire les micro-organismes pathogènes pouvant être présents et la plus grande partie de la flore banale. Il permet aussi la suppression éventuelle d'inhibiteurs naturels et la stimulation des bactéries par l'apparition de facteurs de croissance ;
- Provoquer un déplissement par dénaturation partielle des protéines solubles et leur fixation sur les caséines. Cet effet a pour conséquence d'augmenter les capacités de rétention d'eau du yaourt entraînant la modification des propriétés rhéologiques du coagulum acidifié. Le caillé devient plus ferme et la tendance à l'expulsion de sérum au cours du stockage est réduite. Avec ce traitement, le yaourt brassé présente une structure plus homogène et visqueuse (**Anonyme, 1995**).

Immédiatement après le traitement thermique, le lait reconstitué est refroidi à une température de 6°C puis stocké dans des tanks pour être, par la suite ensemencé.

4-3 Ensemencement :

Elle se fait à l'aide d'un levain comprenant exclusivement chacune des deux bactéries spécifiques du yaourt : *Streptococcus salivarius, subsp. thermophilus*, et *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. La culture utilisée est ensemencée à raison de 2%. Une bonne agitation est nécessaire pour rendre parfaitement homogène le mélange lait/ferment.

4-4 Réchauffage :

Le lait reconstitué ainsi ensemencé est amené à une température généralement voisine de 45 °C par passage à travers des réchauffeurs à plaques. La température optimale de développement du Streptocoque est de 42- 45°C ; celle du Lactobacille de 47 -50°C.

Selon les régions, les consommateurs préfèrent des yaourts plus ou moins acides et plus ou moins aromatiques. Les caractères recherchés dépendent des souches utilisées et de la température d'incubation. En abaissant celle-ci de 1 à 3°C (42-44°C), on favorise le développement du streptocoque et donc la production d'arôme. Si en l'augmentant légèrement (45-46 °C), on favorise le lactobacille et donc la production d'acide.

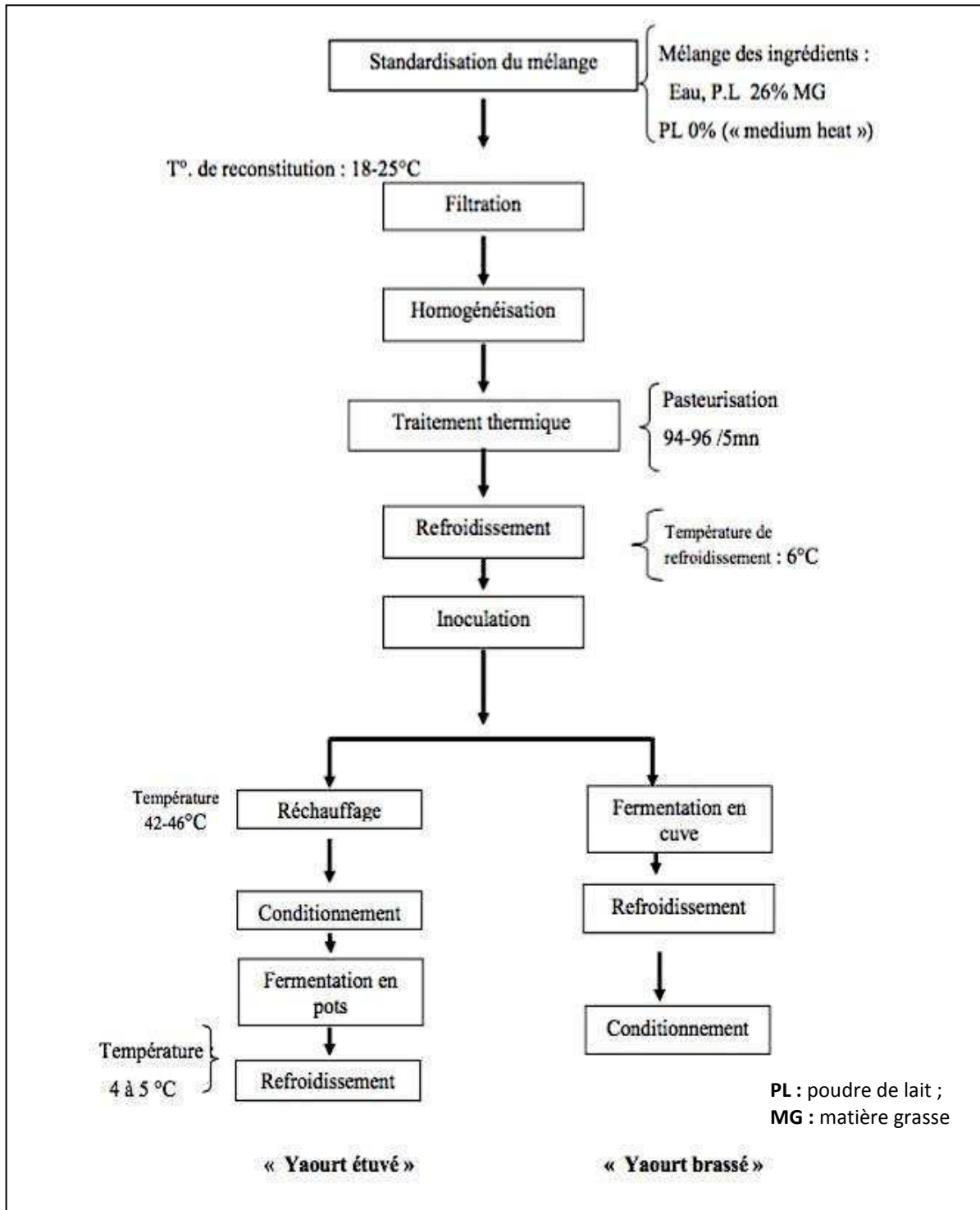


Figure 3. Diagramme des principales étapes de fabrication du yaourt.

4-5 Etuvage/ brassage :

Selon la nature du yaourt à fabriquer, on procède soit à une incubation au niveau des chambres chaudes (dans le cas du yaourt ferme) ou à une fermentation en cuve (dans le cas d'un yaourt brassé).

4-5-1 Phase d'incubation (étuvage) :

Dans le cas des yaourts étuvés (dit aussi en pot, fermes ou traditionnels), le laitensemencé est rapidement réparti en pots en plastique (poly-vinyl). Dans le cas des yaourts sucrés, aromatisés, aux fruits, à la confiture... etc., l'apport des additifs se fait avant le remplissage des pots.

Après le capsulage (fermeture étanche par une membrane en aluminium), les pots sont acheminés vers une chambre chaude pour incubation qui dure environ de 2 à 3 heures.

L'acidification dépend de la température et de la durée d'incubation. Les pots sont maintenus dans l'étuve jusqu'à l'obtention d'une acidité de 0,75 (au minimum) à 1% environ d'acide lactique, soit 75 à 100° Dornic. Le caillé obtenu dans ces conditions doit être ferme, lisse et sans exsudation de sérum.

Une fois l'acidité attendue est atteinte, les pots de yaourts sont alors immédiatement sortis des locaux d'étuvage, refroidis le plus rapidement possible à la température de +4°C, ce qui a pour but d'arrêter l'acidification par inhibition des bactéries lactiques. Les pots sont ensuite stockés à cette température pendant 12 à 24 heures pour augmenter la consistance du produit sous l'effet du froid.

4-5-2 Brassage :

En vue de fabriquer des yaourts brassés, le laitensemencé est maintenu en cuve à la même température que dans le cas des pots (entre 42 et 46 °C) jusqu'à obtention de l'acidité voulue. On procède par la suite au découpage et au brassage du caillé pour le rendre onctueux.

Ce traitement, qui doit se faire avec précaution pour ne pas induire des transformations indésirables, a pour but de rendre le caillé onctueux. Il doit être réalisé avec précaution en optant par l'un des procédés suivants :

- Agitation mécanique à l'aide d'un brasseur à turbine ou à hélice ;
- Passage du gel à travers un tamis ;

- Homogénéisation a basse pression.

Une fois ce traitement opéré, le caillé est immédiatement et rapidement refroidi à une température inférieure à 10 °C. La réfrigération dans le tank se fait trop lentement et peut provoquer une sur acidification. C'est pour cette raison qu'elle doit être réalisée par passage dans un échangeur-réfrigérant à plaques ou tubulaire. Le brassage du caillé au cours de la réfrigération améliore l'onctuosité du produit.

Le yaourt est ensuite conditionné en pots et conservé entre 2 à 4°C. L'addition éventuelle d'arômes, de pulpes de fruits, etc., se fait au moment du remplissage des pots.

Notons que le yaourt à boire se différencie du brassé par son état liquide qui l'assimile à une boisson. Sa fluidité est obtenue par une diminution de la teneur en matière sèche. Le brassage, effectué par passage à l'homogénéisateur sous pression inférieure à 50 atmosphères, donne une viscosité inférieure d'environ 50 % à celle obtenue par brassage mécanique.

4-6 Conservation des yaourts :

Préparés selon une technologie rigoureuse et dans des conditions hygiéniques strictes, ces produits peuvent se conservés environ 3 semaines jusqu'à la vente au consommateur sous réserve d'être maintenus au froid (entre 4 et 8°C).

Si le maintien des yaourts au froid empêche la multiplication bactérienne, il n'arrête pas complètement leur activité métabolique. Bien que lente, la production d'acide lactique se poursuit. De plus, des enzymes hydrolysent les protéines avec, comme conséquences, une diminution de la fermeté et de la viscosité et l'apparition de peptides a goût amer. Pour ces raisons, on procède parfois, quand la réglementation le permet, a un traitement thermique après la fermentation.

5 Qualités du yaourt :

5-1 Aspects physico-chimiques :

Le yaourt doit répondre aux caractéristiques suivantes :

- Couleur franche et uniforme ;
- Goût franc et parfum caractéristique ;
- Texture homogène (pour le yaourt brassé) et ferme (pour le yaourt étuvé).

5-2 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 sporulés 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 (Larpen et Bourgeois, 1989).

5-3 Défauts et altérations du produit :

Comme l'élaboration du yaourt fait intervenir plusieurs étapes clés où la fermentation et la formation du gel doivent être minutieusement dirigées et surveillées, il est fréquent que des altérations de goût, d'apparence et de texture (résumés dans le **Tableau 1**) apparaissent et dont certaines sont préjudiciables à la qualité finale du produit (Luquet, 1985).

Tableau 1. Principaux défauts rencontrés dans la fabrication des yaourts.

(A)

Nature	Causes
Amertume	Trop longue conservation ; Activité protéolytique trop forte des ferments ; Contamination par des germes protéolytiques.
Goût levuré, fruité, alcool	Contamination par des moisissures ; Fruits de mauvaises qualités pour les yaourts aux fruits.
Goût plat, absence d'arôme	Mauvaise activité des levains (déséquilibre de la flore, incubation trop courte ou à trop basse température), teneur en matière sèche trop faible.
Manque d'acidité	Mauvaise activité des levains (taux d'ensemencement trop faible, incubation trop courte ou à basse température, inhibiteurs dans le lait, bactériophages).
Trop d'acidité	Mauvaise conduite de la fermentation (taux d'ensemencement trop fort, incubation trop longue ou à température trop élevée ; Refroidissement pas assez poussé, trop lent ; Conservation à trop haute température.
Rancidité	Contamination par les germes lipolytiques et traitement thermique trop faible.
Goût farineux, de poudre	Poudrage trop poussé.
Goût oxydé	Mauvaise protection contre la lumière (pots en verre surtout) ; Présence de métaux (fer, cuivre)
Goût de cuit	Traitement thermique trop sévère.
Goût aigre	Mauvaise conduite des levains (contamination par une flore lactique sauvage – coliformes).
Goût gras	Teneur en matière grasse trop élevée.

(B)

Nature	Causes
Déculottage	Agitation ou vibration pendant le transport faisant suite à un refroidissement mal conduit en chambre froide (pour le yaourt ferme).
Manque de fermeté (pour yaourt étuvé)	Ensemencement trop faible ; Mauvaise incubation (temps et ou température trop faible) ; Agitation avant complète coagulation ; Matière sèche trop faible.
Trop liquide (pour le yaourt brassé)	Brassage trop violent ; Mauvaise incubation (temps trop faible) ; Matière sèche trop faible ; Mauvais ferments (pas assez épaississants) ; Fruits ou arômes pas assez concentrés.
Trop filant	Mauvais ferment (trop filant) ; Température d'incubation trop faible.
Texture sableuse	Chauffage du lait trop important ; Homogénéisation à température trop élevée ; Poudrage trop fort ; Mauvais brassage ; Acidification irrégulière et trop faible.
Texture granuleuse	Mauvais brassage ; Teneur en matière grasse trop élevée ; Mauvais choix des ferments.

(C)

Nature	Causes
Décantation, synérèse	Suracidification ou post acidification (mauvaise conduite de la fermentation) ; Température trop élevée pendant le stockage ; Conservation trop longue ; Refroidissement trop faible ; Agitation trop poussée et admission exagérée d'air (pour le yaourt brassé) ; Mauvaise adjonction des fruits ou des pulpes de fruits ; Agitation des yaourts (yaourt ferme) ; Teneur en matière sèche trop faible.
Production de gaz	Contamination par des levures et des coliformes.
Colonies en surface	Contamination par des levures et moisissures.
Couche de crème	Mauvaise ou absence d'homogénéisation.
Produit sur le couvercle	Mauvaise manutention.
Produit non homogénéisé	Mauvaise agitation (dans le cas des yaourts aux fruits).

5-4 Qualité organoleptique :

5-4-1 Gélification acide :

Les structures principales impliquées lors de la gélification acide du lait sont les micelles de caséines. Lors de la baisse du pH, due à la fermentation lactique, les micelles de caséines subissent des changements substantiels. Le déplacement de l'équilibre acido-basique entraîne une diminution progressive de la charge ionique des micelles qui devient nulle. En parallèle, une solubilisation du phosphate de calcium micellaire est observée, entraînant la dissolution de la structure micellaire. Le pH auquel commence la gélification du lait dépend de la température et des prétraitements thermiques (**Tamimeet Robinson, 1985**).

L'abaissement du pH par acidification entraîne une déminéralisation progressive des micelles de caséines. Celles-ci vont s'associer entre-elles par formation de liaisons hydrophobes, hydrogènes et électrostatiques pour former un réseau protéique retenant la phase aqueuse. A un pH inférieur au point isoélectrique (pH=4,6), les micelles qui flocculent, précipitent, du fait de leur densité, et le réseau formé se stabilise et n'évolue pratiquement plus.

Les études réalisées sur la microstructure du gel ainsi formé montrent que celle-ci dépend de plusieurs facteurs dont la concentration en matière sèche (**Schkoda et al., 1998 ; Van marle, 1998**), la méthode d'enrichissement du lait (**Tamime et al., 1984**), le traitement thermique subi (**Kessler, 1998**) et enfin, la nature des souches bactériennes utilisées et de leur capacité à synthétiser des polysaccharides exocellulaires (EPS) capables d'augmenter la viscosité du gel (**Hassan et al., 1995**).

Ainsi, les travaux de **Kessler (1998)** montrent que les micelles de caséines issues d'un yaourt fabriqué à partir de lait chauffé forment des chaînettes bien liées entre elles ; tandis qu'elles forment des agrégats dans un yaourt fabriqué à partir du lait non chauffé (**figure 4**). Cette différence est essentiellement due au comportement de la β -Lactoglobuline (protéine sérique majoritaire) qui a la propriété de former un complexe protéique avec la caséine kappa (**Dalgleish, 1990**).

5-4-2 Comportement rhéologique :

La transformation du lait en yaourt s'accompagne aussi d'un changement des

propriétés rhéologiques en passant d'un liquide à un gel à destruction non réversible.

Les additifs et les étapes du procédé de fabrication jouent également un rôle sur ce comportement (Paci kora, 2004).

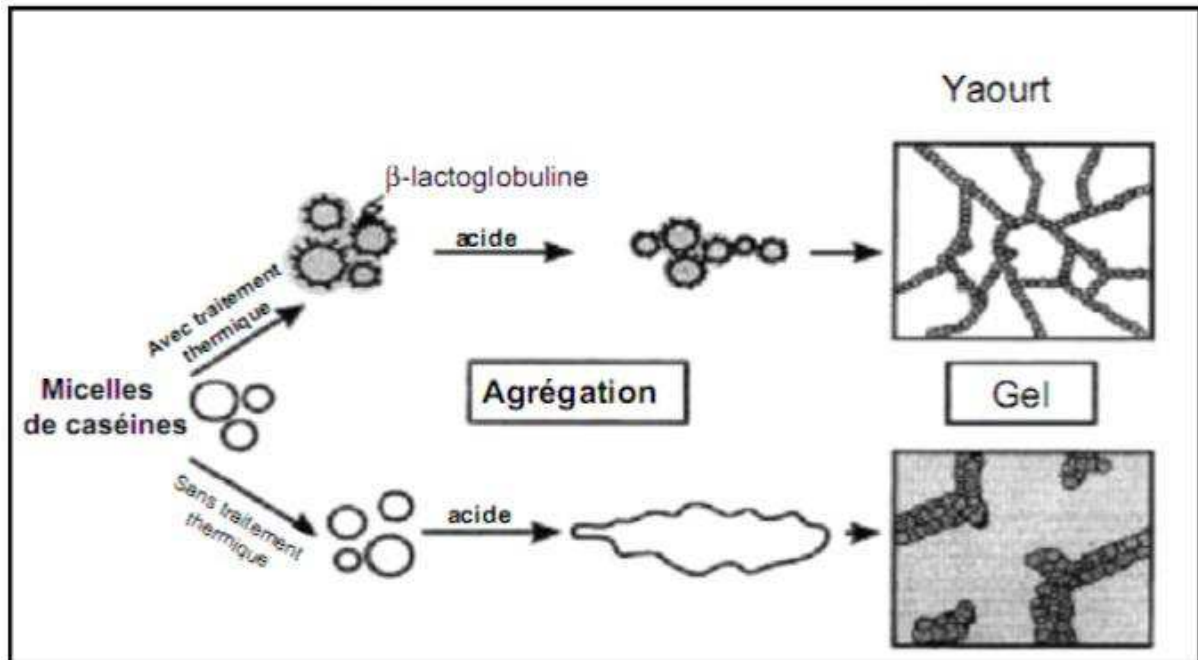


Figure 4. Effet du traitement thermique sur la microstructure du yaourt (Kessler et al., 1998)

La connaissance précise de ce comportement rhéologique est nécessaire pour la conception et le dimensionnement des installations de transformation. Elle permet également d'appréhender la texture des produits finis.

Le yaourt est défini comme un fluide viscoélastique. Il possède donc à la fois les propriétés visqueuse d'un liquide et les propriétés élastiques d'un solide. Le comportement rhéologique du yaourt est de type non newtonien, dans ce sens où la viscosité du produit dépend de la vitesse de cisaillement ou de la contrainte exercée.

La loi de Newton s'écrit :

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

μ = viscosité (Pa.s),

τ = contrainte de cisaillement (Pa),

$\dot{\gamma}$ = vitesse de cisaillement (s⁻¹).

Dans le cas des yaourts, la viscosité diminue quand la vitesse de cisaillement augmente. On parle dans ce cas de viscosité apparente à une vitesse de cisaillement donnée.

Différents appareils de laboratoire sont utilisés pour caractériser les propriétés rhéologiques, à savoir le viscosimètre Brook-field, le rhéomètre rotatif, les pénétromètres ou encore l'entonnoir de Posthumus.

Généralement, les viscosimètres permettent de mesurer uniquement les propriétés visqueuses (viscosité apparente), tandis que les rhéomètres mesurent les propriétés viscoélastiques. En fonction de la géométrie du module de mesure, des contraintes ou des vitesses de cisaillement appliquées, les analyses réalisées déstructurent plus au moins le gel lactique.

5-4-3 Propriétés et analyses sensorielles :

5-4-3-1 Propriétés organoleptiques :

L'analyse sensorielle constitue une approche indispensable à l'évaluation de la qualité organoleptique d'un produit alimentaire. Etroitement associée à la caractérisation des propriétés physico-chimiques, elle peut être un outil d'aide à la maîtrise de la qualité et la formulation des produits transformés.

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 entraîné 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 dimethylsulfure, le limonène et l'undecanal ont également un impact (**Imhof et al., 1994**). Par ailleurs, de nombreuses notes aromatiques supplémentaires peuvent être apportées au yaourt par ajout de composés d'arôme et de préparation 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'autres 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 mécaniques, géométriques 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 produit. 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 épais, nappant et « mouthfeel » qui est une sensation relative à la densité et la viscosité. Elle est faible pour les produits liquides et importante pour les produits qui replissent et restent en bouche.

5-4-3-2 Analyse descriptive quantitative :

L'analyse sensorielle met en œuvre le sujet comme « instrument de mesure ». Son but est de décrire la nature des perceptions et de quantifier leur intensité, de manière à donner une carte d'identité du produit précise, reproductible et compréhensible par tous.

Barthelemy (1998) définit l'analyse descriptive comme : «la recherche d'un nombre minimum de descripteurs qui permettront de donner le maximum d'informations sur les propriétés sensorielles du produit à analyser ; la mesure de l'intensité de la sensation perçue pour chacun des descripteurs choisis ; la construction du profil du produit à l'aide de l'ensemble des descripteurs quantifiés ».

L'application de cette méthode passe par les étapes clés de sélection du jury, de choix des descripteurs, de choix de l'échelle de notation, d'entraînement des sujets et le contrôle des performances, d'organisation des séances et la compilation des résultats.

5-4-3-2-1 Sélection du jury :

La littérature répertorie quatre critères sur lesquels doit porter la sélection (Lesschaeve, 1997) :

- Les aptitudes sensorielles : sensibilité normale, capacité discriminative, aptitude à décrire les sensations perçues, capacité à analyser des aliments complexe, aptitude à mémoriser et à reconnaître les arômes,
- La personnalité du sujet, sa motivation à participer à l'étude,
- L'état de santé du sujet, le suivi d'un régime alimentaire spécifique ou l'existence d'allergies particulières,
- Enfin la disponibilité du sujet.

5-4-3-2-2 Choix des descripteurs :

Les descripteurs doivent répondre aux critères de pertinence, précision, pouvoir discriminant, exhaustivité et éventuellement indépendance (MacLeod *et al.*, 1998). Le choix des descripteurs peut être effectué selon une des trois procédures suivantes ; une liste préétablie est imposée aux sujets, la liste est élaborée par les sujets ou une combinaison des deux procédures précédentes.

5-4-3-2-3 L'échelle de notation :

L'échelle de notation permet de quantifier l'intensité des perceptions. Les échelles d'intensité les plus souvent utilisées sont : ordinale (classement), d'intervalle, structurée en catégories numériques ou non structurées et de rapport. Les différentes expérimentations réalisées pour comparer plusieurs types d'échelle donnent des résultats contradictoires. Elles ne permettent pas d'établir, de façon évidente, la supériorité d'une échelle sur une autre (Montet, 2001).

5-4-3-2-4 L'entraînement des sujets et le contrôle des performances :

Après avoir choisi les descripteurs et l'échelle de notation, les sujets sont entraînés à leur utilisation. L'entraînement consiste à homogénéiser la valeur sémantique des termes utilisés par le jury et à déterminer les protocoles de dégustation. Il est également utile d'élaborer un lexique définissant chacun des termes employés. Des références externes concrètes représentant le descripteur peuvent être fournies aux sujets afin de les aider à créer

les concepts sensoriels associés (Murray *et al.*, 2001).

5-4-3-2-5 Organisation des séances :

Le principe de base qui régit l'environnement de toute mesure sensorielle est l'obtention de la part du sujet d'une réponse qui ne dépend que du stimulus et qui, par conséquent, ne soit pas biaisée par l'environnement (Stringler, 1998). Tous les facteurs extrinsèques au produit (température, quantité présentée, récipient, ...etc) doivent être absolument constants.

Les échantillons sont codés avec des nombres à trois chiffres pris au hasard et sont présentés aléatoirement. Ils peuvent être présentés simultanément ou de façon monadique c'est-à-dire l'un après l'autre. Dans le premier cas, l'évaluation de chaque produit est relative aux autres produits évalués. Dans le deuxième cas, le sujet note dans l'absolu en faisant appel aux références construites lors de l'entraînement.

Dans le cas d'une évaluation monadique des produits, l'ordre de leur dégustation peut induire des artefacts dans le jugement des sujets dus à des effets de rang et de report (Callier, 2001). Par exemple, il a été constaté lors de nombreuses études que le produit évalué en premier a tendance à être sur-noté par rapport aux produits évalués aux rangs suivants. L'effet de report provient du ou des produits précédant le produit évalué. Il apparaît donc très important d'équilibrer le plan de présentation des produits par rapport à ces effets. Différentes possibilités existent : ordre de présentation aléatoire, plan en carrés latins, etc... (McFie *et al.*, 1989).

Chapitre II : Les Polyphénols :

1- Généralités biochimiques :

Les composés phénoliques sont des molécules qui appartiennent au métabolisme secondaire des plantes. Les polyphénols constituent un groupe important de métabolites secondaires, environ 10.000 composés ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui. La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques la tyrosine et surtout la phénylalanine. Ces acides aminés sont formés de façon variable suivant les végétaux, (**Guignard, 2000**).

Les polyphénols sont des molécules très diversifiées, constituées d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles, Les formes les plus simples sont représentées par deux principaux groupes qui dérivent de nombreux composés : les acides hydroxy cinnamiques et les flavonoïdes, ces derniers sont des composés en C₆-C₃-C₆, qui renferment plusieurs milliers de molécules pouvant être regroupées en plus de dix classes, induisant une nomenclature complexe. Ils sont issus du para-coumaroyl CoA et de 3 molécules de malonyl-CoA qui forment l'hydroxychalcone comprenant 2 noyaux benzéniques (**Macheix et al., 2005**).

2. Localisation et rôle dans les plantes :

A niveau de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales.

Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique, où elles sont organisées en métabolons (**Winkel, 2004 ; Macheix et al., 2005**).

D'autres organites du cytoplasme, comme des vésicules golgiennes ou des chloroplastes, peuvent participer à la biosynthèse des composés phénoliques mais ce ne sont pas des lieux d'accumulation (**Macheix et al., 2005**).

Au sein même des feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme (**Tomas-Barberan et Espin, 2001 ; Cheynier et Sarni-Manchado, 2006**). Les composés phénoliques interviennent dans un grand nombre de processus physiologiques chez la plante et dans les

interactions avec leur environnement, leur structure leur conférant des fonctions très spécifiques (**Desjardin, 2008**).

Par ailleurs, les composés phénoliques peuvent avoir un rôle de signal (**Treutter, 2006**) ; des flavonoïdes permettent par exemple la mise en place de la symbiose entre des fabacées et des bactéries, ce qui permet à ces plantes de fixer directement l'azote atmosphérique. Ils participent aux phénomènes de pollinisation puisqu'ils sont responsables de la coloration des fleurs (**Macheix et al., 2005**).

De plus, les flavonoïdes ont un rôle de filtre contre le rayonnement UV, ce qui explique leur localisation dans les tissus externes (**Gould et Lister, 2006**). Enfin, les flavonoïdes comme les dérivées hydroxy cinnamiques jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux stress environnementaux (**Walton et Brown, 1999**).

3. Classification des composés phénoliques :

D'après **Harbone (1994)**, les polyphénols sont classés en fonction de leur squelette carbonée en quatre principales classes (**Tableau 1**), de même qu'ils peuvent être classés en trois groupes selon leurs répartitions :

- Les composés phénoliques largement réponsus.
- Les composés phénoliques peu réponsus (exemple : le cathécol et l'acide caféique).
- Les composés phénoliques présents dans la nature sous forme de polymères.

Tableau 2. Classification des polyphénols selon le nombre d'atomes de carbone (**Harbone, 1994**).

Nombre de carbone	Squelette de base	Classe	Exemple
6	C ₆	Phénols simples Benzoquinones	Catéchol
7	C ₆ -C ₁	Acides phénoliques	p-Hydroxybenzoïque Salicylique
8	C ₆ -C ₂	Acétophénone Phénylacétiques acides	p-hydroxyphénylacétique
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxy-cinnamique Phényle propènes coumarique Isocoumarique Chromone	Caféique, férulique Eugénol
10	C ₆ -C ₄	Nafthoguinone	Plumbagin
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthone	Mangiférine
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes ; Anthraquinones	Acide coumarique
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Ligans	Podophyllotoxine
30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoid	Amentoflavone
n	(C ₆ -C ₃) _n ; (C ₆) _n ; (C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Lignines ; Catécholmélanine Flavolans (Tanins condensés)	

3.1. Composés phénoliques largement répondus :

3.1.1 Flavonoïdes :

Comme le laisse supposer, sa dénomination historique (du latin ;*flavus* = jaune). Ce groupe est très important et très étendus et comprend des composés de couleur jaune. Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques présents dans les végétaux et plus de 4000 différents types de flavonoïdes ont été décrits (**Hollman, 1997**).

D'après **Shahidi et Naczk (1995)**, les flavonoïdes appartiennent aux groupes des phénols qui ont un squelette de base diphényle-propane (C₆-C₃-C₆). Avec différents niveaux d'oxydation au centre du cycle pyrane (**figure 5**), et la plupart des flavonoïdes se trouvent sous forme d'aglycones liés à des glucosides. Ces constituants glycosidiques sont fixés aux groupes hydroxyles du cycle A et plus fréquemment a la position 3 de l'hétérocycle (**Richter, 1993**).

Parmi les flavonoïdes présentant le plus intérêt, nous citerons :

3.1.2 Les anthocyanes :

Les anthocyanes sont des pigments, qui par suite de leur ionisation, présentent des couleurs différentes pour divers pH, de rouge orange en milieu acide au bleu mauve en milieu alcalin ; et dans certain cas forment des complexes avec les métaux (**Richter, 1993**).

Les anthocyanes se trouvent dans la plupart des espèces de plantes et plus de 200 anthocyanes différents ont été identifiés dans les plantes environ 70 dans les fruits (**figure 6**).

La plupart des anthocyanes sont des produits comme monoglycosides et diglycosides de pelargonidine, cyanidine, malvidine et peonidine (**Shahidi et Nacz, 1995**).

Les anthocyanes dérivent du phenyl-2-benzopyrylium ou flavylium et le cation pyrilium est un ion oxonium dans lequel l'atome d'oxygène tétravalent est chargé positivement ressemblants à une structure qui rappelle celle de l'azote dans les ions ammoniums et dans le cas du pyrilium ; alors que le caractère aromatique est dû à la présence de doubles liaisons conjuguées responsables de la stabilité de la molécule (**Aissani et Maata, 1998**).

Ils sont présents dans la nature sous forme hétérosidiques ou anthocyanidines, cependant le nombre d'aglycones, ou l'anthocyanidines est assez limité (**Ribereau et al., 1968**).

3.1.3 Flavones et flavonoles :

En générale les flavonoles de teinte jaune sont caractérisés par la présence d'un groupement carbonyle en position 4 et d'un groupement glucidique est le plus souvent relié en

position 7. Parmi les flavonoles les plus répandus, on trouve essentiellement le quercétol et le myricétol.

Les flavones proprement dites ont un rôle moins important que le flavonoles, et les flavones se trouvent dans les plantes sous forme O-glucoside. La seule différence entre les flavones et les flavonoles est la présence de groupe hydroxyle en C₃ dans les flavonoles qui peut être considéré comme trois hydroxy flavonole (**Hertog et al., 1992**).

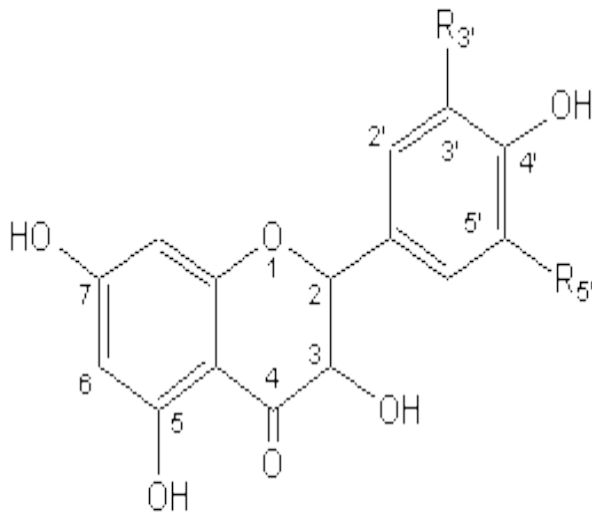


Figure 5. Structure de base des flavonoïdes

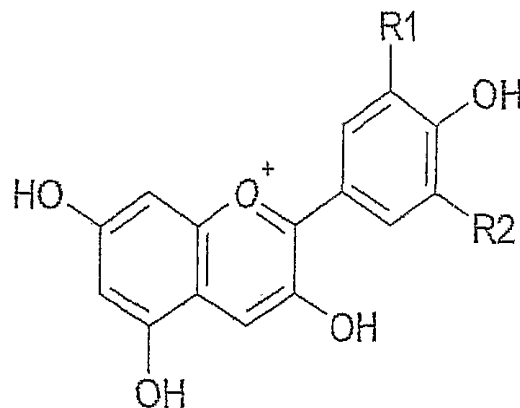


Figure 6. Structure de base des anthocyanes

4 Intérêts des composés phénoliques :

4-1 Rôle nutritionnel et thérapeutique :

Les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait, sont des éléments qui font partie de l'alimentation animale. A titre d'exemple, l'homme consomme jusqu'à 10g de ces composés par jour. Ces substances sont dotées de certaines activités résumées dans le tableau (**Tableau 3**).

Tableau 3. Activités biologiques des composés phénoliques (**Bahorun, 1997**).

Polyphénols	Activités
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et Antioœdémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Antiinflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Antiinflammatoires
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydantes

Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur d'implication des polyphénols dans la prévention des maladies dégénératives telles que les cancers, les maladies cardio-vasculaires, ostéoporoses et/ou les maladies inflammatoires (**Rock, 2003**).

4.2 Rôle physiologique :

Des travaux très anciens ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaires, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation.

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles, ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques de feuilles, ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV (**Alibert et al., 1977**).

4.3 Rôle technologique :

Généralement, les polyphénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur en polyphénols (**Lugasi et al., 2003**).

5. Mode d'action des polyphénols :

L'action des polyphénols sur les cellules des microorganismes est basée sur une multiplicité d'influences individuelles. Celles-ci n'incluent pas seulement un mécanisme physique et physico-chimique mais aussi une réaction biochimique.

Globalement, l'action antimicrobienne peut être expliquée par les étapes suivantes :

- Influence sur les parois cellulaires,
- Influence sur l'ADN,
- Influence sur synthèse des protéines,
- Influence sur l'activité des enzymes.

Les polyphénols considérés comme des substances lipophiles agissent sur la cellule en perforant la membrane cellulaire. Cette perforation augmente le flux des protons vers l'intérieur de la cellule ce qui accroît le besoin en énergie (**Luck et al., 1995**).

Les différences dans le contenu des lipides de la paroi cellulaire expliquent la différence du degré de l'activité inhibitrice entre les bactéries gram négatif et gram positif ou ce degré est plus élevé.

Les dérivés de l'acide benzoïque sont les plus efficaces principalement contre les levures et moisissures.

L'activité antimicrobienne exige une certaine solubilité dans l'eau et dans les lipides. La croissance des microorganismes n'est pas possible que dans une phase aqueuse uniquement et la substance antimicrobienne doit être hydrosoluble afin de traverser la paroi de la cellule.

Chapitre III : Généralité sur les espèces de la Menthe poivrée

1. Généralités :

La phytothérapie est, au sens étymologique, « la thérapeutique par des plantes » ; elle utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes en excluant les principes actifs purs issus de celles-ci. Elle correspond au traitement des pathologies bénignes par les plantes médicinales. C'est une thérapeutique familiale, de conseil et d'automédications à visée symptomatique, parfois préventive. Les plantes sont consommées en l'état (tisane) ou après transformation (poudre, extrait, teintures et souvent dans des médicaments à base de plantes).

La phytothérapie peut constituer une thérapie alternative à la médication moderne et doit autant que possible tenir compte des critères modernes d'évaluation

2. Définition :

Les plantes médicinales sont définies dans la pharmacopée comme des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Plus précisément, une partie de la plante entière est explicitement désignée comme pouvant être utilisée en thérapeutique et est appelée « drogue végétale » ; peut aussi être un exsudant de plantes ou un champignon.

Les plantes médicinales sont dénommées de manière précise afin d'éviter les confusions on les désigne par leur nom français et par le nom scientifique complet (nom latin du genre, de l'espèce, suivis de l'abréviation du nom du botaniste descripteur, complétés si nécessaire par le nom de la variété ou du chimio type).

Cette nomenclature est employée dans ce chapitre, les termes « sp » ; « spp » ; « ssp » signifiant respectivement : espèce indéterminée d'un genre, plusieurs espèces d'un genre, sous espèce.

On remarquera que certaines plantes médicinales ont des emplois alimentaires ou condimentaires. Certains produits de phytothérapie ont ainsi un statut de complément alimentaire, et doivent être distingués des produits pharmaceutiques. Ce fait revêt des implications pratiques, notamment en termes d'emploi de qualité (Jean *et al.*, 2013).

3. Avantages de la phytothérapie :

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages, n'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cents dernières

années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'ils s'agissent de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuse tels que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résiste de plus en plus (Iserin et al., 2001). La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, et souvent associés au traitement classique. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (Iserin et al., 2001).

4. Les Menthes :

Réputées pour leurs saveurs affirmées, les menthes sont utilisées en cuisine, pour préparer des infusions ou comme plante médicinale. Le genre *Mentha* fédère comporte environ 25 espèces, mais au moins 2000 variétés, obtenus ayant à la faveur d'hybridation, sont connues (Delachaux et Niéslés, 2013).

4.1. Origines historiques :

« Menthe » est la francisation du latin *mentha* qui désigne « mentha » chez les romains et « mentha ou minthé » chez les grecs (François, 2012).

Le nom grec de la plante signifie « dont l'odeur est douce » (Delachaux et Niéslés, 2013).

Toutes les menthes sont odorantes et peuvent être employées comme les menthes des champs ; mais la puissance et la qualité de leurs parfums varie d'une espèce à l'autre. Selon, Eberhard et al (2005) différentes espèces sont employées pour leurs propriétés aromatiques :

- Mentha piperita* L. nm *piperita* ; la menthe poivrée
- Mentha spicata* L. emend L. var *crispa* BENTH ; la menthe criquée
- Mentha pulegium* L.; la menthe pouliot
- Mentha citrate* EHRH.; la menthe bergamote
- *Mentha suaveolens* EHRH. ; la menthe à feuille ronde.

4.2. La menthe poivrée :

Il est distingué deux espèces de Menthe poivrée :

- Menthe *piperita folium*, dont les feuilles renferment au minimum 12 ml / kg des huiles essentielles.

-Menthe *piperita aetberoleum*, dont les huiles essentielles de menthe poivrée, renfermes 33 à 55 % de menthol, 13 à 32 % de menthone , 2,8 à 10% d'acetate de menthyl , 3,4 à 14% de cinéole , 1 à 9% de menthofurane , 1 à 5% de limonène et 1,5 à 10% d'isomenthone.

4.2.1. Classification :

Mentha x piperita L. est un hybride stérile issu du croisement entre la menthe aquatique (*M. aquatica L.*) et la menthe verte (*M. spicata L.*).

Selon leur habitat, on différencie :

- Mentha x piperita L. var piperita f. rubescens* (ou *piperita*), menthe poivrée foncée « black mint » ; originaire de Mitcham ; aux environs de Londres et de loin la plus estimée ;
- *Mentha x piperita L. var ; piperita f. palescens* ; menthe poivrée vert clair (White mint) (François,2012).

La Menthe poivrée peut être classée comme suit :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae / Labiales (Lamiacées)

Genre : *Mentha*

Espèce : *Mentha x piperita L. nm Piperita*

Autre nom : Mitcham, menthe anglaise, Peppermint et en Algérie

Synonyme : *Mentha x piperita L. Var vulgaris SOLE.*

4.3. Caractéristiques :

4.3.1. Description :

Plante vivace par son rhizome vigoureux formant de longs stolons traçants ; les uns aériens ; les autres souterrains. Les tiges pouvant atteindre 90cm d'hauteur, sont noueuses, quadrangulaires, souvent striées de violet foncé. Certaines portent à leur partie supérieure des poils dressés en arrière, d'autres sont glabres. Des pousses latérales prennent naissance dans l'axe des feuilles.

Les feuilles sont opposées, écartées presque sur un plan horizontal, toujours pétiolées. Leur limbe est allongé a ovale ou lancéolé de trois à neuf centimètre de long, poilu ou non, au bord denté en scie ou crénelé.Elle dégage par un frottement une forte odeur aromatique.

Les fleurs sont regroupées en épis terminaux, allongée et cylindrique, très danses, généralement interrompus a la base, elle comporte un calice gamosépales, faiblement velu, termine par 5 dents lancéolé acuminées non concaves. Le tube du calise est parcouru longitudinalement par 5 ou 13 nervures principales, une corole en forme d'entonnoir presque régulier formé de quatre lobes de couleur rouge pale a rose-violet, quatre étamines saillante de taille identique, écarté l'une de l'autre et dépassant de la corole, un ovaire super formé de 2 loges biovulées

Les fruits sont des tetrakéne avoide et arrondi au sommet, renfermant 4 graine d'environ 2 mm de long et de couleur brun marron, la plupart des graines avorte car les cultivars sont généralement stériles. La floraison a lieu de juillet à septembre **(Francois,2012)**.

4.3.2. Pays d'origine :

Il s'agit d'un hybride cultivé, provenant probablement d'Angleterre et des pays méditerranéens **(Francois,2012)**.

4.3.3. Principaux pays producteurs :

Les principaux pays producteurs de la Menthe poivrée sont : les états unis, l'inde l'Europe (en France à Milly et dans le Maine et Loire) le Canada, le Chili, l'Argentine, le Brésil, l'Australie, le Japon et certains pays d'Afrique (Kenya, Tanzanie et Maroc).

4.3.4. Culture :

La menthe poivrée n'est pas très exigeante pour la qualité du sol. Des plans a fortes teneurs en huiles essentielles et de bonnes qualités aromatiques peuvent être obtenus sur des sols sablonneux argileux, pas trop sec mais riches en humus, situés dans des endroits ensoleillés et protégés du vent.

La plante ne doit pas être cultivée après d'autre lamiacées (prévoir une interruption de culture au bout de 4 à 5 ans).

La multiplication se fait uniquement par voie végétative ; par division des souches ou des dragons, ces derniers sont récolés naturellement à l'automne, découpés en fragments longs de 15 à20 cm, placés dans un sillon profond de 10cm puis recouverts de terre et

humidifiés. On peut également déterrer les souches à l'automne ou au printemps, les divisées puis les replantées dans le jardin, il faut éviter que les stolons l'envahissent trop le terrain en cultivant les plants dans les pots sans fond, enfouis en terre en minimum à 30cm de profondeur.

Les plants sont généralement utilisés durant 1 à 3 ans, puis ils dégénèrent (auto-incompatibilité).

4.3.5. Récolte :

La récolte s'effectue avant la floraison (de juin au juillet) manuellement dans les cas des cultures à petites échelles et mécaniquement en cas de culture industrielle.

Une deuxième coupe, voir éventuellement une troisième, sont possible au plus tard à la fin septembre. Le produit de la récolte est grossièrement hachée, puis les feuilles sont séparées des tiges par ventilation ou tamisage, dans les cultures à échelle familiales, les feuilles et les tiges feuillées portant 3 paires de feuilles supérieures sont cueillies manuellement, elles sont séchées à des températures maximales de 42°C dans des tunnels de séchage et pour une consommation personnelle, les feuilles fraîches sont récoltées juste avant leur emploi.

4.4. Conservation :

Les feuilles fraîches peuvent être conservées quelques jours dans les sacs en plastique aux réfrigérateurs ou être congelées dans des bacs à glaçons, les feuilles séchées se stockent au frais, dans des récipients hermétiques (en porcelaine, en verre ou en métal) qui les protègent de l'humidité et de la lumière (Eberhard *et al*, 2005).

4.5. Composition :

4.5.1. Constituants principaux de la plante :

Les huiles essentielles : 0,5 % à 6% surtout riche en menthol (-)-1R, 3R, 4S-menthol : 15 à 76% acétate de menthyle (2 à 5% voir jusqu'à 23% selon la provenance), 1,8-cinéole (3 à 8%), menthofurane (0 à 7%), isomenthon (2 à 13%), noémenthol (2,5 à 5%) limonène (2 à 10%), pulégone (0,5 à 1,5%) β -caryophyllène (0,5 à 1,5%) et germacrène D (1 à 2%). Ces constituants majoritaires sont accompagnés d'hydrate de trans-sabinène, de pipériténone, α et β pinènes et de veridifolrol, dans les distillats les alcools terpéniques et aliphatiques existent sous forme d'hétérosides ; glycosides de menthol, disomenthol de néomenthol de linalol d'oct-1-en-3-ol et d'octan-3-ol.

- **Dérivés d'acide hydroxycinnamiques** : (appelé « tanins » des lamiacées) 3,5 à 6% de rosemarinique (= 3%)
- **Flavonoïdes** : jusqu'à 10% : hétéroside d'apégénine, diosmétine, lutéoline , éridictiol, notamment l'ériocitrine (éridictiol -7rutinosite , des flavone polyméthoxilé comme le xanthanmicrol les gardénines D et B et 5-O- déméthyle-nobilétine.
- **Triterpènes** : acide ursolique (0,1%) (**François,2012**).

4.5.2 Dosage :

La teneur en huiles essentielles est mesurée par le calcul du rendement de l'extraction après une hydrodisillation par entraînement à la vapeur.

La méthode universelle pour la détermination de la composition chimique des huiles essentielles est la chromatographie en phase gaz (CPG) (**François ,2012**).

5. Propriétés et emplois :

5.1. Propriétés :

La saveur aromatique de la menthe poivrée provoque une stimulation réflexe des sécrétions salivaire, gastrique et biliaire d'où ces propriétés apéritives et digestives.

Des extraits hydro-alcooliques et les huiles essentielles inhibent les spasmes induits par l'acétylcholine, l'histamine la sérotonine et la substance P, de façon similaire à l'atropine (modèle d'intestin isolé de cobaye) (**Eberhard et al., 2005**).

5.2. Toxicologie :

Au dose usuelles, la consommation des parties aérienne de la menthe poivrée comme condiment ou en tisane, ne présente aucun risque de toxicité ni aigue ni chronique. Cependant, de très forte dose des huiles essentielles peuvent conduire à des céphalées des aigreurs d'estomac, de la bradycardie, des tremblements musculaires de l'ataxie. Le potentiel de sensibilisation de la menthe poivrée est faible, mais des réactions allergiques ont parfois été observées après absorption des huiles essentielles. Le menthol et le thymol sont considérés comme allergènes (**Eberhard et al., 2005**).

5.3. Emploi comme épice :

La menthe poivrée peut servir à aromatiser les salades de fruits, les potages froids, les yaourts et les produits laitiers, il est d'excellent condiment que ce soit tel quelle, crus, hachée

dans des salades ou dans divers plats ou bien sous forme de sauce à la menthe (François 2009). Les huiles essentielles de menthe poivrée est employé en confiserie, bonbon à la menthe, chewing-gums et d'autres sucreries (Eberhard et al., 2005).

5.4 Autres emplois :

Les huiles essentielles de menthe est employées à grande échelle en cosmétique : dentifrice, bain de bouche produit après rasage, lotion corporelle ...etc.

6- Usages :

6.1 Usages internes :

La menthe poivrée utilisé sous formes d'infusion ou d'extrait, en cas de trouble gastro intestinaux et biliaire. Il est aussi utilisé en cas de nausée et de vomissement et de refroidissement de dysménorrhée ainsi que comme sédatif.

Les huiles essentielles sont employées en cas de crampes du tractus gastro intestinal supérieur et des voies biliaires, dans le cas d'un côlon irritable (irritation intestinale) , d'infections des voies respiratoires supérieurs et d'inflammation de la muqueuse buccales (Eberhard et al., 2005).

6.2. Usage externe :

L'huile essentielle de menthe poivrée peut être utilisée pour traiter des douleurs musculaires, les névralgies, les maux de têtes l'inflammation des voies respiratoires supérieurs et le rhume. La peau peut être massée avec quelques gouttes des huiles essentielles non diluées sous forme de préparation semi pâteuse ou huileuse (dosé a 5%) des pommades nasales (2 à 5%) de solutions hydro alcooliques (5 à 10%) ou d'inhalation (3 à 4%) dans de l'eau bouillante.

Les préparations contenant du menthol ne doivent pas être étalées sur le visage des nourissants et des jeunes enfants (Eberhard et al., 2005).

1. Objectifs :

Ce travail expérimental consiste à suivre l'effet des extraits de polyphénols d'une variété de plante médicinale très largement consommée par la population Algérienne à savoir la Menthe (*Mehtha piperita*) sur la qualité physicochimique, microbiologique et organoleptique d'un lait fermenté type yaourt étuvé en fin de la période de fermentation au premier jour de fabrication.

L'idée visée à concrétiser est tout d'abord de suivre les effets antimicrobiens des extraits phénoliques de *Mehtha piperita* vis-à-vis de deux germes spécifiques du yaourt dont *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* et ce en vue de déterminer la concentration minimale permettant de les détruire en totalité.

D'essayer, ensuite, de concevoir un lait fermenté type yaourt étuvé enrichi d'extrait de polyphénols ou aliment santé (alicament) ayant des vertus thérapeutiques particulières afin de suivre sa stabilité durant sa conservation au froid à 4 °C.

2. Matériel végétal :

L'étude a été menée chez une espèce végétale de Menthe poivrée (*Mehtha piperita*) disponible dans la région de Mostaganem. La plante objet de l'étude (1800 g environ) a été achetée du marché de Mostaganem le 05/05/2016.

La matière végétale est ensuite étalée sur du papier aluminium, puis séchée à l'étuve réglée à 25°C pendant 24 à 48 heures. Les échantillons séchés sont enfin broyés dans un broyeur à lame de cuisine puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité.

3. Extraction des polyphénols

La partie aérienne de l'espèce *Mehtha piperita* a servi comme matière première pour l'extraction des substances polyphénoliques. Pour l'extraction des polyphénols on a opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par **Owen et Johns(1999)**. Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

A une prise de 100 g de matière végétale, séchée et broyée est additionnée une solution d'éthanol à 80% (03 X 100ml, 80/20, éthanol/eau, v/v), le mélange est laissé durant 20 minutes à 1 heure à 4°C, puis filtré sur papier filtre Watman N°4.

L'éthanol de la solution hydro alcoolique du filtrat est évaporé sous vide et la solution obtenue est mise enfin dans un tube en verre entouré d'un papier cellophane pour empêcher l'oxydation des phénols.

Le broyage de la plante permet d'augmenter la surface de contact solvant-échantillon, une meilleure filtration du solvant au sein du matériel végétal ce qui a pour conséquence une augmentation de l'extraction (solide-liquide). Plusieurs agitations du mélange solvant matière végétale entreposé au froid ce qui permet une meilleure extraction des polyphénols.

4. Préparation des solutions d'extraits de polyphénols

A partir de l'extrait pur de polyphénols obtenu comme préalablement des solutions diluées à l'eau distillée à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% ont été préparées ; ils représentent les solutions de travail à base de polyphénols de Menthe (*Mehtha piperita*).

5. Etude des effets antimicrobiens des extraits phénoliques de la Menthe

5.1 Activation des souches microbiennes expérimentales :

L'étude a concerné les deux souches spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (tableau n°). Chaque espèce lactique est tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale. Une prise de 0.25 g de la souche lyophilisée est préalablement ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 03 heures. 0,1 ml de cette dernière solution est pris pour être ensemencé en surface d'un milieu gélosé en boîte petri spécifique (MRS ou M17) puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

5.2 Méthode de contact direct :

Une colonie de la culture jeune de chaque espèce de microorganisme activée sur milieu solide gélosé spécifique est prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, chacune est ensuite ensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de ces dernières solutions dont chacune constitue une solution mère d'une espèce de bactérie lactique donnée, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique ont été effectuées ; allant à 10^{-5} pour respectivement les *Streptococcus thermophilus* et les *Lactobacillus bulgaricus*. Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale sont ensuite individuellement ajoutés à 09 ml d'une solution d'eau distillée stérile (témoin) et à 9 ml de chaque solution d'extrait de composés phénoliques de l'espèce végétale de menthe préparées par dilution à l'eau distillée, respectivement, à 0, 20, 40, 60, 80 et 100% (Solutions de travail).

Les mélanges des solutions sont enfin ensemencés en triple essais (03 boîtes de Pétri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu spécifique de croissance pour chaque espèce microbienne. La lecture du nombre de colonies développées est effectuée après incubation des milieux ensemencés à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

5.3 Méthode des disques par diffusion sur gélose :

Les disques sont confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n° 3), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques sont stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.

Une colonie de chaque espèce lactique est prélevée du milieu gélosé spécifique après activation est ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif ; ce mélange constitue la solution mère. Des prises de volume de 1ml de cette dernière solution sont étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Pétri contenant le milieu MRS ou M17 selon l'espèce microbienne étudiée. Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque solution d'extraits phénoliques expérimentale, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont l'Augmentin, sont ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Pétri contenant le milieu gélosé spécifique ensemencé au germe lactique donné.

La lecture des diamètres d'inhibition est effectuée après incubation des boîtes à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures à l'aide d'un pied à colis.

5.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice : CMI

La concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration en antibiotique, en antifongique et/ou en principes composés actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme (**Olivier, 2007**).

Dans le cas de notre étude, c'est les extraits phénoliques de la matière végétale de la menthe qui sont utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice des espèces de germe spécifiques du yaourt (*Streptococcus thermophilus* ou *Lactobacillus bulgaricus*). Ainsi, une colonie jeune de *Streptococcus thermophilus* ou de *Lactobacillus bulgaricus* est prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir l'inoculum. Des prises de 0,2 ml de l'inoculum sont introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait de Menthe dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

Le mélange des tubes contenant les extraits phénoliques de *la Menthe* préparés à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum de bactérie lactique sont ensuite incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures (**Moroh et al., 2008**).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI est effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du microorganisme étudié. La CMI correspondra donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité. Par conséquent c'est le premier tube où la valeur d_i est égale à d_f ($d_i = d_f$).

Le taux de survie du microorganisme est mesuré au spectrophotomètre réglé à 560 nm comme suit :

$$S = \frac{d_f - d_i}{D_f - D_i} \times 100.$$

- S : Taux de survie du microorganisme en %.
- $d_f - d_i$: différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.
- $D_f - D_i$: différence de densité optique sans extraits de Menthe avant et après incubation à 37°C durant 18 heures (**Kra et al., 2001 ; Zrihi et al., 2007**).

5.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

La concentration minimale bactéricide d'une espèce de germe *lactique* étudié représente la plus petite concentration d'extrait phénolique de la Menthe qui laisse 0,01% au moins de survivant de l'inoculum initial après incubation (**Moroh et al., 2008**).

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle estensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum, égalementensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 18 à 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la CMB.

6. Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi de polyphénols :

6.1 Protocole expérimental

Le lait cru destiné à la fabrication des laits fermentés expérimentaux type yaourt étuvé a été récolté dans la région de Mostaganem.

Une fois prélevé, le lait a été pasteurisé à 100°C « traitement thermique » durant 2 minutes en vue de détruire tous les germes pathogènes et réduire le nombre de germes banaux jusqu'à un seuil acceptable par le Journal officiel de la République Algérienne de 10⁵germes/ml.

L'incorporation de polyphénols purs de la menthe poivrée (*Mehtha piperita*) a été effectuée ensuite dans des échantillons de lait maintenus à environ 45°C à des taux de 0 et 1 %.

Les échantillons de lait enrichis de polyphénols sont par la suiteensemencés avec les souches spécifiques du yaourt à un taux de levains de 3% et à un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* sur *Lactobacillus bulgaricus* de 2S/L.

Chaque paramètre étudié a été représenté par un nombre de répétitions de trois pots d'une capacité de 100ml ; soit un nombre total de 6 échantillons expérimentaux.

6.2 Préparation des levains :

Un litre de lait servant à la préparation du ferment a été préparé à un taux de 130g/l de poudre de lait « Candia », puis subi une pasteurisation 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 étéensemencé avec 0,5 g d'une prise de souches lactiques lyophilisées pures de *Streptococcus thermophilus*. Le second échantillon a étéensemencé avec 0,25 g de souches pures de *Lactobacillus bulgaricus*. Ces deux échantillons après ensemencement aux deux ferments spécifiques ont été mélangés ensemble dans un bécher et étuvés à 45°C pendant 1 heure.

Le levain prés a l'emploi avec un rapport de souches de 2 *Streptococcus thermophilus* pour 1 *Lactobacillus bulgaricus* (2S/1L, v/v) a étéensemencé dans les laits destinés à la fabrication des yaourts expérimentaux a un taux de 3%.

6.3 Mise en fabrication des laits fermentés expérimentaux :

Le lait utilisé dans l'étude est un lait cru de vache pasteurisé à l'ébullition durant 2 minutes.

Après refroidissement à 45°C, des prises (de 03 X 100ml) d'échantillons de lait sont ensuite additionnés d'extraits de polyphénols de *Melthia piperita* à raison de 0 et 1%, respectivement. Les échantillons sont enfinensemencés a 3% avec un levain lactique renfermant un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* de 2S/1L. Les pots des différentes préparations furent ensuite sertis par du papier aluminium et orientés à la fermentation.

La fermentation des échantillons a été réalisée dans une étuve maintenue à 45°C durant 3 à 4 heures. Au terme de la fermentation les produits expérimentaux une fois caillés furent conservés à 4°C au réfrigérateur pendant une période de 21 jours.

7. Mesures et contrôles :

Les analyses expérimentales ont été réalisées pour chaque paramètre étudié en triples essais selon la méthode normalisée dictées par **AFNOR, 1982 et 1992**.

7.1 Paramètres physicochimiques :

7.1.1 Acidité :

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

7.1.2 pH :

Le dosage du pH a été réalisé par un pH-mètre étalonné par deux solutions : l'une acide et l'autre basique (Annexe 1).

7.1.3 Viscosité :

La viscosité a été établie par l'utilisation d'un tube en verre de 2cm de diamètre et de 18cm de longueur équipé d'un chronomètre et d'une bille normalisée (Annexe 1).

7.2 Analyses microbiologiques :

- *Streptococcus thermophilus* : Le dénombrement des germes a été réalisé par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « M17 » incubé a 37°C pendant 48h (Annexe 2).
- *Lactobacillus bulgaricus* : Le dénombrement des germes a été réalisé par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « MRS » incubé a 30°C pendant 48h (Annexe 2).

7.3 Test organoleptique :

Chaque 7 jours durant toute la période de poste acidification, la qualité des yaourts expérimentaux a été réalisé 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 :

- **Gout acide** : Consiste à apprécier l'ampleur de l'acidité développée par les germes lactiques ensemencés dans les laits fermentés type yaourt au cours de l'entreposage.
- **Gout de fraîcheur** : Consiste à apprécier l'ampleur de la sensation de fraîcheur lors de la consommation du produit.
- **Cohésivité** : Consiste à déterminer la capacité maximale de déformation 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 de 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.

8. Traitement statistique :

Les résultats paramétriques vont être traités statistiquement par une analyse de variance mono factorielle en randomisation totale suivie d'une comparaison des moyennes deux a 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.

1. Résultats

1.1. Rendement d'extraction :

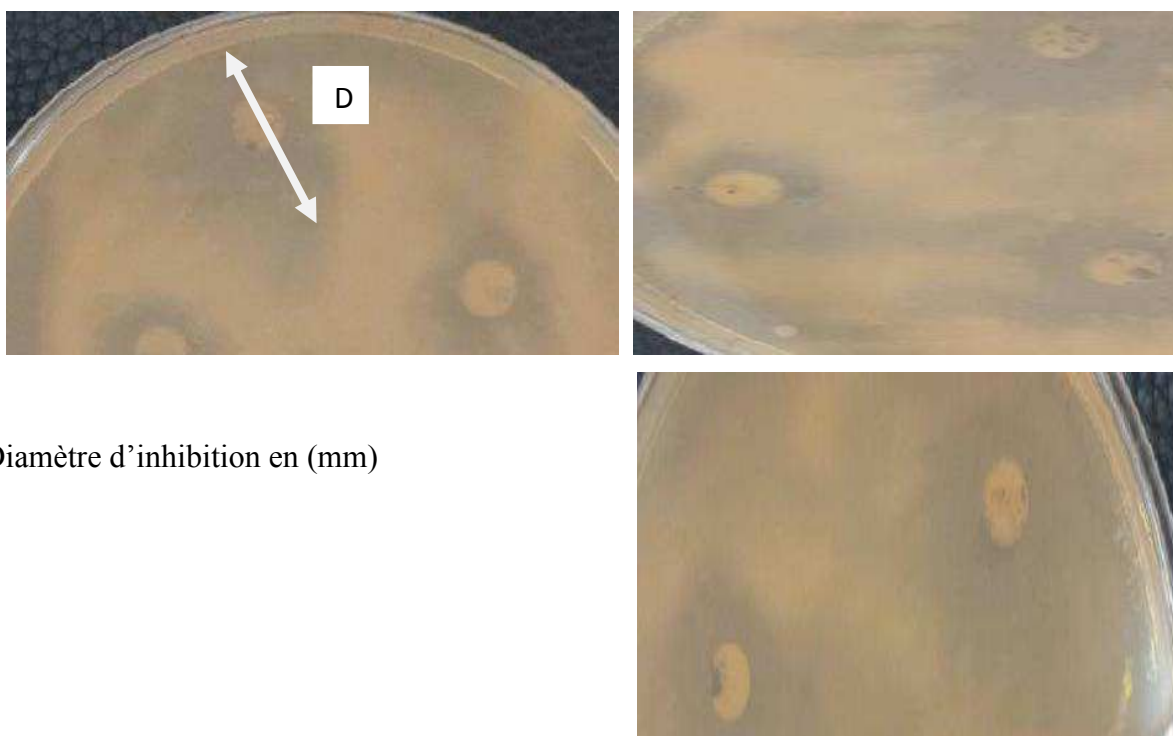
Le rendement d'extraction des polyphénols de la menthe poivrée est de 0.3%.

1.2. Effet inhibiteur des extraits phénoliques de la menthe :

1.2.1. *Streptococcus thermophilus* :

1.2.1.1. Diamètre d'inhibition :

Les effets d'inhibitions effectués par la méthode des disques montrent que le diamètre de la zone d'inhibition est d'autant plus remarquable que la solution est plus concentrée en extrait phénolique de la menthe. Le diamètre d'inhibition le plus faible est réalisé avec un taux d'extrait phénolique de la menthe dilué à 20 % (13 mm) et augmente d'une manière significative ($p < 0,01$) à (14,5; 16 ; 18 et 20 mm) dans les solutions préparées à 40, 60, 80, et 100% d'extraits phénoliques de la menthe, respectivement. L'antibiotique enregistre un diamètre d'inhibition remarquablement le plus élevé, (30 mm) (**Figure 7, Tableau 4**).



D : Diamètre d'inhibition en (mm)

Figure 7. Diamètres d'inhibition des extraits phénoliques de la menthe sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Partie 3 : Résultats et Discussion

L'analyse de variance dévoile l'effet hautement significatif du facteur étudié (concentrations des extraits phénoliques de la menthe) sur les variations des diamètres des zones d'inhibition chez l'espèce *Streptococcus thermophilus*.

Tableau 4. Variation du diamètre de la zone d'inhibition de *Streptococcus thermophilus* en fonction des différentes concentrations d'extrait brut phénolique de la menthe.

Solutions expérimentales		Diamètre d'inhibition (mm)	Effet des solutions d'extraits phénoliques de Menthe
Concentrations d'extraits phénoliques de la menthe	Pénicilline	30.00 ^a ± 01.00	**
	100%	20.00 ^b ± 01.00	
	80%	18.00 ^c ± 01.00	
	60%	16.00 ^d ± 01.00	
	40%	14.50 ^{de} ± 01.32	
	20%	13.00 ^e ± 01.00	

** : Effet hautement significatif des extraits phénoliques de la Menthe poivrée ; a,b,c : groupes homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux.

1.2.1.2. Taux d'inhibition :

Les variations des taux d'inhibitions de *Streptococcus thermophilus* sont marquées tout d'abord par un taux de 43.33% dans l'extrait de polyphénols dilué à 20%. Puis, les taux d'inhibitions sont rehaussés à des taux significativement plus élevés ($p < 0.01$), variant de (48.35, 53.41, et 60.01 %) pour les extraits polyphénoliques préparés à 40, 60 et 80 % successivement, jusqu'à atteindre le taux le plus élevé ($p < 0.01$) estimé à 66.64 % dans la solution de polyphénols mère d'extraction ; sans dilution de 100%. La pénicilline a enregistré le taux d'inhibition révérenciel le plus élevé par comparaison aux différentes solutions d'extraits de menthe poivrée ($p < 0.01$) ; 100% (Tableau 5).

Tableau 5. Variation de taux d'inhibition de *Streptococcus* en fonction des différentes concentrations d'extraits des polyphénols de la menthe.

Concentrations d'extraits phénoliques de la menthe	Taux d'inhibition (%)	Effet des solutions d'extraits phénoliques de Menthe
100%	66.64 ^b	**
80%	60.01 ^c	
60%	53.41 ^d	
40%	48.35 ^{de}	
20%	43.33 ^e	
Pénicilline	100 ^a	

** : Effet hautement significatif des extraits phénoliques de la Menthe poivrée ; a,b,c : groupes homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux.

Partie 3 : Résultats et Discussion

1.2.1.3. Taux de croissance :

Le développement du nombre de *Streptococcus thermophilus* s'avère inversement proportionnel avec l'augmentation de la concentration des extraits phénoliques de la menthe. Le nombre de ses germes a connu une nette diminution ($p < 0,01$) de 197.10^4 à 25.10^4 UFC/ml dans les solutions variables de 0 à 40% d'extrait de polyphénols. A partir d'extrait préparé à 60 % aucune prolifération du germe n'est observée (**Tableau 6**).

Tableau 6. Effet des extraits polyphénols de la menthe sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Concentrations d'extraits phénoliques de la menthe	Valeur moyenne de Croissance (UFC/ml)	Effet des solutions d'extraits phénoliques de Menthe
0%	197.10^4 ^a	**
20%	85.10^4 ^b	
40%	25.10^4 ^c	
60%	0 ^d	
80%	0 ^d	
100%	0 ^d	

** : Effet hautement significatif des extraits phénoliques de la Menthe poivrée ; a,b,c : groupes homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux.

1.2.1.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI) :

A travers la mesure de la turbidité, il apparaît que le taux de survie du germe *Streptococcus thermophilus* est nulle déjà dans la solution d'extrait de la menthe préparé à 40% et ceci après 24 heures de culture ; cette concentration est donc la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Tableau 7**).

Tableau 7. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait phénolique de la menthe sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

La souche étudiée	Densité optique	Témoin	Concentration des extraits phénoliques de menthe				
		0%	20%	40%	60%	80%	100%
<i>Streptococcus thermophilus</i>	d _i	0,08	0,10	0,09	0,11	0,13	0,097
	d _f	0,88	0,15	-0,398	-0,81	-1,204	-0,501
	d _f - d _i	0,80	0,05	-0,407	-0,92	-1,334	-0,598
	S	100	6,40	0	0	0	0
CMI	CMI= Extrait à 40%						

df : Densité optique après incubation ; di : Densité optique avant incubation ; S : pourcentage de survie ; CMI : Concentration minimale inhibitrice.

1.2.1.5. Concentration minimale bactéricide CMB :

La **Figure 8** représente d'une part (à droite) le nombre de germes développés après 24h d'incubation à 37 °C, des différentes dilutions décimales de l'inoculum de *Streptococcus thermophilus* allant de 10⁻¹, à 10⁻², à 10⁻³ et à 10⁻⁴ et d'autre part (à gauche) les différentes solutions de l'extrait phénolique de la menthe préparées à 0, 20, 40, 60, 80 et 100% ensemencés au germe et ayant servi à la détermination de la CMI après 24h.

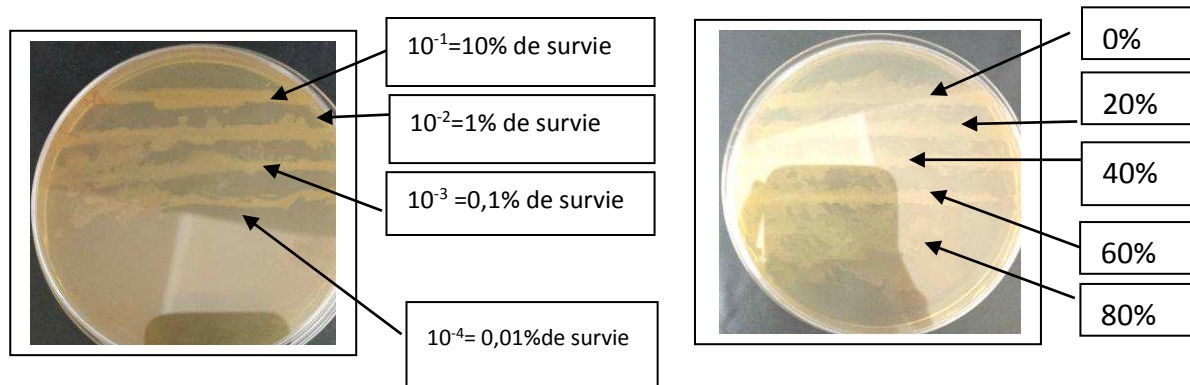


Figure 08. Détermination de la CMB des extraits phénoliques de la MENTHE POIVREE vis-à-vis de *Streptococcus thermophilus*.

Il apparaît que l'extrait à 80 % a engendré un pourcentage de survie proche de 0,01 de l'espèce microbienne expérimentale *Streptococcus thermophilus*; cette solution à base d'extrait de Menthe constitue donc la Concentration Minimale Bactéricide « CMB ».

1.2.1.6. Rapport CMB/CMI :

Il résulte enfin, à partir du rapport CMB/CMI égale à 2 que les extraits phénoliques de *Salvadorapersica* exercent un effet inhibiteur de type bactéricide sur l'espèce étudiée *Streptococcus thermophilus* (**Tableau 08**).

Tableau 08. Action inhibitrice des extraits phénoliques de Menthe sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Paramètres	CMF	CMI	CMF/CMI	Type d'inhibition microbien des extraits de <i>Menthe poivrée</i>
<i>Candida albicans</i>	80%	40%	2	
Normes	D'après (Marmonier, 1990) : CMB/CMI ≤ 4 (Effet bactéricide) CMB/CMI ≥ 4 (Effet bactériostatique)			BACTERICIDE

1.2.2. *Lactobacillus bulgaricus* :

1.2.2.1. Diamètre d'inhibition :

Les effets d'inhibitions déterminés par la méthode des disques montrent que le diamètre de la zone d'inhibition est d'autant plus remarquable que la solution est plus concentrée en extrait phénolique de la menthe. Le diamètre d'inhibition le plus faible ($p < 0.01$) est réalisé avec un taux d'extrait phénolique de la menthe de 20 et 40% ; 12,7 et 13,7 mm, respectivement. Par contre, les résultats les plus élevés ($p < 0.01$) sont obtenus avec des concentrations d'extrait phénolique de la menthe préparés à 60 et 80% ; 14,8 et 17 mm en moyenne. L'antibiotique enregistre un diamètre d'inhibition le plus élevé, (40 mm) ; il est même significativement ($p < 0.01$) supérieur à celui de l'extrait préparé à 100% (24 mm) (**Figure 09**).



Figure 09. Effet inhibiteur des extraits phénoliques de la Menthe poivrée déterminé par la méthode des disques sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

L'analyse de variance montre l'effet hautement significatif des taux d'extrait phénolique de la menthe sur les variations des diamètres d'inhibitions des germes *Lactobacillus bulgaricus* (**Tableau 9**).

Partie 3 : Résultats et Discussion

Tableau 9. Variations du diamètre de zone d'inhibition de *Lactobacillus bulgaricus* en fonction des différentes concentrations d'extraits phénoliques de la menthe.

Solutions expérimentales		Diamètre d'inhibition (mm)	Effet des solutions d'extraits phénoliques de Menthe
Concentrations d'extraits phénoliques de la menthe	Pénicilline	40.00 ^a ± 01.00	**
	100%	24.00 ^b ± 00.87	
	80%	17.00 ^c ± 01.00	
	60%	14,80 ^d ± 00.89	
	40%	13,70 ^{de} ± 00.35	
	20%	12,70 ^e ± 00.10	

** : Effet hautement significatif du facteur étudié (Effet des solutions d'extraits phénoliques de Menthe) ; a,b,c : groupes homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux.

1.2.2.2. Taux d'inhibition :

Les taux d'inhibitions de *Lactobacillus bulgaricus* les plus faibles ($p < 0.01$) sont réalisés avec des extraits phénoliques de la menthe préparée à 20 et 40% ; 31.76 et 34.26%, successivement en moyenne.

Les extraits préparés à 60, 80 et 100% ont induit des résultats d'inhibitions plus ou moins important ($p < 0.01$) comparativement au reste des solutions expérimentales ; 37.05, 42.56 et 59.99% en moyenne (**Tableau 10**).

Tableau 10. Variations des taux d'inhibition de *Lactobacillus bulgaricus* en fonction des différentes concentrations d'extraits phénoliques de la menthe poivrée.

Concentrations d'extraits phénoliques de la menthe	Taux d'inhibition (%)	Effet des solutions d'extraits phénoliques de Menthe
100%	59.99 ^b	**
80%	42.56 ^c	
60%	37.05 ^d	
40%	34.26 ^{de}	
20%	31.76 ^e	
Pénicilline	100 ^a	

** : Effet hautement significatif du facteur étudié (Effet des solutions d'extraits phénoliques de Menthe) ; a,b,c : groupes homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux.

1.2.2.3. Croissance de *Lactobacillus bulgaricus* :

En fonction des taux des extraits phénoliques de la menthe variables de 20 à 40%, le nombre du germes *Lactobacillus bulgaricus* connaît un abaissement notables à 26.10^4 et à 18.10^4

Partie 3 : Résultats et Discussion

UFC/ml successivement par rapport au témoin qui a enregistré le taux le plus élevé (75.10^4 UFC/ml en moyenne).

A partir du taux d'extrait préparé à 60%, la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* est totalement inhibée.

Les variations de la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* en fonction des taux d'extraits phénoliques de la menthe montre des différences hautement significatives (**Tableau 11**).

Tableau 11. Effet des extraits polyphénols de la menthepoivrée sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

Concentrations d'extraits phénoliques de menthe	Moyenne de croissance (UFC/ml)	Effet des solutions d'extraits phénoliques de Menthe
0%	75.10^4 ^a	**
20%	26.10^4 ^b	
40%	18.10^4 ^c	
60%	0 ^d	
80%	0 ^d	
100%	0 ^d	

** : Effet hautement significatif du facteur étudié (Effet des solutions d'extraits phénoliques de Menthe) ; a,b,c : groupes homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux.

1.2.2.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI) :

La concentration minimale inhibitrice des extraits phénoliques de la menthe vis-à-vis de *Lactobacillus bulgaricus* est obtenue à un niveau de dilution de 40%. En effet, le taux de survie du germe après 24 heures d'incubation en présence de l'extrait phénolique préparé à une concentration de 40% s'avère nulle ; c'est la concentration minimale inhibitrice (**Tableau 12**).

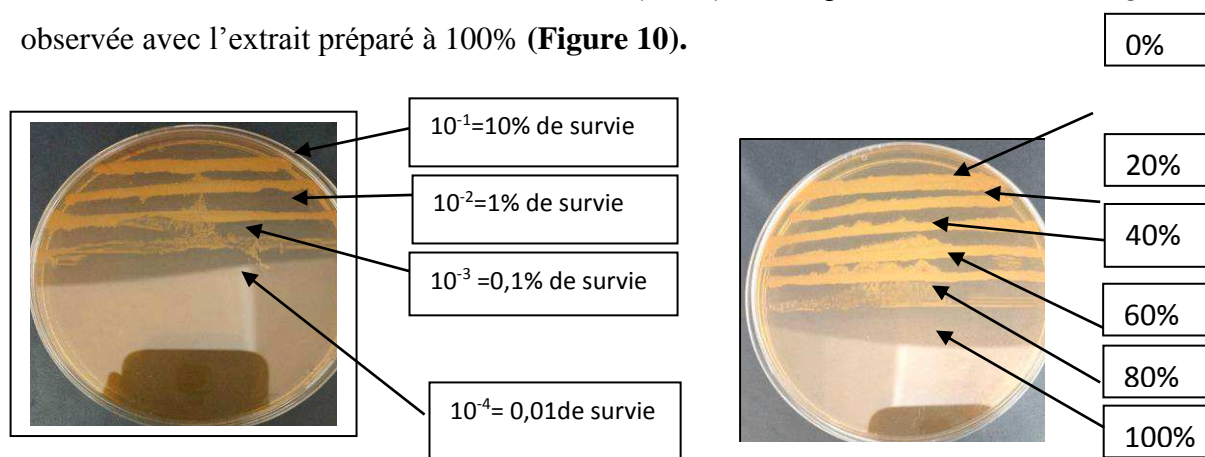
Tableau 12. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait phénolique de la menthe sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

Souche étudiée	Densité optique	Témoin	Concentration des extraits phénoliques de la Menthe poivrée				
		0%	20%	40%	60%	80%	100%
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	d_i	0,09	0,1	0,08	0,1	0,09	0,11
	d_f	0,167	0,171	0,08	0,1	0,09	0,11
	$d_f - d_i$	0,158	0,071	0	0	0	0
	S	100	40.50	0	0	0	0
CMI	CMI= Extrait à 40%						

d_f : Densité optique après incubation ; d_i : Densité optique avant incubation ; S : pourcentage de survie ; CMI : Concentration minimale inhibitrice.

1.2.2.5. Concentration minimale bactéricide (CMB) :

La concentration minimale bactéricide (CMB) de l'espèce *Lactobacillus bulgaricus* est observée avec l'extrait préparé à 100% (Figure 10).



1.2.2.6 Rapport CMB / CMI :

Le rapport CMB / CMI obtenu égale à 2.5 montre que l'extrait phénolique exerce un effet inhibiteur de type bactéricide chez l'espèce lactique *Lactobacillus bulgaricus* (Tableau 13).

Tableau 13. Action inhibitrice des extraits phénoliques sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

Espèce bactérienne	CMI	CMB	CMI/CMB	Action
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	40	100	2,5	Bactéricide
Normes	D'après (Marmonier, 1990) CMB/CMI < 4 (effet bactéricide) CMB/CMI > 4 (effet bactériostatique)			

1.3. Qualité des laits fermentés additionnés de poly-phénols de Menthe poivrée :

En de production après 3 heures de fermentation à l'étude réglée à 45 C°, l'acidité titrable des laits fermentés additionnés de polyphénols de Menthe poivrée est significativement plus faible que le témoin standard ($p < 0.05$) ; 85.13 vs 88.55 °D, en moyenne. Cette tendance est inversée pour le pH ($P < 0.05$) ; 4.7 °D dans l'essai expérimental vs 4.22 °D pour le témoin, sans polyphénols de Menthe.

Une baisse appréciable ($p < 0.01$) de la viscosité est enregistrée dans le yaourt aux polyphénols de Menthe (33.7 Pas.s) comparativement au standard fabriqué sans extrait polyphénoliques (35.7 Pas.s).

Partie 3 : Résultats et Discussion

L'accroissement des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* est significativement ($p < 0.01$) abaissé dans les échantillons expérimentaux par comparaison à l'essai témoin ; $151 \cdot 10^5$ vs $185 \cdot 10^5$ UFC/ml et $90 \cdot 10^5$ vs $101 \cdot 10^5$ UFC/ml , respectivement.

Les panelistes ont apprécié, au plan sensoriel, le lait fermenté additionné de polyphénols de plus acide par comparaison au témoin ; 10 sv 5, somme des rangs.

L'ajout de polyphénols de la Menthe n'a pas affecté les propriétés rhéologiques des produits. Au contraire, l'adhésivité et la cohésivité des laits fermenté supplémentés de polyphénols ont été qualifiées de meilleures que le témoin ($p < 0.01$) ; 5 vs 9 et 5 vs 10, somme des rangs, successivement.

L'essai aux polyphénols de la Menthe poivrée a développé chez les dégustateurs une sensation de fraîcheur plus prononcée que le yaourt témoin ($p < 0.01$) ; 5 vs 10, somme des rangs.

La couleur et l'odeur s'avèrent similaires et aucune différence significative n'a été remarquée par les panelistes entre tous les produits expérimentaux ; avec des sommes des rangs variables de 5 à 7 (**Tableau 14**).

Tableau 14. Variation de la qualité physicochimique, microbiologique et organoleptique des laits fermentés aux extraits phénoliques de Menthe poivrée.

Mesures	Extraits phénoliques de Menthe ajouté		Effet d'ajout des poly-phénols
	Témoin (0%)	Echantillons 2 (1%)	
Acidité (°D)	88.55 ^a ± 1.33	85.13 ^b ± 1.00	*
pH	4.22 ^b ± 0.16	4.7 ^a ± 0.1	*
Viscosité (Pas.s)	35.7 ^a ± 0.27	33.7 ^b ± 0.46	**
<i>Streptococcus thermophilus</i> (UFC/ml)	185.10 ^{5 a}	151.10 ^{5 b}	**
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> (UFC/ml)	101.0 ^{5 a}	90.10 ^{5 b}	**
Goût (Somme des Rangs)	10 ^a	5 ^b	**
Adhésivité (Somme des Rangs)	09 ^a	5 ^b	**
Cohésivité (Somme des Rangs)	10 ^a	5 ^b	**
Fraicheur (Somme des Rangs)	10 ^a	5 ^b	**
Couleur (Somme des Rangs)	5	7	NS
Odeur (Somme des Rangs)	7	5	NS

** : Effet hautement significatif du facteur ajout de polyphénols de Menthe ; * : Effet significatif du facteur ajout de polyphénols de Menthe ; NS : Effet non significatif de l'ajout des polyphénols de la Menthe poivrée ; a,b : Groupes homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux ; Pas : pascal ; S : Secondes.

2. Discussion

Les composés phénoliques sont des molécules qui appartiennent au métabolisme secondaire des plantes. Environ 10.000 composés ont été caractérisés (**Guignard, 2000**). Ils sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait, sont des éléments qui font partie de l'alimentation animale. A ce titre, l'homme peut consommer jusqu'à 10g de poly-phénols par jour.

Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur d'implication de ces substances dans la prévention des maladies dégénératives telles que les cancers, les maladies cardio-vasculaires, ostéoporoses et/ou les maladies inflammatoires (**Bahorun, 1997 ; Rock, 2003**).

D'après le Codex Alimentaire, le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*) et de *Streptococcus salivarius*, sous-espèce *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 substances (lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines lactosériques concentrées ou non, la caséine alimentaire ...etc.). Les micro-organismes du produit final doivent être viables et au nombre de 10^7 UFC/ml (**Mahaut et al., 2000**).

Globalement, d'après cette étude, il apparaît possible d'ajouter les composés phénoliques extraits de la Menthe poivrée (*Mentha piperita L*) dans le yaourt et de fabriquer un lait fermenté ayant les vertus d'un aliment santé pour le consommateur algérien.

La Menthe poivrée (*Mentha piperita L*) peut être donc une source de plusieurs composés phénoliques bioactifs, très intéressants pour la santé humaine et constitués surtout de flavonoïdes

Partie 3 : Résultats et Discussion

dont :hétéroside d'apégénine, diosmétine, lutéoline , éridictiol, flavonepolymothoxilé...etc. (François,2012).

Néanmoins, l'acidité, la viscosité, la croissance des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* des produits supplémentés de poly-phénols de *Menthapiperita* Lsemblent être relativement ($p < 0.01$) altérées comparativement au yaourt standard qui s'est démarqué avec de meilleurs résultats.

St. thermophilus et *Lb. bulgaricus* se développent en association (diteprotocoopération appelée autrefois symbiose) dans des cultures mixtes (Mahaut et al., 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, augmente aussi la viscosité du lait par production de polysaccharides (EPS), composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhanmose, arabinose et de marmose(Schmidt et al., 1994 ; Bergamaier, 2002).Il est couramment admis aussi que *Lb. bulgaricus* possède une aptitude à fermenté davantage le lactose lors de la conservation des yaourts au froid positif à 4 °C et à produire des EPS composés de galactose, glucose et de rhamnose a des rapports de 4/ 1/ 1, respectivement(Tamime, 1999).

Au faite, il a été bien démontré dans cette expérimentation que les poly phénols de la menthe poivrée objet de l'étude exercent un effet antimicrobien de type bactéricide vis-à-vis des germes spécifiques du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*). Cette action des polyphénols sur les cellules des microorganismes est basée sur une multiplicité d'influences individuelles. Celles-ci n'incluent pas seulement un mécanisme physique et physico-chimique mais aussi une réaction biochimique. En générale, l'action antimicrobienne peut être expliquée par les étapes suivantes : influence sur les parois cellulaires, influence sur l'ADN, influence sur synthèse des protéines, et une influence sur l'activité des enzymes.Les

polyphénols considérés comme des substances lipophiles agissent sur la cellule en perforant la membrane cellulaire. Cette perforation augmente le flux des protons vers l'intérieur de la cellule ce qui accroît le besoin en énergie (**Luck et al., 1995**).

Le métabolisme de ces bactéries de type exclusif homo-fermentaire (production de l'acide lactique) semble être donc freiné en présence des composés phénoliques de la menthe poivrée, avec comme conséquence une chute du nombre de germes spécifiques, de l'acidité et de la qualité rhéologique des produits.

Toutefois, l'acidité relevée dans les laits fermentés additionnés d'extrait de menthe est proche de la normale d'un yaourt au terme de fabrication, en fin de fermentation (**Loones, 1994**). En outre, le nombre de germes lactique au terme de la production est conforme à la norme dictée par le codex alimentaire de 10^7 germes vivants/ml. Par ailleurs, les panelistes n'ont pas décelé de différence d'adhésivité et de cohésivité entre les essais expérimentaux. Les études réalisées sur la microstructure du gel ainsi formé montrent que celle-ci dépend de plusieurs autres facteurs dont la concentration en matière sèche (**Schkoda et al., 1998 ; Van marle, 1998**), la méthode d'enrichissement du lait (**Tamime et al., 1984**), le traitement thermique subi (**Kessler, 1998**) et enfin, la nature des souches bactériennes utilisées et de leur capacité à synthétiser des polysaccharides exocellulaires (EPS) capables d'augmenter la viscosité du gel (**Hassan et al., 1995**).

Les dégustateurs ayant participé à l'étude ont révélé également que les critères sensoriels suivants (acidité, couleur et odeur) ne sont pas altérés dans les échantillons aux extraits phénoliques de menthe qui ont d'ailleurs présenté aussi une meilleure sensation de fraîcheur que le témoin.

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

Partie 3 : Résultats et Discussion

fermentation de type hétéro-fermentaire dont le métabolisme ne semble pas être énormément atténué par l'action bactéricide des composés phénoliques ajoutés à de faibles taux. Parmi ceux-ci, l'acide lactique qui confère au yaourt son goût acidulé s'avère être produit à des teneurs suffisantes même en présence de poly phénols. L'acétaldéhyde, le diacétyl et bien d'autres composés aromatiques (acétone, acétoïne, ...etc.) produits par *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* contribuent éventuellement à l'équilibre et à la finesse de la saveur.

En fin, il apparaît que la sensation de fraîcheur ressentie par certains panelistes et due certainement à une présence de trace de menthol ou d'autres composés non identifiés à ce jour dans les échantillons additionnés d'extrait phénoliques de menthe peut être aussi un atout d'aide à la maîtrise de la qualité et à la formulation de nouveaux produits sains pour le consommateur.

Conclusion générale

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus il apparaît que les extraits phénoliques de la menthe poivrée (*Mentha piperita L*) récoltée dans la région de Mostaganem Algérie exerce des effets antimicrobiens certains contre la croissance des germes spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

La méthode des disques montre que le diamètre d'inhibition des germes lactiques est d'autant plus augmenté que les solutions inhibitrices sont fortement concentrées en extrait phénolique de *Mentha piperita L*. La méthode de contact direct dévoile que la prolifération de ces germes lactiques sur milieux spécifiques est inhibée totalement à des concentrations en polyphénols supérieures ou égale à 60%.

La Concentration Minimale Inhibitrice de la croissance de *Streptococcus thermophilus* est observée avec la solution préparée à 40% de polyphénols de *Mentha piperita L* ; alors que la Concentration Minimale Bactéricide est enregistrée à 80% d'extrait poly-phénoliques.

Par ailleurs, la Concentration Minimale Inhibitrice de la croissance de *Streptococcus thermophilus* est déterminée avec la solution préparée aussi à 40% de polyphénols de *Mentha piperita L* ; par contre, la Concentration Minimale Bactéricide est enregistrée à 80% d'extrait poly-phénolique.

Les substances phénoliques ont démontré ainsi une action de type bactéricide sur les germes lactiques étudiés : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Les extraits phénoliques de *Mentha piperita L* ont freiné relativement la prolifération des germes spécifiques au cours de la fermentation et donc de leurs pouvoir acidifiant et à produire des exo-polysaccharides (EPS) responsables de la viscosité et de la qualité rhéologique des laits fermentés et qui semblent sensiblement affectées.

Néanmoins, en fin de fermentation le jury de dégustation n'a pas observé de grands changements sensoriels entre les laits fermentés préparés avec ou sans extraits de poly-phénols.

La connaissance du profil en principaux composés phénoliques de la plante, de leurs rôles biologiques et les mécanismes antimicrobiens régissant chaque composé vis-à-vis des deux

Conclusion générale

germes spécifiques du yaourt peut contribuer à mieux cerner de la manière qu'il faut entreprendre pour les introduire dans le lait fermenté en vue de produire un aliment santé.

Référence :

Aissani, Set Maata, k (1998) : Variation de la phenylamine Ammonialyase et la peroxydase au cours de la germination de l'onion sec (*Allium cepa* L). Mémoire d'ingénieur d'état, Institut de biologie (Univ.Mostaganem), 65p

Alibert J, Ranjeva R et Boudet M A, 1977 : Organisation subcellulaire des voies de synthèses des composés phénoliques. *Physiol. Veg.* 15,279-301 p.

ANONYME. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : Alimentation et nutrition, 28.

ANONYME. (1992). Norme Internationale ISO 5492. Analyse sensorielle ; contrôle de la qualité des produits alimentaires. AFNOR.

Bahorun, T. (1997). Substances Naturelles actives : La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, Food and agricultural research council, Réduit, Mauritius, p83.

BARTHÉLÉMY J. (1998). Evaluation d'une grandeur sensorielle complexe : description quantifiée. In : « Evaluation Sensorielles ». 2^{ème} éd. Tec&Doc. Lavoisier, Paris. 149-169.

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

BILIADERIS C.G., KHAN M.M. et BLANK G. (1992). Rheological and sensory properties of yogurt from skim milk and ultrafiltered retentates. *International Dairy Journal*, 2, 311-323.

Bourgeois, C., M., Leveau, J., Y. 1980. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3 : Le contrôle microbiologique, Collection Sciences et techniques agro-alimentaires, 331p.

BOUSBIA N. (2004). Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriandre, origan, thym, romarin), étude de leur s activités antimicrobiennes. Thèse de Magistère, option Sciences Alimentaires, Institut National Agronomique, Alger (Algérie).

CAMPBELL L.B. and PAVLASEK S.J. (1987). Dairy products as ingredients in chocolate and confections. *Food Technology*, 41 (10), 78-85.

CALLIER P. (2001). Traité d'Evaluation Sensorielle. Urdapilleta I., Ton Nu C., Saint Denis C. et Huon dekermade C, F. (Eds), Dunod, Paris. 363-391.

COURTIN P., MONNET M. and RUL F. (2002). Cell- wall proteinases PrtS and Prt B have a different role in streptococcus thermophilus / Lactobacillus bulgaricus mixed cultures in milk. *Microbiology*, 148, 3413 -3421.

DALGLEISH D. G. (1990). Denaturation and aggregation of serum proteins and caseins in the heated milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1995-1999.

Delachaux et Nieslés. 2013. 500 plantes comestibles « Histoire. Botanique. Alimentaire » : 260-261.

DELLAGLIO F., DE ROSSART H., TORRIANIS S., CURK M. et JANSSENS D. (1994). Caractérisation générale des bactéries lactiques. Tec&Doc (Eds), Lorica, 1, 25-116.

DOLEYRES Y. (2003). Production en conteneur du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse Doctorat. Université de Laval. Québec. 167 pages.

François C. 2012. Les plantes et leurs noms « Histoires insolites » : 152.

François E, Delachaux S, Nieslés. 2009. Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques, 141.

FREEMAN L., CAREL Y. (2006). Aromathérapie. *NUTRA NEWS* Science, Nutrition, Prévention et Santé.)

Harbonne.J.B, (1994) : Polyphenolics. In : Mann, J ; Davidson, R.S ; Hobbs, J.B ; Banthorpe, D.V et Harbonne, J.B(Eds) *natural products : Their chemistry and biological significance.* Longman scientific and technical, London, pp 361-388.

HASSAN A.N., FRANK J.F., FARMER M.L., SCHMIDT K.A. and SHALABI S.A. (1995). Observation of encapsulated lactic acid bacteria using confocal scanning laser microscopy. *Journal of Dairy Science*, 78, 2624-2628.

Hertog, M.g.L ; Hollman, P.CH et Venema, D.P (1992) : Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially and carcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J.agric food chem.*, 40 :1591-1598.

Hollman, P. C.H et Katan, N.B (1997) : Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed and pharmacotherapy*, 51 :305-310.

IMHOF R., GLATTLI H. and BOSSET J.O. (1994). Volatile organic aroma compounds

produced by thermophilic and mesophilic mixed strain dairy starter cultures. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 27, 442-449.

Jean, Marie GA, Marie O. 2013. Le préparateur en pharmacie. Tec & Doc ; 1251-1252-1255-1256.

Kra AKM. Évaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse de doctorat 3ème cycle UFR

Zrihi GN, Kra AKM, Etien DT. Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (*Rubiaceae*) et *spermacoce verticillata* (SV) (*Rubiaceae*) sur la croissance *in vitro* de *Aspergillus fumigatus*. *Revue Méd. Pharm. Afr.* 2007 ; 20 :9-17.

KESSLER H.G. (1998). The structure of fermented milk products as influenced by technology and composition. Texture of fermented milk products and dairy dessert. Proceedings of the IDF. Symposium. Vicenza, Italy, 5-6 May 1997, 93-105.

LAURENT Bourgeois. *Remèdes et recettes à la menthe*, Rustica éditions, 2009, 64p.

LAMOUREUX L. (2000). Exploitation de l'activité β - galactosidase de culture de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. Mémoire de maîtrise, Université de Laval, Canada.

LARPENT J.P. (1989). Microbiologie alimentaire. Ed, techniques et documentation Lavoisier. Paris, 46, 1-117.

LEORY F., DEGEEST B. and DE VUYST L. (2002). A novel area of predictive modeling: describing the functionality of beneficial micro-organisms in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 251-259.

LESSCHAEVE I. (1997). Etude des performances des sujets effectuant l'analyse descriptive quantitative de l'odeur ou de l'arôme des produits alimentaires. Recherche des liens entre épreuves de sélection et épreuves de profil. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne. ENSBANA, Dijon, France.

LOONES A. (1994). Lait fermenté par des bactéries lactiques. In « bactéries lactiques ». Vol II. DE ROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, Paris. 37-151.

LUQUET. (1985). Lait et produits laitiers : Transformations et technologies. Ed, techniques et documentation, Lavoisier. 633.

Lugasi A, Hovari J, Sagi, K V et Biro L, (2003). The role of antioxydant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica Szegedensis*.1-4, 119-125p.

Luck E, Jager M (1995). Antimicrobial action of preservatives antimicrobial food additives. VERLAGE : 38-42.

MODLER H.W. (1985). Functional properties of nonfat dairy ingredients. A review. Modification of products containing casein. *Journal of Dairy Science*, 68, 2195-2205.

MARTY-TEYSSET C. DE LA TORRE F. and GAREL J-R. (2000). Increased production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* upon aeration: involvement. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), 262-267.

MAHAUT M., JEANTET R., SCHAK P. et BRUL G. (2000). Les produits industriels laitiers. Ed, techniques et documentation, Lavoisier, Paris. 26-40.

MAC LEOD P., SAUVAGEOT F. et KÖSTER E.P. (1998). Les caractéristiques d'une réponse sensorielle In : « Evaluation Sensorielles ». 2^{ème} éd. Tec&Doc. Lavoisier, Paris. 6-29.

MONTET A. (2001). Les principales méthodes descriptives et leurs variantes in « Traité d'Evaluation Sensorielle ». Urdapilleta I., Ton Nu C., Saint Denis C. and Huon dekermade C, F. (Eds), Dunod, Paris, 3-147.

MURRAY J.M., DELAHUNTY C.M. and BAXTER I.A. (2001). Descriptive sensory analysis: Past, present and future. *Food Research International*. 34, 461-471.

MCFIE H.J., BRATCHELL N., GREENHOFF K. and VALLIS L. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order effects in hall tests. *Journal of sensory Studies*, 4, 129- 148.

Macheix JJ, Fleuriot A, Billot J. Fruits phenolic acids. CRC Press Boca Raton Florida 1990. 3 :105-110.

Moroh J, LA Bahi C, Dje K, Loukou YG, Guede-guina F. Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance *in-vitro* des souches d'*Escherichia coli*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 2008 ; Vol. 77 : pp. 44 - 61

NOZNICK P.P. (1982). Dairy Ingredients in food. *Bulletin de la Fédération Internationale de*

Laiterie, 142, 60-66.

NGOUNOU C., NDJOUENKEU R., MBOFUNG F. et NOUBI I. (2003). Mise en évidence de la biodisponibilité de calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé du Zébu. *Journal of Food Engineering*, 57, 301-307.

Olivier G. Caractéristique et mode d'action des antibiotiques. 2007.

PACI KORA E. (2004). Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception et de la texture et de la flaveur ? Thèse de Doctorat présentée à l'Institut National Agronomique. Paris Grignon.

Prescott LM, Harley JP et Klein DA. Microbiologie. Traduit de l'anglais par **Bacq-Calberg CM, Coyette J, Hoet P et Nguyen-Distéche M.** De Boeck-Wesmael SA. Bruxelles, Belgique. 1995 : 1014 p.

ROUSSEAU M. (2005). La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA. 9 pages.

ROUSSEL Y., PEBAY M., GUEDON G., SIMONET J.P. and DECARISN B. (1994). Physical and genetic map of streptococcus thermophilus A054. *Journal of Bacteriology*, 176(24), 7413- 7422.

Richter, G (1993) : Métabolisme des végétaux, physiologie et biologie et biochimie, les composés phénoliques, Edition press polytechnique, France, pp 302-304.

Riberteau – Gayon, P et Ganthert, R.J (1968) : Les composés phénoliques des végétaux. Dunord, paris 243p.

Rock, E. (2003). Stress oxydant, micronutriments et santé. Inra- CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments 63122 St Genès Champanelle. Université d'été de nutrition – Clermont-Fenaud, 37-42.

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. Loriga, paris. 37- 46.

SINGH SUDHEER K., AHMED SYED U. and ASHOK P. (2006). Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge : woodhead Publishing.

SCHKODA A, STUMPH A. and KESSLER H.G. (1998). Stability of texture of fermented milk products in relation to composition. Texture of fermented milk products and dairy dessert. Proceedings of the IDF Symposium. Vicenza, Italy, 5-6 May 1997, 115-121.

STRINGLER F. (1998). L'organisation pratique de la mesure sensorielle. Evaluation sensorielle. Manuel méthodologique. 2^{ème} éd. Tec&Doc (Eds), lavoisier, Paris, 46-94.

Shahidi, F et Naczk, M (1995) : Food phenolics : sources, chemistry, effects and application. Technologic publishing, Laucaster, 331p.

TAMIME A.Y. and DEETH H.C. (1980). Yogurt: technology and biochemistry. Journal of Food Protection, 43, 12, 939-977.

TAMIME A.Y. and ROBINSON R.K. (1999). Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge : woodhead Publishing.

TAMIME A. Y. and ROBINSON R.K. (1985). Background to manufacturing practice. Yoghurt. Science and technology. Tamime, A. Y., & R.K. Robinson. (Eds), Pergamon Press, Paris. 7-90.

TAMIME A. Y., KALAB M. and DAVIES G. (1984). Microstructure of set-style yoghurt manufactured from cow's milk fortified by various methods. Food Microstructure. 3, 83-92.

VAN MARLE M. (1998). Structure and rheological properties of yoghurt gels and stirred yoghurts. Thèse University of Twente, Enscheded, Pays Bas.

WEBER F. (1994). Altérations des produits laitiers par les bactéries lactiques. In«Bactéries lactiques ». De Roissart, H. luquet, F.M.(Eds), loriga, Uriage. 567-572.

YAKHLEF H., MADANI T., GHOZLANE F. et BIR B. (2010). Rôle du matériel animal et de l'environnement dans l'orientation des systèmes d'élevages bovins en Algérie ; in : « la filière lait en Algérie ». Communication aux 8^{èmes} Journées des Sciences Vétérinaires ,18 et 19 avril. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

Annexes :

Annexe 1 : analyses physico-chimiques et microbiologiques.

1. Analyses physico-chimiques :

1.1. Mesure de l'acidité :

1.1.1. Réactifs et appareillages :

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

1.1.2. Mode opératoire :

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

1.1.3. Expression des résultats :

$$\text{Acidité Dornie} = V_{\text{NaOH}} - 10$$

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

1.2. PH : le dosage du PH est réalisé par un – mètre étalonné par deux solutions , l'une acide et l'autre basique.

1.3. Mesure de la viscosité :

1.3.1. Appareillage :

- Bille de 7g, de 2cm de diamètre et de masse volumique égale à $7784,09 \text{ kg.m}^{-3}$.
- Tube cylindrique de 18cm de longueur.
- Chronomètre servant à mesurer le temps de chute de la bille.

1.3.2. Mode opératoire :

Introduire la bille de 7g dans le tube cylindrique rempli avec le produit à analyser par une chute libre sur une distance constante de 15cm, tout en mesurant le temps par le biais d'un chronomètre.

1.3.3. Expression des résultats :

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

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

Donc

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

μ : viscosité dynamique (kg/m/s)

K : constante, tel que $K = 8.175 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$

r : rayon de la bille, tel que $r = D/2 = 7.5 \text{ mm}$

x : la distance d'écoulement de la bille, $x = 15 \text{ cm}$

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

ϵ_{bille} : la masse volumique de bille, $\epsilon_{\text{bille}} = 7784,09 \text{ kg.m}^{-3}$

ϵ_{yaourt} : la masse volumique de yaourt (kg.m^{-3})

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

Annexes 2 : analyses microbiologiques :

a- Composition des principaux milieux de culture :

1- Gélose MRS (pH = 6,2 ± 0,2) (De Man et al., 1960)

- Peptone	10,0 g
- Extrait de viande	8,0 g
- Extrait autolytique de levure	4,0 g
- Glucose	20,0 g
- Acétate de sodium trihydraté	5,0 g
- Citrate d'ammonium	2,0 g
- Tween	80 1,0 ml
- Hydrogénophosphate de potassium	2,0 g
- Sulfate de magnésium heptahydraté.....	0,2 g
- Sulfate de manganèse tétrahydraté.....	0,05 g
- Agar	10,0 g

2 - Gélose M17 (pH = 6,2 ± 0,2) pour préparer 1 litre de milieu :

- Tryptone	5,0 g
- Peptone de soja.....	5,0 g
- Infusion de viande.....	5,0 g
- Extrait autolytique de levure	2,5 g
- Glycérohydrogénophosphate de sodium.....	19,0 g
- extrait de Lactose	5,0 g
- Acide ascorbique.....	0,5 g
- Sulfate de magnésium	0,25 g
- Agar	11,0 g

b- Dénombrement des *streptococcus thermophilus* :

- **Milieu de culture : M₁₇**
- **Dilution :** 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶
- **Inoculation :** couler le flacon de M₁₇ fondu au préalable et refroidi à 45°C dans les boîtes de Pétri.

Après solidification de milieu, prélever aseptiquement 0,25ml de dilution 10^{-1} , .. 10^{-6} à l'aide d'une micropipette et introduire dans la boîte de pétri en le répartissant en surface à l'aide d'un râteau.

- **Incubation** : placer les boîtes de pétri dans l'incubateur à 37°C pendant 24 à 48 heures.
- **Lectures des résultats** : Les *streptococcus thermophilus* se développent en donnant des colonies rondes à contour régulier d'une coloration blanche-crème.

c- Dénombrement des *Lactobacillus bulgaricus* :

- **Milieu de culture** : MRS
- **Dilution** : 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}
- **Inoculation** : la même démarche précédente citée par les *streptococcus thermophilus* est effectuée dans le dénombrement des *Lactobacillus bulgaricus*, mais le milieu sélectif adapté est le MRS « Man Rogasa et Sharpe ».
- **Incubation** : les boîtes de Pétri retournées sont placées dans l'incubateur à 37°C pendant 48 à 72 heures.
- **Lecture des résultats** : *Lactobacillus bulgaricus* forme des colonies lenticulaires, souvent polylobées de 3mm de diamètre suivant le nombre de colonie présente.

Tableau : Conditions expérimentales pour le dénombrement de la flore lactique à différents intervalles de temps au cours de l'acidification du lait par les ferments du yaourt

Bactérie lactique	Milieu de culture	Dilution testées	Condition d'incubation
<i>Streptococcus thermophilus</i>	M17	10^3 -, 10^{-6} et 10^{-7}	37°C pendant 24 à 48 h
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	MRS acidifié à pH 5.4	10^3 -, 10^{-6} et 10^{-7}	37°C pendant 24 à 48 h

