

Université Abdelhamid Ibn Badis
Mostaganem
Faculté des sciences
de la nature et de la vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

M. HADJAR Mouafak Hani Mohamed Amine

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité : Biotechnologie alimentaire

THÈME

**Effets inhibiteurs de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérita* L
Chez *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* et impact sur la
qualité d'un lait fermenté (type yaourt étuvé).**

DEVANT LE JURY

Président	Mme BENMAHDI .F	M.C.B	U. Mostaganem
Président	M. AIT SAADA. D	M.C.A	U. Mostaganem
Examineur	M. BEKADA .A	PROF	U. Tissemsilt
Co-encadreuse	Mme AIT CHABANE.O	M.C.B	U. Mostaganem
Invité	M ^{me} GUEMIDI Chafika	DOCTORANTE	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition
Université de Mostaganem

Année universitaire : 2019 – 2018.

Remerciements

Nous tenons à remercier « Dieu » le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

A cet effet, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre promoteur Mr AIT Saada. D. MCA pour les consignes et la grande volonté qu'il n'a pas cessé de nous témoigner, pendant tout notre travail.

Nous tenons à remercier les membres de jury en l'occurrence M^{me} BENMAHDI. F MCB pour avoir accepté de présider le jury, et d'apporter ses appréciations sur notre travail.

*Nos remerciements les plus vifs s'adressent surtout :
à notre co-encadreur Mme AIT CHABANE .O. MCB à l'université de Mostaganem ainsi qu'à Mme GHEMIDI .C. Doctorante, pour leurs disponibilités, générosités, conseils précieux et pour toutes les orientations qui nous ont apporté durant la réalisation de ce projet ;
et M BEKADA. A Prof à l'université de Tissemsilt d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nous remercions profondément tous les enseignants qui nous ont encouragé et soutenu pendant notre cursus universitaire.

Nos vifs remerciements s'adressent également à toute l'équipe du laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition de l'université de Mostaganem qui nous ont beaucoup aidés durant notre stage de fin d'études.

Merci

Dédicace

Je dédie ce lapidaire travail à :

*Ma chère mère Pour tout ce que tu as fait comme efforts avec moi dès mon jeune
âge pour tant de*

*Sacrifices consentis. Chère mère j'avoue que tu étais pour moi la lumière qui guide
ma route et qui m'emmène aux chemins de la réussite.*

A mon très cher père que dieu vous garde.

A mes très chers frères : Mohamed et nacer, djamila, laid

A toute ma famille.

A ma chère Saliha.

*A tous mes amis intimes : riade, abouamama ,sohybe, Bilal, Ilyes,
Mohamed, abdelwahed .*

A tous mes amis de la promotion de biotechnologie alimentaire de 2014 à 2019

summary

The experimental study is devoted to evaluating the antimicrobial effects of the compounds phenolics of *Mentha piperita* (peppermint) harvested in the region of Ouargla-Algeria on the growth of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* and their impact on the quality of a fermented type yoghurt steamed during fermentation periods and post-acidification storage at 4 ° C. The phenolic compounds were extracted by maceration of the plant in aqueous methanol. The pure extract recovered after evaporation, was concentrated with distilled water at 0, 20, 40, 60, 80 and 100%, respectively. Manufacturing tests a fermented milk supplemented with hydro-methanolic extract of mint at different doses of (0, 2, 4 and 6%) were also performed. The measurements made concerned: inhibitions tests, physicochemical analyzes, microbiological control and organoleptic tests.

underwent an analysis of variance (ANOVA) and a comparison of means according to the Newman and Keuls.

The hydro-methanolic extract of *Mentha piperita* L proves to have a bactericidal effect vis-à-vis the two specific yoghurt sprouts; *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*.

The addition of this plant extract in fermented milk has relatively reduced acidity, viscosity and the growth of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* germs.

In addition, all experimental products supplemented with peppermint extract were poorly appreciated by the tasting panel.

Nevertheless, in terms of smell and color, the tests prepared with 2% and 4% extract seem

better than the sample yoghurt

Key words: Phenolic compounds, extract, yoghurt, fermented milk, antimicrobial, quality, Conservation, *Mentha piperita*, peppermint.

Résumé

L'étude expérimentale est consacré à l'évaluation des effets antimicrobiens des composés phénoliques de *Mentha pipéríta* (Menthe poivrée) récoltée dans la région de Ouargla-Algérie sur la croissance des *Streptococcus thermophilus* ainsi que des *Lactobacillus bulgaricus* et leur impact sur la qualité d'un lait fermenté type yaourt étuvé au cours des périodes de fermentation et de post-acidification de conservation à 4°C. Les composés phénoliques ont été extraits par macération de la plante dans du méthanol aqueux. L'extrait pur récupéré après évaporation, a été concentré à l'eau distillée à 0,20,40,60,80 et 100%, respectivement. Des essais de fabrication d'un lait fermenté additionné d'extrait hydro-méthanolique de menthe à différentes doses de (0,2,4 et 6%) ont été également réalisés. Les mesures effectuées ont concernés : tests d'inhibitions, analyses physicochimiques, contrôle microbiologiques et tests organoleptiques. Les résultats ont subi une analyse de variance (ANOVA) et une comparaison des moyennes selon le test de Newman et Keuls.

L'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipéríta L* s'avère exercer un effet de type bactéricide vis-à-vis des deux germes spécifiques du yaourt ; *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

L'ajout d'extrait de cette plante dans le lait fermenté à réduit relativement l'acidité, la viscosité et la croissance des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Par ailleurs, tous les produits expérimentaux additionnés d'extrait de menthe poivrée ont été mal appréciés par le jury de dégustation.

Néanmoins, au plan de l'odeur et de la couleur, les essais préparés à 2 et 4 % d'extrait semblent meilleurs que le yaourt témoin

Mots clés : Composés phénoliques, extrait, yaourt, lait fermenté, antimicrobien, qualité, conservation, *Mentha pipéríta*, menthe poivrée.

Liste des tableaux

Tableaux	Pages
Tableau 1 .Valeur nutritionnel minimale pour 100g de yaourt.	3
Tableau 2. Classification botanique de <i>Mentha pipéríta</i> .	14
Tableau 3. Effets de l'extrait de <i>Mentha pipéríta</i> sur la croissance des germes	36
Tableau 4. Effets de l'extrait hydo-méthanologique de <i>Mentha pipéríta</i> sur le taux de croissance des germes spécifiques du yaourt	37
Tableau 5. Effets de l'extrait hydo-méthanologique de <i>Mentha pipéríta</i> sur le test d'inhibition des germes spécifiques du yaourt	38
Tableau 6. Effets de l'extrait hydo-méthanologique de <i>Mentha pipéríta</i> sur le taux d'inhibition des germes spécifiques du yaourt	39
Tableau 07. Evaluation des CMI de l'extrait hydo-méthanologique de <i>Mentha pipéríta</i> vis-à-vis des deux germes spécifiques du yaourt	40
Tableau 08. Types d'inhibitions de l'extrait hydo-méthanologique de la menthe poivrée vis-à-vis des germes spécifiques du yaourt.	42
Tableau 09. Effet d'incorporation de l'extrait hydo-méthanologique de <i>Mentha pipéríta</i> sur les variations du pH des laits fermentés	43
Tableau 10. Effet d'incorporation de l'extrait hydo-méthanologique de <i>Mentha pipéríta</i> sur les variations de l'acidité des laits fermentés type yaourt	44
Tableau 11 .Effet d'incorporation de l'extrait hydo-méthanologique de <i>Mentha pipéríta</i> sur les variations de la viscosité des laits fermentés type yaourt	45

Tableau 12. Effet d'incorporation de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha pipéríta</i> sur la croissance des germes spécifique du yaourt(<i>Streptococcus thermophilus</i>)	46
Tableau 13. Effet d'incorporation de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha pipéríta</i> sur la croissance des germes spécifique du yaourt (<i>Lactobacillus bulgaricus</i>)	47
Tableau 14 . Variations sensorielles du goût acide, goût de fraîcheur et l'arrière-goût (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt additionnés d'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha pipéríta</i> au cours de la période de post acidification	48
Tableau 15. Variations sensorielles de l'adhévisité (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt additionnés d'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha pipéríta</i> au cours de la période de post acidification	49
Tableau 16. Variations sensorielles de la cohésivité (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt additionnés d'extrait de <i>Mentha pipéríta</i> au cours de la période de post acidification	50
Tableau 17. Variations sensorielles de l'odeur (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt additionnés d'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha pipéríta</i> au cours de la période de post acidification	51
Tableau 18. Variations sensorielles de la couleur (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt additionnés d'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha pipéríta</i> au cours de la période de post acidification	52

Liste des figures

Figures	page
Figure 01. Observation au microscope électronique de <i>Streptococcus Thermophilus</i>	06
Figure 02. Observation au microscope électronique de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	07
Figure 03. Métabolisme complémentaire de <i>Streptococcus thermophilus</i> et de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dans le lait.	10
Figure N°4 : la morphologie de la menthe poivrée	13
Figure 05. Etape d'extraction des composés bioactifs de <i>Mentha pipérита</i>	19
Figure 06. Etape de macération et d'évaporation sous vide	20
Figure 07. Préparation des différentes solutions expérimentales	20
Figure 08. Activation des bactéries lactiques spécifiques du yaourt.	21
Figure 09. Méthode de contact direct	23
Figure 10. Méthode des disques par diffusion sur gélose.	25
Figure 11. Détermination de CMI	27
Figure 12. Détermination de CMB.	29
Figure 13. Préparation du levain.	31
Figure 14. Fabrication des laits fermentés	32
Figure 15. pH mètre.	33
Figure 16. Viscosimètre adapté à la mesure de la viscosité des laits fermentés	34
Figure 17 : Evaluation des CMB de l'extrait hydrométhanolique de <i>Mentha pipérита</i> vis-à-vis des deux germes spécifiques du yaourt	41

Liste des abréviations

M17 : Terzaghi et Sandine.

MRS: Man, Rogosa and Shape medium.

Na Cl : Chlorure de sodium.

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

pH : Potentiel d'hydrogène.

°D : Degré Dornic.

UFC : Unité formant colonie.

LB: *Lactobacillus bulgaricus* .

ST: *Streptococcus thermophilus*.

Table des matières

Introduction	1
Partie 1 Etudes bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur le yaourt	
1-historique.....	3
2-Définition du yaourt (OU YOGHOURT)	3
3-Classification des différents types de yaourts	4
4-Valeurs nutritionnel du lait et yaourt :	4
5-Fabricationde yaourt :	5
5-1 Préparation de lait :	5
5-2 Pasteurisation	5
5-3 Refroidissement :	5
5-4 Ensemencement :	5
5-5 Conditionnement.....	5
5-6 Incubation (fermentation) :.....	5
5-7 Arrêt de fermentation :	5
Chapitre II : Bactéries spécifiques du yaourt.....	7
1-Caractéristiques générales des bactéries spécifiques du yaourt :	7
1-1Streptococcus thermophilus :	7
1-2 Lactobacillus bulgaricus :.....	8
2-Intérêts et fonctions des bactéries du yaourt :	9
2-1 Production d'acide lactique :.....	9
2-2 Activité protéolytique :	9
2-3 Activité aromatique :.....	9
2-4 Activité texturant :.....	10
3-Comportement associatif des deux souches :.....	10
Chapitre III : Menthe poivrée (<i>Mentha pipérita</i> L).....	13
1-Description Botanique :.....	13
1-1-Famille des Lamiacées :.....	13
1-2- Espèce <i>Mentha pipérita</i> :.....	13
1-3-Les noms vernaculaires.....	13
2- Origine et distribution de la Plante :.....	14
3- Classification botanique :	15
4- Usage traditionnel de la menthe poivrée:.....	15
5- Composition chimique :	16

6- Propriétés pharmacologiques :	16
6-1- Effets antioxydants :	16
6-2- Effets insecticide :	16
6-3- Effets antimicrobien :	17

Partie 2 : Matériels et méthodes

1-Objectifs :	19
2- Région de prélèvement du matériel végétal :	19
3-Extraction des composés bioactifs :	19
4- Préparation des différentes solutions expérimentales :	21
5. Etudes des effets antimicrobiens de l'extrait de <i>Mentha pipérita</i> :	22
5-1 Activation des inocula microbiens :	22
5-2 Méthode de contact direct :	23
5-3 Méthode des disques par diffusion sur gélose :	23
5-4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :	26
5-5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :	28
6-Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi d'extraits de Menthe poivrée :	30
6.1. Protocole expérimental :	30
6.2 Préparation des levains :	30
6.3 Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux :	32
7. Mesures et contrôles sur les laits fermentés:	32
7.1 Paramètres physicochimiques :	32
7.1.1 Acidité :	32
7.1.2 pH :	33
7.1.3 Viscosité dynamique :	34
7.2 Analyses microbiologiques :	34
7-2-1- <i>Streptococcus thermophilus</i> :	34
7-2-2- <i>Lactobacillus bulgaricus</i> :	34
7.3-Test organoleptique :	35
- Gout acide :	35
-Goût de fraîcheur :	35
- Arrière-goût :	35
- Cohésivité :	35
- Adhésivité :	35
- Odeur :	35
- Couleur :	35
9. Traitement statistique :	35
1-Résultats :	36

1.1 Effet antimicrobiens de l'extrait vis-vis des germes du yaourt	36
1.1.1 Test de croissance	36
1.1.2 Taux de croissance :	37
1.1.3 Tests de diffusion sur disques (diamètres d'inhibition) :	38
1-1-4 Taux d'inhibition :	39
1.1.5 Concentration Minimales Inhibitrices :	40
1-1-6 Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) :	41
1.1.7 Types d'inhibitions de l'extrait hydrométhanolique de la menthe poivrée:	41
1-2 Essai d'incorporation de l'extrait de <i>Mentha piperita</i> dans un lait fermenté type yaourt étuvé	42
1-2-1 Qualité physicochimique :	42
1-2-1-1 pH	42
1-2-1-2 Acidité :	42
1-2-1-3 Viscosité :	44
1-2-2 Dénombrement des germes spécifiques du yaourt :	45
1-2-2-1 <i>Streptococcus thermophilus</i> (UFC/ml) :	45
1-2-2-2 <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (10 ⁵ UFC/ml) :	46
1-2-3 Qualité organoleptique :	47
1-2-3-1 Critères gustatifs ;(goût acide, goût de fraîcheur, arrière-goût)	48
1-2-3-3 Adhésivité et Cohésivité :	48
1-2-3-3 Odeur et couleur	51
2-Discussion :	53
2-1- Effets antimicrobiens de l'extrait de <i>Mentha piperita</i> vis-vis des germes spécifique du yaourt :	53
2-2- Paramètres physico-chimiques :	54
Conclusion	57

Partie I : Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le yaourt

Chapitre I : Généralités sur le yaourt

1-Historique :

Les laits fermentés sont préparés depuis une époque très lointaine en Asie centrale, dans les pays méditerranéens et dans la pluparts des régions d'élevage où ils constituent un mode de protection et de conservation du lait grâce à l'abaissement du pH en même temps qu'ils sont un aliment apprécié pour sa saveur. Longtemps restés traditionnels, certains de ces produits connaissent depuis quelque années un développement considérable grâce d'une part, à l'intérêt qu'y trouvent les consommateurs sur le plan organoleptique, nutritionnel, voire thérapeutique et d'autre part, à la mise en œuvre de procédés de fabrication industriels et aux progrès de la distribution. Enfin, l'attrait pour ces produits est renforcé par leur diversification et par des puissantes campagnes publicitaires. Ces produits présentent un grand intérêt dans les pays en développement en raison de leur acidité qui en fait des aliments hygiéniques, sans inconvénients pour les consommateurs intolérants au lactose. De plus, ils présentent une bonne valeur nutritionnelle, des qualités organoleptiques généralement très bien acceptés ainsi qu'une relative facilité de préparation et de distribution (Keddar et Koubich, 2009).

2-Définition :

DÉFINITION DU YAOURT (OU YOGHOURT)

Le yaourt est un « produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* à partir du lait (pasteurisé, concentré, partiellement écrémé enrichi en extrait sec) » (FAO, 1975).

Les bactéries dans le produit fini doivent être vivantes et présentes en abondance. Le yoghourt ou le yaourt est un lait fermenté obtenu par la multiplication dans le lait de deux bactéries lactiques spécifiques associées : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Ces bactéries lactiques sont cultivées sur du lait préalablement pasteurisé, dans le but d'éliminer la plus grande partie ou la totalité de la flore microbienne préexistante. Après la fermentation, le yaourt est

refroidi à une température comprise entre 1 et 10°C, à l'exclusion de tout autre traitement thermique, il est alors prêt à être consommé» (Luquet, 1990).

3-Classification des différents types de yaourts

3-1-Selon la texture :

Selon la texture il est distingué trois types de yaourts :

-Yaourts fermes: Ce sont les yaourts coagulés en pots, selon (Veisseyre, 1997) généralement des yaourt naturels ou aromatisés, dont la fermentation s'opère après la mise en pot à une température comprise entre 42 et 44°C dans le cas des yaourt sucre, aromatisés, aux fruits, à la confiture, etc.....l'apport des additifs se fait avant ou après le remplissage des pots.(Keddar et Koubich, 2009).

-Yaourts brassés : Ce sont les yaourts coagulés en cuve et brassés avant la mise en pot.

-Yaourts à boire : C'est des yaourts dont la texture est liquide.

3-2- Selon le goût :

Selon le goût il est retrouvé trois types de yaourts :

-Yaourts sucrés : C'est des yaourts additionnés de saccharose à un taux variable de %.

-Yaourts aux fruits : C'est des yaourts qui peuvent subir une addition inférieure à 30% de miel ou de confiture de fruit.

-Yaourts aromatisés : Les produits contiennent des arômes naturels renforcés par un produit de synthèse.

4-Valeurs nutritionnel du lait et yaourt :

La valeur nutritionnel des yaourts est représentée dans le (Tableau 01)

Tableau 1 .Valeur nutritionnel minimale pour 100g de yaourt.

	Lait	Yaourt nature	Yaourt maigre	Yaourt aux fruits
Calories/100 g	66	84	69	90
Matières sèches non grasses (%)	8.7	13.1	13.1	14
Protéines %	3.2	4.8	4.9	5.2
Riboflavine (vitamine B₂) mg/100 g	0.15	0.22	0.12	0.22
Calcium (Ca⁺⁺) mg/ 100 g	120	180	181	153
Phosphore (P) mg/100 g	95	142	143	153
Potassium (K⁺) mg/100 g	160	240	242	254

5-Fabrication de yaourt :

5-1 Préparation de lait :

Cette étape est facultative. On peut ajouter 2 à 3% de poudre de lait (20 à 30g par litre de lait) pour accroître la consistance et obtenir des yaourts bien fermes. Plus on ajoute de poudre de lait, plus le yaourt devient ferme. On choisira de la poudre de lait écrémé, moins chère et tout aussi efficace que la poudre de lait entier. On veillera à conserver la poudre de lait dans un endroit frais, sec et protégé (Christine, 2010).

5-2 Pasteurisation :

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

5-3 Refroidissement :

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

5-4 Ensemencement :

C'est l'inoculation dans le lait des deux germes spécifiques du yaourt, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* à des rapports 2/1 pour le yaourt nature et jusqu'à 10/1 pour les yaourts fruités (Luquet, 1990). La quantité de culture ajoutée au lait peut être influencée par l'activité des germes, le temps et la température d'incubation (Corvi, 1997). Ainsi, pour les températures d'incubation de (40 à 50°C), le taux d'ensemencement se situe entre 1 et 3% (Luquet, 1990). En outre, la répartition des germes doit être bonne et régulière dans le lait et l'activité du levain doit atteindre en fin d'incubation 85 à 90°D (Guyot, 1992).

5-5 Conditionnement :

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

5-6 Incubation (fermentation) :

Durant cette étape on assiste au développement de l'acidité du yaourt. Celle-ci est sous la dépendance de la température et la durée de fermentation des germesensemencés. Ainsi, il est préférable d'appliquer une température proche de celle optimale de développement de *Streptococcus thermophilus* soit (42 à 45°C), plutôt que celle proche de l'optimum du *Lactobacillus bulgaricus* (47 à 50°C). En générale les Streptocoques assurent le départ de la fermentation lactique. Cette température voisine de (42 à 45°C), est considérée comme étant la température symbiotique optimum entre les Streptocoques *thermophilus* et *Lactobacilles bulgaricus* (**Luquet, 1990**).

5-7 Arrêt de fermentation :

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

Chapitre II : Bactéries spécifiques du yaourt

Chapitre II : Bactéries spécifiques du yaourt

1- Caractéristiques générales des bactéries spécifiques du yaourt :

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

1-1- *Streptococcus thermophilus* :

Streptococcus 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 chaîne 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 *Streptococcus 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. Il augmente aussi la viscosité du lait par production de polysaccharides (composé de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnus, arabinose et de Mermoz) (Bergamaier, 2002).

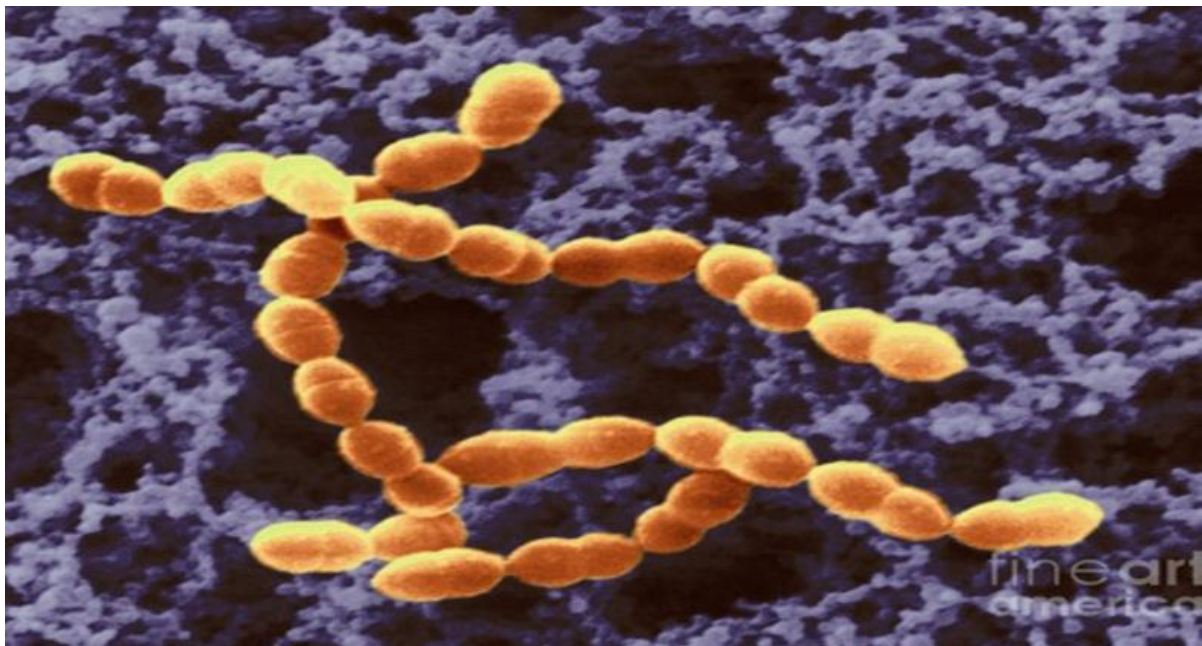


Figure 01. Observation au microscope électronique de *Streptococcus Thermophilus*

1-2 *Lactobacillus bulgaricus* :

Lactobacillus bulgaricus est un bacille gram positif, immobile, sporulé, micro aérophile. 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'Emden Meyerhof. Il est incapable de fermenter les pentoses.

C'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 (H₂O₂) qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le système le plus efficace pour éliminer le peroxyde d'hydrogène est l'utilisation d'une enzyme ; la catalase dont les bactéries lactiques est déficientes.

Ces dernières possèdent plutôt un peroxyde (pseudo-catalyse) 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).

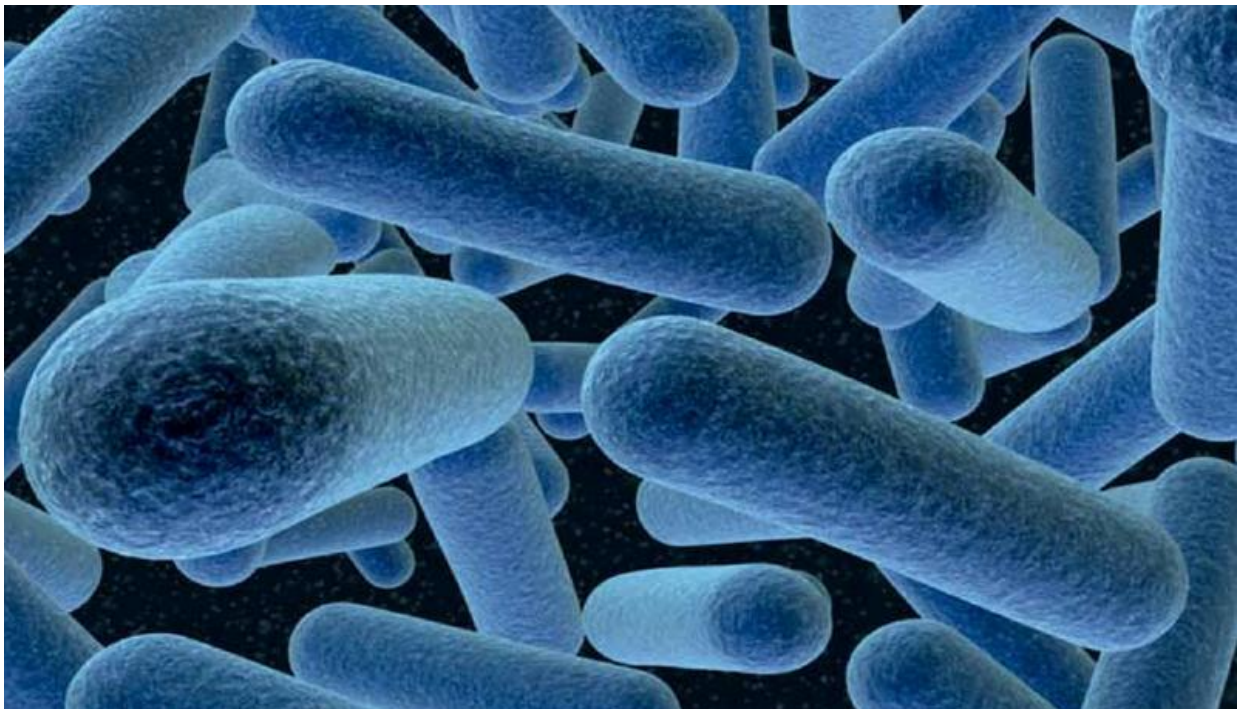


Figure 02. Observation au microscope électronique de *Lactobacillus bulgaricus*

2-Intérêts et fonctions des bactéries du yaourt :

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 Doronic ($1^{\circ}\text{D} = 0.1\text{g}$ d'acide lactique par 1 litre de lait). 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 (Singh et al., 2006)
- Intervient comme inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes indésirables (Leory et al., 2000).

2-2 Activité protéolytique :

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

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

Streptococcus thermophilus est considérée comme ayant une faible activité endopeptidasique. Elle dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique en acide aminés libres. (Schmid et al., 1994).

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 streptocoque. D'autres composés (acétone, acétone...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.

2-4 Activité texturant :

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 forment 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 composé de rhamnose, arabinose et rhamnose (Schmidt et al.,1994).

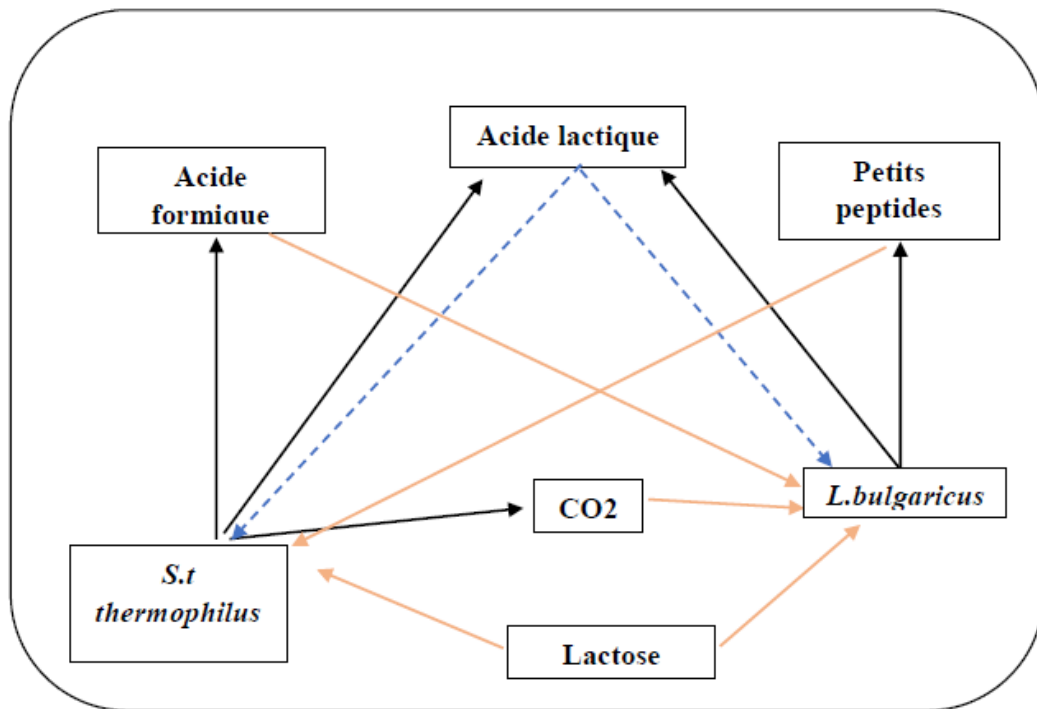
Il est couramment admis que la production des EPS est le résultat de l'action exercée par *Streptococcus thermophilus*. (Tamime, 1999). Mais d'après, *Lactobacillus bulgaricus* possède une aptitude à produire des EPS composés de galactose, glucose, rhamnose à des rapports de 4/1/1.

3-Comportement associatif des deux souches :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus bulgaricus* se développent bien en association (appelée proto-coopération) dans des cultures mixtes ayant un intérêt à la fois d'ordre technologique et nutritionnel. Les deux espèces, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* sont micro-aérophiles et vivent ensemble en symbiose dans le yaourt en produisant d'avantage d'acide

lactique. Pour se développer, ces bactéries ont besoins d'acides aminés et de peptides. Or, le lait n'en contient que de faible quantité permettant seulement d'assurer le démarrage de leur croissance. Sauf que le *Lactobacillus bulgaricus* par son activité protéolytique, attaque les caséines du lait en libérant les peptides permettant au *Streptococcus thermophilus* de poursuivre sa croissance. De plus le CO₂ issue de la décarboxylation de l'urée à un rôle stimulateur vis-à-vis des *Lactobacillus bulgaricus* (Driessen, 1982).

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 organoleptiques du yaourt. D'un point de vue nutritionnel, l'activité fermentaire de ces espèces lactiques favorise une solubilisation des différents constituants du lait, améliorent ainsi leur biodisponibilité (Courtin et al. 2002 ;Ngounou et al., 2003).



(Driessen, 1982)



Figure 03. Métabolisme complémentaire de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus* dans le lait.

La fermentation des sucres en acides lactiques est une caractéristique des bactéries lactiques qui permet de les classer en bactéries homofermentaires ou hétérofermentaires. Les bactéries lactiques produisant d'autres composés que l'acide lactique tel que l'éthanol, le CO₂ et l'acide formique sont hétérofermentaires. Ainsi le métabolite principal et majoritaire des bactéries lactiques est l'acide lactique (**Mahaut et al., 2000**).

**Chapitre III : Menthe poivrée - Aspects
botaniques et biochimiques**

Chapitre III : Menthe poivrée (*Mentha pipérta* L)

« Aspects botaniques et biochimique »

1-Description Botanique :

1-1 Famille des Lamiacées :

La famille des *Lamiaceae* ou *Labiaceae* est une famille des plantes herbacées buissonnantes (rarement arbustives : Hyptis). Elle contient plus de 252 genres et près de 6700 espèces qui se répartissent sur tout le globe ; mais principalement du bassin méditerranéen à l'Asie Centrale. Cette famille est connue depuis longtemps à cause ses propriétés médicinales et aromatiques. La forme de la fleur et la présence des huiles essentielles distinguent cette famille (**Pedersen, 2000**).

1-2- Espèce *Mentha pipérta* :

La menthe poivrée est originaire du Moyen-Orient. Elle résulte d'une hybridation entre la menthe aquatique (*Mentha aquatica*) et la menthe verte (*Mentha spicata* (**Iskan, 2002**)). Il s'agit d'une plante vivace à rhizome long et rampant. La tige, de 50 à 80 centimètres, dressée ou ascendante, se divise en rameaux opposés. Ses feuilles mesurent de 4 à 10 cm de long, elles sont ovales, opposées, courtement pétiolées, lancéolées, aiguës, dentées, sont d'un très beau vert et se teignent de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre, elles sont recouvertes de gros poils sécréteurs arrondis dans lesquels s'accumulent les substances volatiles odorantes (**Benayad, 2008**).

Les fleurs, violacées, forment des épis très courts, ovoïdes, à l'extrémité des rameaux. Le fruit, divisé en quatre parties, est entouré d'un calice persistant. Son odeur est puissante, sa saveur piquante et rafraîchissante (**Edrissi, 1982**).

1-3-Les noms vernaculaires

En Arabe : نعناع ; **En Français :** Menthe anglaise ; Menthe poivrée ; **En Anglais :** Peppermint ; **En Allemagne :** Pfefferminze ; **En Espagnol :** Mentha pimienta; **En Italie:** *Mentha piperita* . (**Pedersen, 2000**).



Figure 4 . Morphologie de la menthe poivrée. (Korichi, 2006)

2 - Origine et distribution de la Plante :

La menthe poivrée a été trouvée comme des feuilles séchées dans les pyramides égyptiennes datant du premier millénaire av .J.C (Iserin, 2001). Le nom *Mentha* vient du grec *Minthe* » et du latin « *Mentha* ». *Pipéríta* signifie poivrée. La menthe poivrée est originaire de l'Inde. Elle est cultivée en Europe centrale et du Sud, Amérique du Nord et du Sud, Asie, Afrique du Nord, presque dans le monde entier. Elle se trouve à l'état sauvage dans toute l'Australie, l'Amérique du Nord et en Europe (Charles, 2013).

3-Utilisation commerciale

La menthe poivrée est importante en utilisation industrielle comme aromatisant aussi bien pour les produits médicamenteux que pour ceux de la parapharmacie et de l'hygiène .l'industrie agro-alimentaire est le principale consommateur : liquoristerie (liqueur, sodas, sirops à diluer) confiserie (bonbon et sucre cuits ,pâtes à mâcher , chocolat) l'industrie de tabacs et la parfumerie . 90% de la production mondiale d'essence de menthe poivrée est produite par les USA (Hamammi et al ., 2005)

4- Classification botanique :

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure regroupé dans le tableau suivant.

Tableau 2. Classification botanique de *Mentha pipérита*. (Bruneton, 1999)

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Sympetales
Famille	Lamiaceae
Genre	Mentha
Espèce	Mentha x pipérита.

5- Usage traditionnel de la menthe poivrée :

La menthe poivrée considérée comme les plantes les plus consommés dans le monde et connue par son utilisation qui est très reconnu comme thé ou tisane.

La menthe poivrée est l'une des plantes les plus largement utilisées en thérapie traditionnelle grâce aux nombreuses propriétés. Ses feuilles sont utilisés pour soulager les maux de tête liés à une mauvaise digestion, contre les courbatures, traitent encore les parasites de la peau (acné, dermatites, démangeaisons cutanées), et comme antiseptique, antivirale, antispasmodiques, carminatives, cholérétiques, antibactérienne et antioxydants (Toroglu, 2011).

Elles traitent aussi l'inflammation des voies respiratoires et de la muqueuse buccale, soulage les symptômes du rhume et de la toux, les douleurs rhumatismales musculaires, et névralgiques (barlier, 2014).

En cas d'infections, l'huile essentielle diluée de la plante peut être utilisée en inhalation ou en massages légers sur la poitrine (Iserin, 2001).

6- Composition chimique :

Des extraits réalisés avec différentes parties de la menthe poivrée ont montré la diversité et la richesse en plusieurs constituants tel que : Flavonoïdes (lutéolme, menthoside), Tocophérols,

Azulènes, l'acide rosmarinique, des Terpènes, des caroténoïdes, des tanins et huile essentielle (Charles, 2013).

Les huiles essentielles représentent de 1 à 3 % de la masse de la matière sèche de la partie aérienne de la plante, Leur principaux constituants est le menthol (29-50%), menthone (16-25%), de l'acétate de menthyle (pas plus de 5%), l'isomenthone (de 10 à 15%), menthofurane, et pipéritone. Elle contient également de 1 à 5% de limonène ; et de citéole (Bruneton, 1999).

7- Propriétés pharmacologiques :

7-1- Effets antioxydants :

L'activité antioxydante de la menthe poivrée a été étudiée par plusieurs chercheurs dans le monde et par différentes méthodes.

Zheng et Wang ont étudié la capacité antioxydante (capacité radicalaire d'absorption d'oxygène ORAC) d'une solution aqueuse des feuilles fraîches préalablement congelées de 39 plantes médicinales et culinaires dont *Mentha pipérita* L. Dans les analyses des plantes médicinales, la menthe poivrée a présenté des capacités plus élevées (15,85 $\mu\text{mol TEq/g}$) (Zheng, 2001).

Concentration minimale inhibitrice de (IC₅₀ = 2,53 $\mu\text{g/mL}$) est la valeur obtenue par Mimica et son groupe sur l'activité antioxydante de *M. pipérita* par la méthode de DPPH. Le test a été effectué sur les huiles essentielles de trois types de Menthe (*Mentha aquatica* L., *Mentha longifolia* L. et *Mentha piperita* L.). Le résultat a montré un pouvoir très élevé de cette hybride plante (Mimica-Dukic, 2003).

7-2- Effets insecticide :

L'effet insecticide de l'huile essentielle extraite de la plante aromatique *M. piperita* L., contre les larves les adultes d'*Aedes aegypti* (*Ae. Aegypti*) a été réalisé par Kumar et ses collaborateurs. Les résultats ont montré que l'huile essentielle extraite de *M. pipérita* possédait une excellente efficacité larvicide contre les vecteurs de la dengue. Les tests biologiques ont montré une valeur de CL₅₀ et CL₉₀ de 111,9 et 295,18 ppm, respectivement après 24 heures d'exposition. La toxicité de l'huile a augmenté de 11,8% quand les larves ont été exposées à de l'huile pendant 48 h. Aussi les propriétés répulsives d'huile essentielle de *M. pipérita* est

remarquables contre les adultes *Ae. aegypti*. L'application de l'huile conduit à une protection de 100% jusqu'à 150 min (**Kumar, 2011**).

Dans une autre étude, les extraits d'hexane et éthanol de huit plantes aromatiques et médicinales dont *M. pipérta L.* ont été testés pour leur effet insecticide contre les ravageurs coléoptères de produits stockés : *Oryzaephilus surinamensis L.* (Silvanidae), *Rhyzopertha dominica F.* (Bostrichidae) et *Sitophilus zeamais Mots.* (Curculionidae). Les résultats neregistrent qu'aucune trace d'activité insecticide de la plante contre les genres testés (**Moreira, 2007**).

6-3- Effets antimicrobien :

L'extrait de la menthe poivrée a été testée pour ses propriétés antimicrobiennes contre 21 micro-organismes pathogènes pour l'homme et les végétales, elle s'est avérée une forte inhibition face aux micro-organismes pathogènes pour les plantes, tandis que les agents pathogènes humains ont été que modérément inhibés. Menthol, le principal constituant de l'extrait de la menthe poivrée, a été jugé responsable de la propriété antimicrobienne des extraits (**Isca, 2002**).

Selon **Mimica-Dukic** et ses collaborateurs, l'extrait de la menthe poivrée expose une très forte activité antibactérienne en particulier contre les souches d'*E.Coli*. Elle a également montré une activité fongistatique et fongicide avec des valeurs de concentration minimale significative, qui étaient considérablement plus faibles que celles de la bifonazole fongicide du commerce (**Mimica-Dukic, 2003**).

En outre, **Yadegarinia et al.** ont trouvé que l'extrait de la menthe poivrée a possédé d'excellentes activités antimicrobiennes contre *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec des diamètres des inhibitions (31,11 11,67 et 90 mm) respectivement (**Yadegarinia, 2006**).

L'activité antibactérienne de 15 échantillons des extraits des plantes d'origine Slovaque dont *Mentha pipérta L.* ont été testées par la méthode de diffusion sur disque contre les genres de *Clostridium* (*Clostridium butyricum*, *Clostridium hystoliticum*, *Clostridium intestinale*, *Clostridium perfringens* et *Clostridium ramosum*). Les résultats ont montré que *M.pipérta* possède de pouvoir modéré contre les souches testées (**Kačániová, 2014**).

Partie 2 : Matériel et méthodes

1-Objectifs :

Ce travail expérimental consiste à suivre l'effet antimicrobien de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta* L vis-à-vis des deux germes spécifiques du yaourt dont *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. L'étude vise à comprendre le type d'action inhibitrice que peuvent exercer les principaux composés bioactifs de la Menthe poivrée obtenus par usage de méthanol comme solvant d'extraction à l'égard de ces germes spécifiques du yaourt et leurs conséquences sur l'amélioration de la qualité et la stabilité d'un lait fermenté (type yaourt étuvé) au cours de la fermentation et la période de post-acidification de conservation au froid positif de 4°C pendant 21 jours.

2- Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de la plante *Mentha pipérta* ; prélevée au mois de septembre 2018, dans la Wilaya de Ouargla au sud-Est d'Algérie.

Un échantillon de 2 à 3 kg pris uniquement sur la partie aérienne de l'espèce étudiée a été récoltée de manière aléatoire dans une station d'étude propre à la région expérimentale et relevant de l'Institut Technique de Développement de l'Agronomie Saharienne (ITIDAS- Hassi Ben Abdallah) ou elle est cultivée traditionnellement sous palmeraie (La région se trouve à 134m d'altitude et possède comme coordonnées géographiques 31°57'N de latitude et 5°9'E de longitude)

La matière végétale a été ensuite étalée sur du papier journal ; puis séché à l'air ambiant durant 2 semaines. Les échantillons séchés sont en fin broyés dans un broyeur à lame de cuisine puis mis dans des bocaux hermétiques et stérilisé par les rayons UV pendant 20 minutes et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de la lumière.

3-Extraction des composés bioactifs :

L'extraction des principaux composés bioactifs contenus dans *Mentha pipérta* a été effectuée par la méthode décrite par (Sultana et al., 2009). Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

L'extraction des composés bioactifs de la plante est réalisée par usage du méthanol comme solvant d'extraction. Elle a été effectuée sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale est mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v). L'extraction par

macération à froid de chaque mélange est laissée pendant 6 heures à température ambiante sous agitation, puis filtrée sur papier filtre Whatman ayant une porosité de 0,2 μ m. L'extrait pur est enfin obtenu après évaporation sous vide à 38 °C au rota vapeur(BÜCHI).

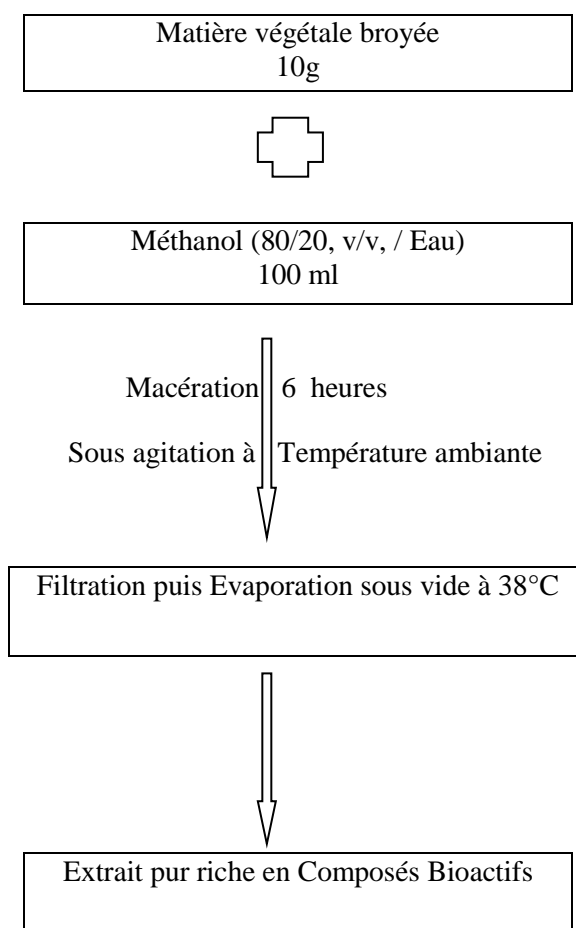


Figure 05. Etape d'extraction des composés phénoliques de *Mentha pipéríta* L (Sultana et al. 2009).



Figure 06. Etape de macération et d'évaporation sous vide.

4- Préparation des différentes solutions expérimentales :

A partir de l'extrait pur de la menthe poivrée 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 composé bioactifs de Menthe poivrée (**Figure 07**).

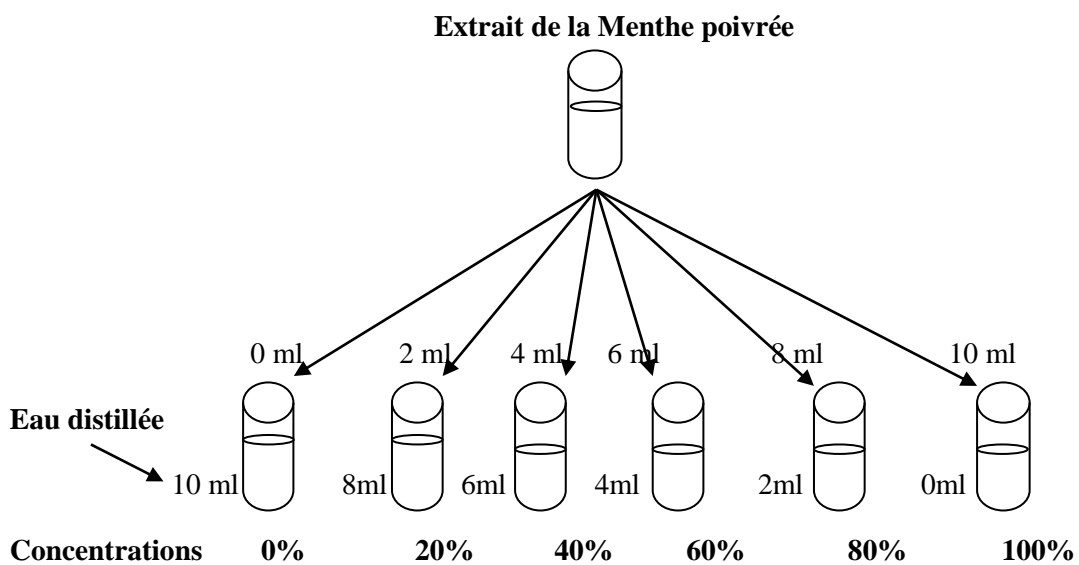


Figure 07. Préparation des différentes solutions expérimentales.

5. Etudes des effets antimicrobiens de l'extrait de *Mentha pipéríta* :

5.1 Activation des inocula microbiens :

L'étude a concerné deux souches pures de références et spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Chaque espèce lactique est tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale.

Une prise de 0,25 g de la souche lyophilisée a été préalablement ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37 °C durant 03 heures jusqu'à atteindre une densité optique de 0,9 au spectrophotomètre réglé à 560 nm. 0,1 ml de cette dernière solution est ensuite pris pour être ensemencé en surface d'une boîte de Pétri contenant un milieu spécifique gélosé de croissance pour chaque espèce microbienne (MRS ou M17), puis le mélange est incubé à 38°C pendant 24 heures (**Figure 08**).

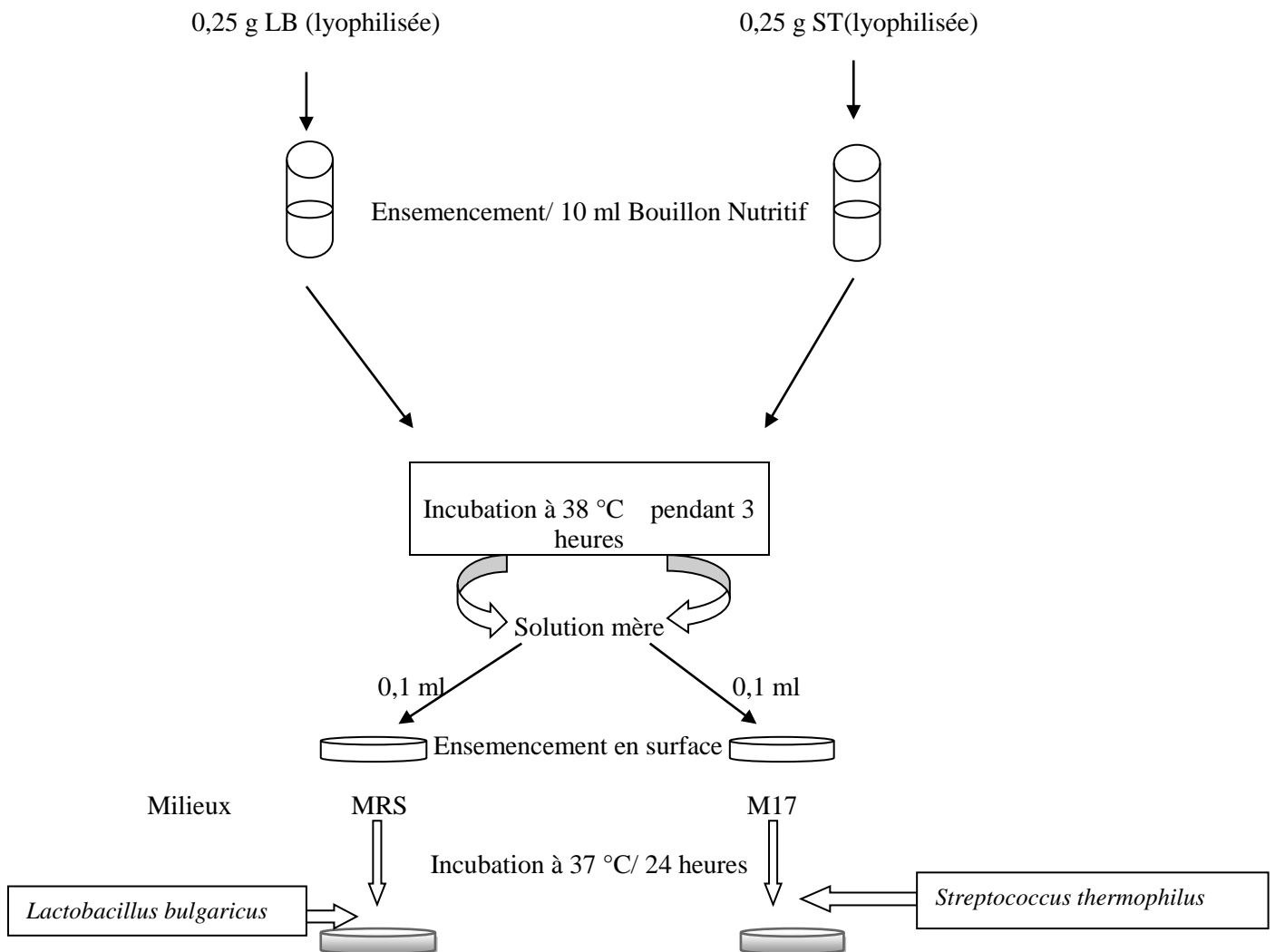


Figure 08. Activation des bactéries lactiques spécifiques du yaourt.

5-2 Méthode de contact direct :

Une colonie d'une culture jeune de chaque espèce microbienne activée comme 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 de chaque extrait de menthe poivrée dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. 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 développé est effectuée après incubation des milieux ensemencés à 38°C pendant 24 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**) (**Figure 09**).

5-3 Méthode des disques par diffusion sur gélose :

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n° 3), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contaminations aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave. Une colonie de chaque espèce lactique prélevée du milieu gélosé spécifique après activation a été ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif ; ce mélange a constitué la solution mère.

Des prises de volume de 1ml de cette dernière solution ont été 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 extrait obtenu selon le solvant utilisé, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamicine, ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Pétri contenant le milieu gélosé spécifique ensemencé au germe lactique approprié (**Prescott et al. , 2003**).

La lecture des diamètres d'inhibition a été effectuée après l'incubation des boîtes de Pétri à 38°C pendant 24 heures (Guignar, 1998). (Figure 10)

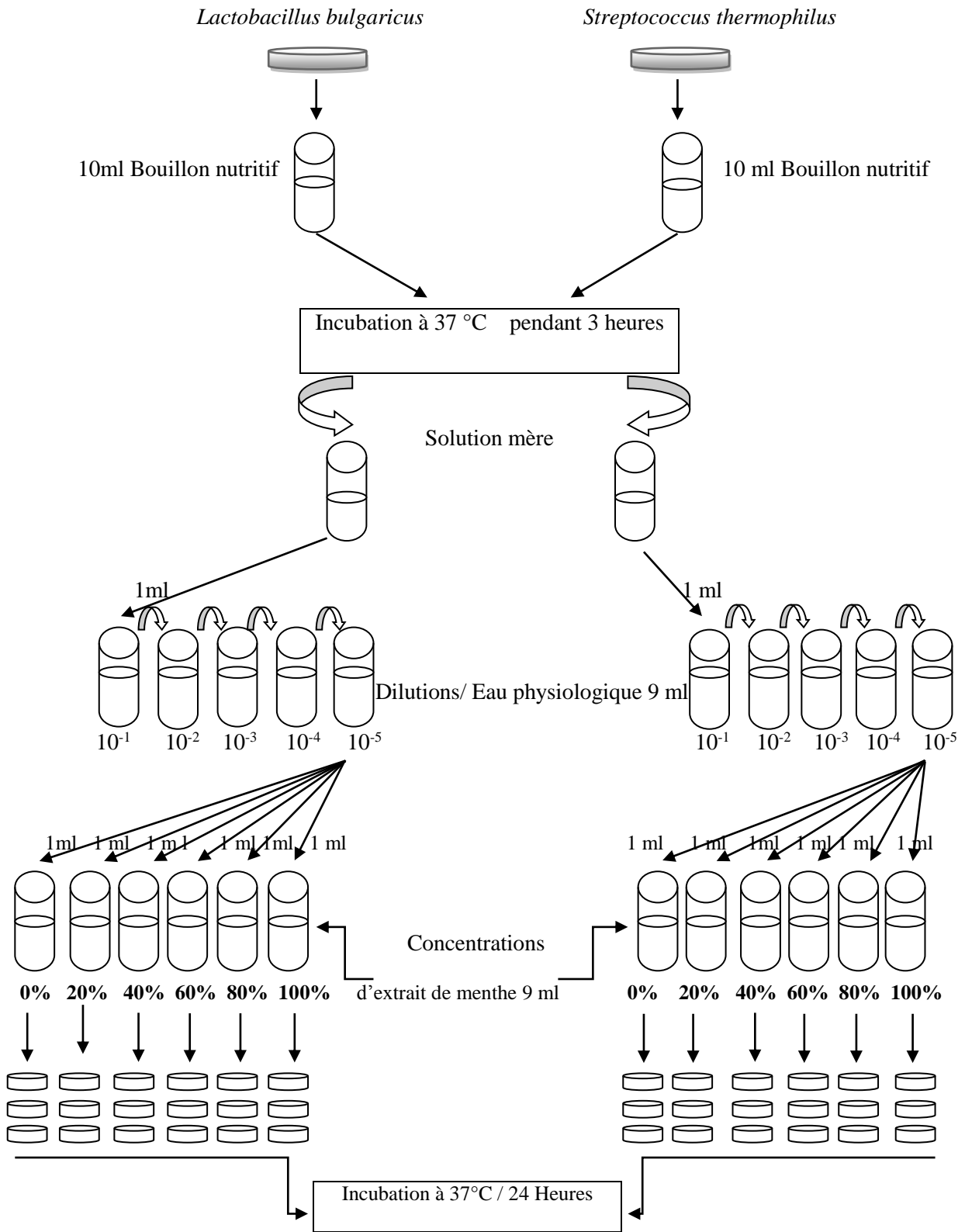


Figure 09. Méthode de contact direct. (Bourgeois et Leveau, 1980)

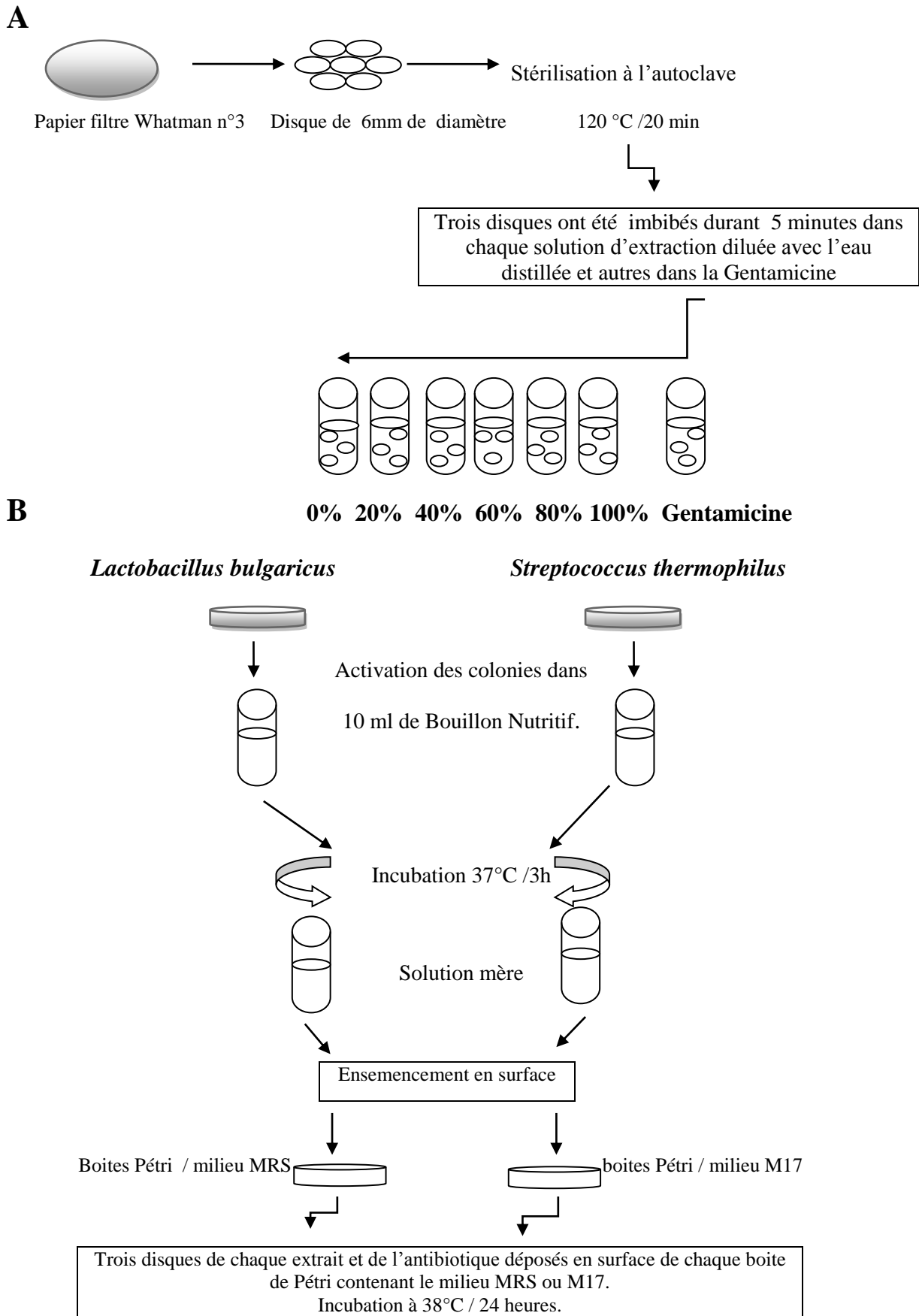


Figure 10. Méthode des disques par diffusion sur gélose. (Prescott et al, 2003).

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 (Denis et al., 2011).

Dans le cas de notre étude, c'est les principes actifs des extraits de la matière végétale de la Menthe qui sont utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice des espèces des germes 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 1 ml de chaque inoculum sont introduites respectivement dans 10 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

Les mélanges des tubes contenant les extraits de Menthe préparés à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum de bactérie lactique sont ensuite incubés à 38°C pendant 18 à 24 heures (Moroh et al., 2008), (Figure.11).

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 correspond donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité. Par conséquent c'est le premier tube où la valeur di est égale à df (di = df).

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

$$S = 100 \times \frac{df - di}{DF - DI}$$

S: Taux de survie du microorganisme en %.

di : Densité optique dans la solution phénoliqueensemencée sans incubation.

df : Densité optique dans la solution phénoliqueensemencée après incubation.

df-di : Différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 24 heures.

Df-Di : Différence de densité optique dans la solution sans extrait de Menthe poivrée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures (Kra et al., 2001 ; Zrihiet al., 2007).

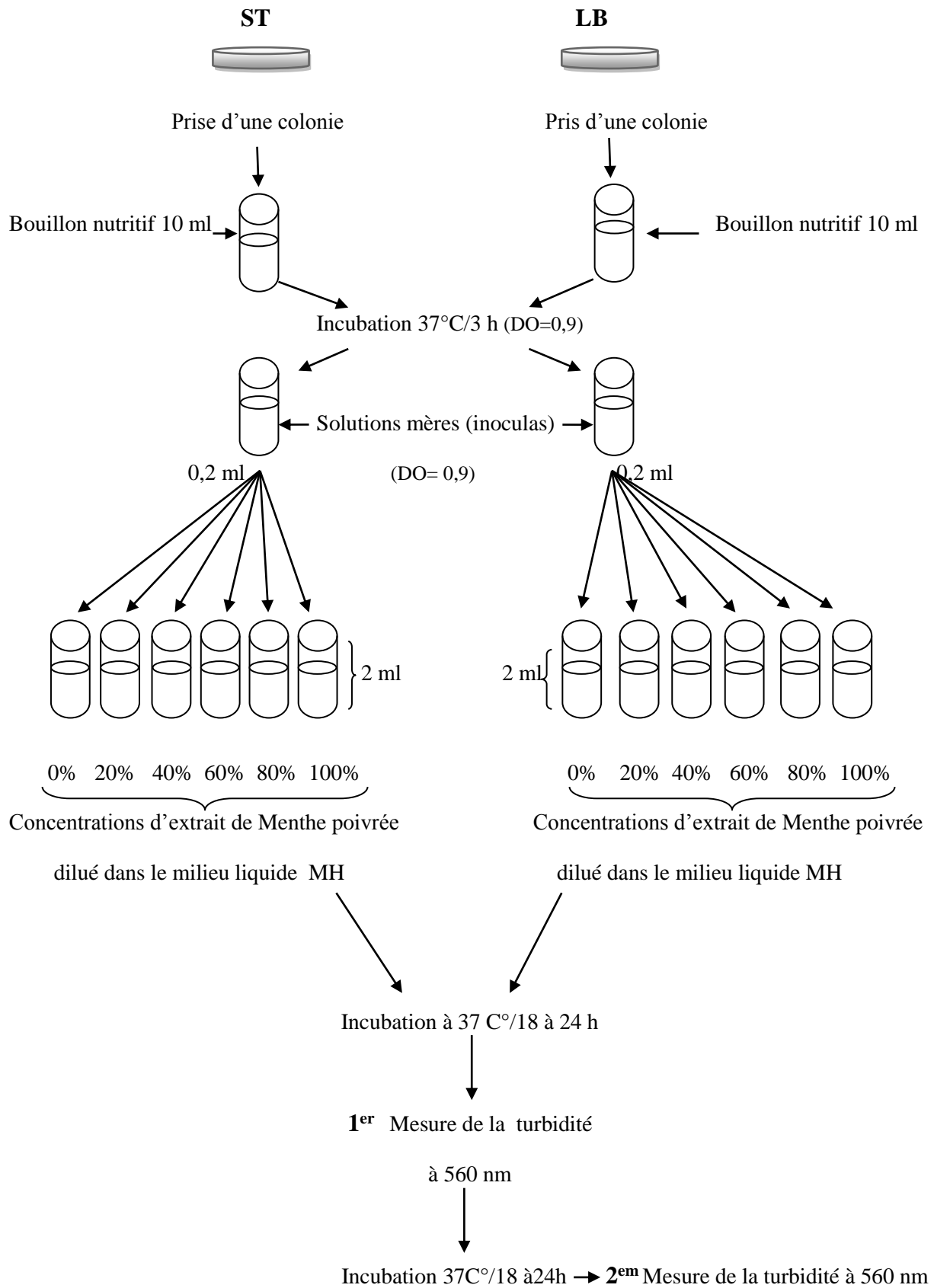


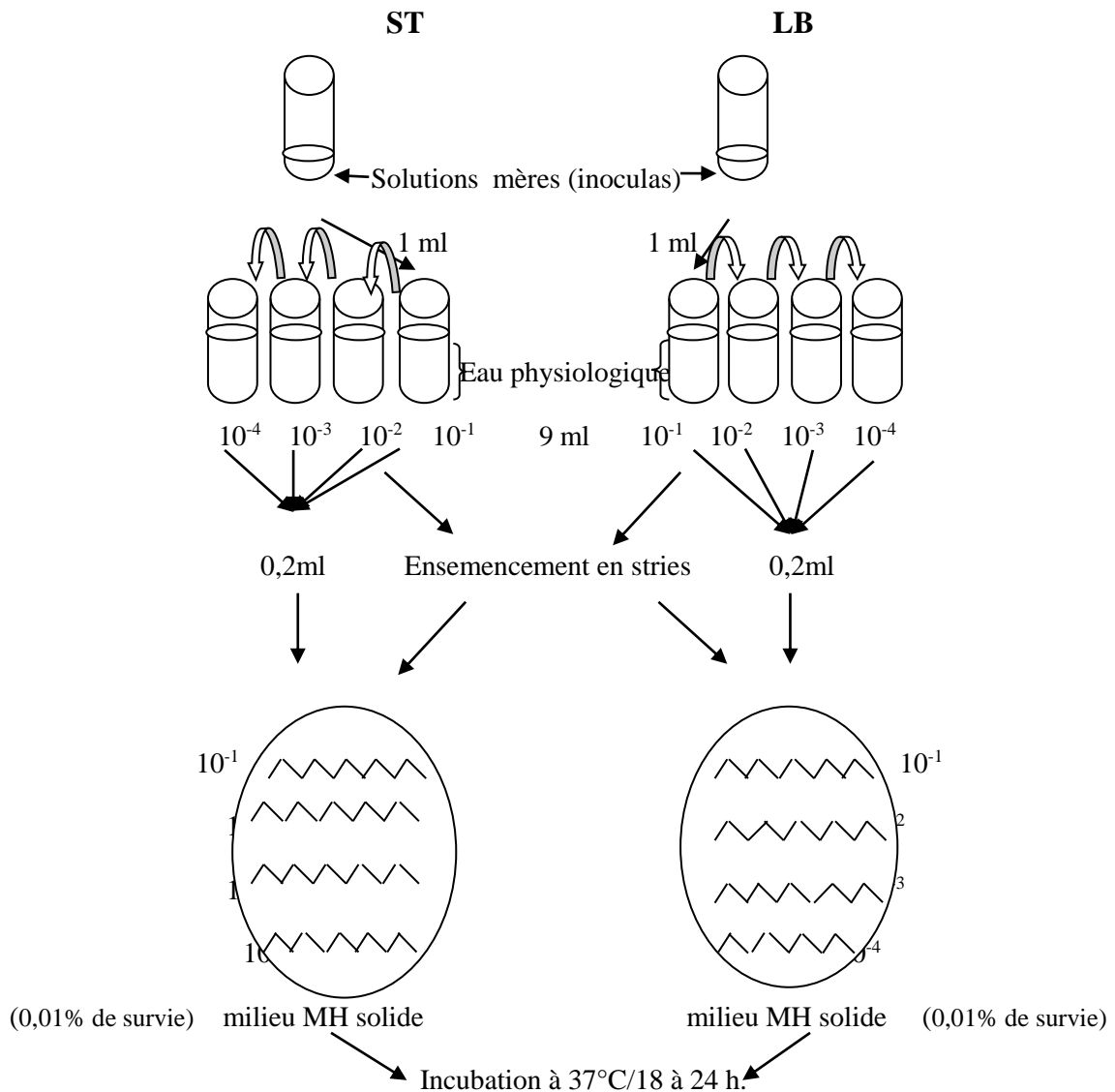
Figure 11. Détermination de la CMI. (Moroh et al.,2008),

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 de la plante 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 est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 38°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, également ensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 38°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. (Figure .12).

A



B

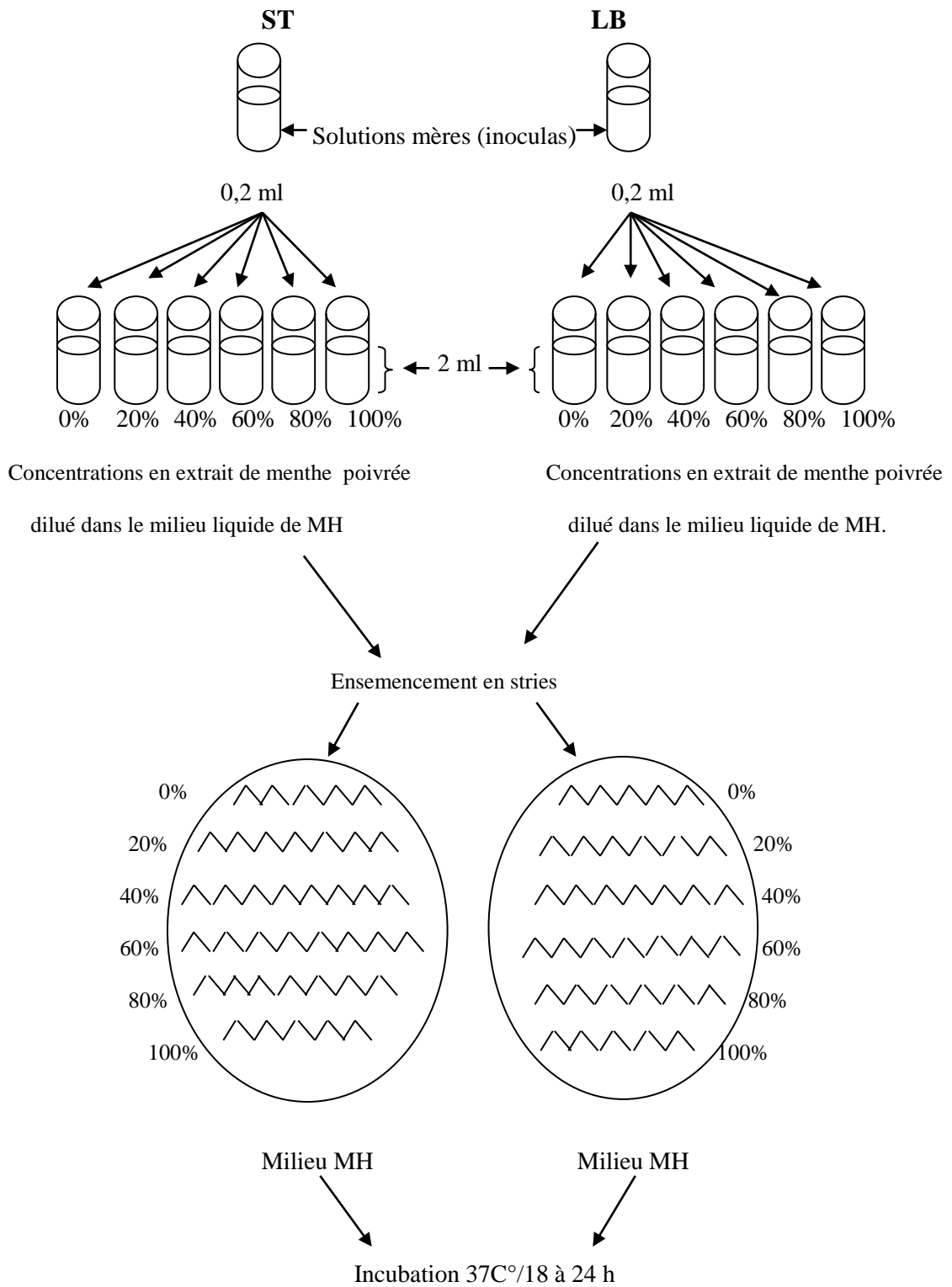


Figure 12. Détermination de la CMB. (Moroh et al., 2008).

6-Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi d'extraits de Menthe poivrée (*Mentha pipéríta L*) :

6.1. Protocole expérimental

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

L'extrait pur au méthanol aqueux de la plante (*Mentha pipéríta L*) récoltée dans la région de Ouargla -Algérie a été incorporé au cours du procès de fabrication d'un lait fermenté type yaourt étuvé (directement dans le lait cru pasteurisé refroidi et maintenu chauffé à 45 °C) à des taux variables de 0, 2, 4, et 6%, respectivement.

Les échantillons de lait enrichis d'extrait de Menthe poivrée (*Mentha pipéríta L*) ont été par la suiteensemencés avec les souches spécifiques du yaourt à un taux de levains de 3% et à un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* (St) sur *Lactobacillus bulgaricus* (Lb) de 2St/1Lb (V/V). Aucun additif pouvant masquer les caractéristiques organoleptiques et rhéologiques n'a été ajouté aux produits transformés (ni saccharose, ni arôme, ni autre additifs).

Chaque concentration d'extrait étudié à été représenté par un nombre de répétitions de trois pots d'une capacité de 100ml de produit finis; soit un nombre total de 12 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 « écrémé ». Le mélange a subi ensuite une pasteurisation durant 2 minutes à 100°C, et un refroidissement à 45°C.

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

Le levain prêt à l'emploi avec un rapport de souches de 2 *Streptococcus thermophilus* pour 1 *Lactobacillus bulgaricus* (2S/1L, v/v) a été enfin incorporé dans les laits destinés à la

fabrication des laits fermentés alicaments à un taux de 3% (3ml de levain dans 100 ml de lait cru pasteurisé enrichi d'extrait de Menthe verte et maintenu durant environ 3 heures à 45 °C) .

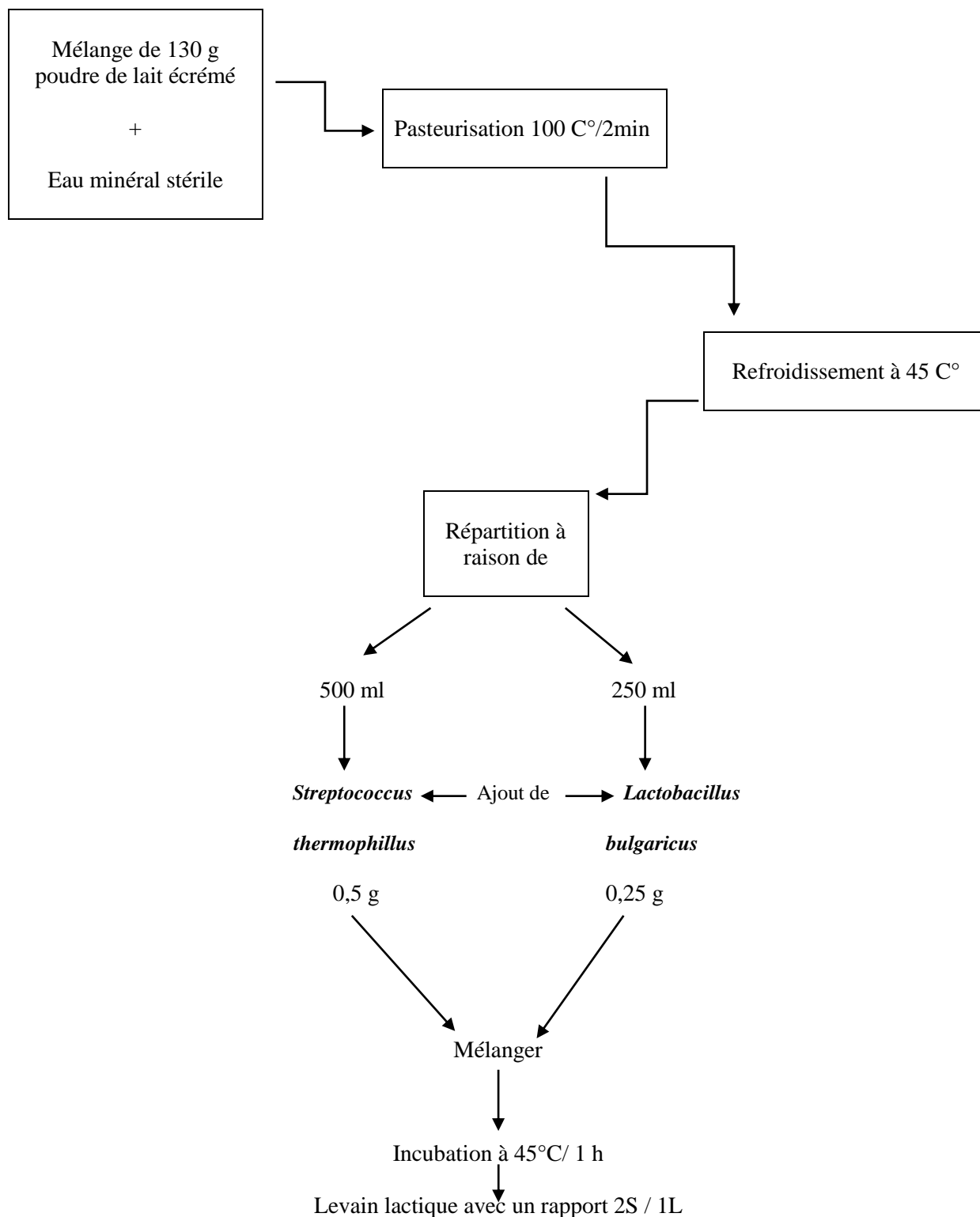


Figure 13. Préparation du levain.

6.3 Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux :

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

Après un léger chauffage à 45°C, à des prises (de 03 X 100ml) d'échantillons de lait maintenus à cette température ont été additionné différents taux d'extrait au Méthanol aqueux de la Menthe verte (*Mentha pipérata L*) à raison de 0, 2, 4, et 6% respectivement. Les échantillons ont été enfinensemencés à 3% avec un levain lactique renfermant un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* de 2S/1L. Les pots des différentes préparations ont été par la suite sertis par du papier aluminium et orientés à la fermentation pendant 3 heures dans une étuve réglée à 45°C.

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



Figure 14. Fabrication des laits fermentés.

7. Mesures et contrôles sur les laits fermentés:

Les analyses expérimentales ont été réalisées en triples essais, dans chaque pot de lait fermenté et pour chaque traitement effectué.

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 à (0.5%).

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.



Figure15.pH mètre.

7.1.3. Viscosité dynamique :

La viscosité est établie par l'utilisation d'un tube capillaire avec une vitesse débitante assez petite pour que la loi de Poiseuille puisse s'appliquer.

Le débit volumique Q :

$$Q = (\pi R^4 / 8\eta) (\Delta\rho / L)$$

Un tube capillaire est un tube très petite section telle que les effets de la viscosité sur le profil des vitesses de l'écoulement est important.

$(\Delta\rho/L)$ est la chute de pression par unité de longueur, qui est due à la viscosité. Elle est uniforme le long du tube.

Lorsque le liquide est immobile, la différence de pression entre le haut et le bas de la colonne de liquide est pratiquement nulle, car la pression atmosphérique est pratiquement uniforme autour du dispositif.

Mais si le liquide s'écoule en régime stationnaire, la perte de charge horizontale vaut

$$(\Delta\rho/L) = \rho_{\text{liq}} g \quad \text{où } \rho_{\text{liq}} \text{ est la masse volumique du liquide.}$$

Le débit volumique devient :

$$Q = (\pi R^4 / 8 \eta) / \rho_{\text{liq}} g$$

La durée nécessaire pour l'écoulement d'un volume V donné de liquide avec un débit Q vérifie la relation :

$$Q = v/\tau = \text{quantité de liquide écoulé} / \text{durée de l'écoulement.}$$

On obtient la relation donnant la viscosité du liquide :

$$\eta = (\pi R^4 / 8 v_{\text{liq}}) / \rho_{\text{liq}} \tau$$

On peut déduire la viscosité cinématique :

$$v = (\eta / \rho_{\text{liq}}) = \kappa \cdot \tau$$



Figure16. Viscosimètre adapté à la mesure de la viscosité des laits fermentés.

7.2 Analyses microbiologiques :

7-2-1-*Streptococcus thermophilus* : Le dénombrement des germes sera réalisé par culture d'une prise de dilution (10^{-5}) qui suite la dilution (5g/45ml de l'eau physiologie) sur un milieu de culture sélectif « M17 » 1ml en profondeur incubé a 37°C pendant 48h.

7-2-2-*Lactobacillus bulgaricus* : Le dénombrement des germes sera effectué par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « MRS » incubé a 37°C pendant 48h.

7.3. Test organoleptique :

Chaque 7 jours durant toute la période de poste acidification(21 jours), la qualité des laits fermentés expérimentaux a été évaluée par des 10 dégustateurs, selon une échelle de notation variable de 1 à 10 et en appréciant les critères suivants :

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

8. Traitement statistique :

Les résultats paramétriques ont été traités statistiquement par une analyse de variance mono-factorielle en randomisation totale suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de NEWMAN et KEULS. Par contre, ceux relatifs au test organoleptique ils ont été analysés statistiquement par le test non paramétrique de Friedman .Le logiciel statistique utilisé dans le traitement des données est le STAT BOX 6.4.L'effet du traitement a été apprécié aux deux seuils de probabilités ; $p < 0,05$ et $p < 0,01$.

Partie 3 : Résultats et discussion

1-Résultats

1.1 Effet antimicrobiens de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta* vis-vis des germes spécifique du yaourt

1-1-1 Test de croissance

Par comparaison au témoin, les plus faibles niveaux ($p < 0.01$) de croissance chez *Streptococcus thermophilus* ont été enregistrés dans l'extrait pur hydrométhanolique de *Mentha pipérta* ; 299.10^5 vs 25.10^5 UFC/ml, en moyenne .De plus, à des concentrations de l'extrait de la plant variables de 40 à 80% le nombre de ces germes recensés s'avère comparable (58.10^5 à 74.10^5 UFC/ml) ($p > 0.05$) ; mais inférieure ($p < 0.01$) à celui de témoin

Par ailleurs, les solutions d'extrait préparées à 0 et 20 % ont accusé des résultats identiques ($p > 0.05$) ; 299.10^5 Vs 291.10^5 UFC/ml, en moyenne.

Les meilleures valeurs ($p < 0.01$) de croissance des germes *Lactobacillus bulgaricus* ont été notées dans la solution témoin exempt d'extrait de la menthe poivrée (223.10^5 UFC/ml), suivi par l'extrait de la plante concentré à 20% (153.10^5 UFC/ml). Néanmoins, les plus faibles ($p < 0.01$) résultats de croissance microbiennes ont été perçues dans les solutions expérimentales préparées à 60, 80 et 100% ; 28.10^5 vs 11.10^5 vs 0 UFC/ml en moyenne , respectivement (**Tableau 03**)

Tableau 3. Effets de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta* sur la croissance des germes spécifiques du yaourt.

Germes	Concentrations de l'extrait hydrométhanolique de <i>Mentha pipérta</i> (%)						Effet des concentrations d'extrait de menthe
	0%	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> ($N \times 10^5$ UFC/ml)	223 ^a	153 ^b	63 ^c	28 ^c	11 ^c	0 ^c	$p < 0.01$
<i>Streptococcus thermophilus</i> ($N \times 10^5$ UFC/ml)	299 ^a	291 ^a	74 ^b	63 ^b	58 ^b	25 ^c	$p < 0.01$

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions $n=3$; UFC : unité formant colonies ; N : nombre de germes ; $p > 0.05$: effet non significatif du facteur étudié (concentrations en extrait hydrométhanolique de la menthe poivrée) ; $p < 0.05$: effet significatif du facteur étudié ; $p < 0.01$ effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c..ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux a deux selon le test de Newman et Keuls.

1.1.2 Taux de croissance :

Comparativement au témoin, le faible taux de croissance de *Streptococcus thermophilus* ($p < 0.01$) a été apprécié dans la solution d'extrait pur concentrée à 100% (8.55.10%). Par ailleurs, les solutions d'extrait concentrées à 40,60 et 80 ont accusé des résultats similaires ($p > 0.05$) et variables de 19.33 à 24.6%. Apparemment, l'extrait de la plante préparé à 20% s'avère n'exercer aucun effet chez les *Streptococcus thermophilus* ou le taux de croissance était comparable au témoin ($p > 0.05$).

Concernant les *Lactobacillus bulgaricus* les faibles ($p < 0.01$) taux de croissance de (0 à 13.5 %) ont été décelées dans les solutions d'extrait concentrées à 100, 80 et 60%, respectivement. En revanche l'extrait à 40% et celui préparé à 20% ont induit des taux de croissance variables ($p < 0.01$) de 30.6 à 74.6%, en moyenne (**Tableau 04**) .

Tableau 4. Effets de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérита* sur le taux de croissance des germes spécifiques du yaourt.

Germes	Concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha pipérита</i> (%)						Effet des concentrations d'extrait de menthe
	0%	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	100 ^a	74.6 ^b	30.6 ^c	13.5 ^d	5.3 ^d	0 ^d	$p < 0.01$
<i>Streptococcus thermophilus</i>	100 ^a	99.2 ^b	24.6 ^b	21 ^b	19.33 ^b	8.55 ^b	$p < 0.01$

Les résultats sont exprimé en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions $n=3$; UFC : unité formant colonies ; $p > 0.05$: effet non significatif du facteur étudié (concentrations en extrait hydrométhanolique de la menthe poivrée) ; $p < 0.05$: effet significatif du facteur étudié ; $p < 0.01$ effet hautement significatif du facteur étudié a,b,c...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux a deux selon le test de Newman et Keuls.

1.1.3 Test de diffusion sur disques :

Aucune zone d’inhibition des germes spécifiques du yaourt n’a été enregistrée dans l’extrait hydrométhanolique de *Mentha pipérита* concentré à 20 et 40 %

Toute fois ,en fonction de l’augmentation de la concentrat de l’extrait de 60 à80 et 100% les diamètres d’inhibitions ont connu de nettes ($p<0.01$) élévations ; de 2 à 17.7 et à23.5 mm chez les *Lactobacillus bulgaricus* et de 7.3 à12.6 et à19.5 mm chez les *streptococcus thermophilus*.

La gentamicine c’est démarquée par des diamètres d’inhibition meilleures ($p<0.01$) que les solutions d’extrait expérimentales ;de l’ordre de 39mm chez les *Lactobacillus bulgaricus* et de 31 mm en moyenne chez les *Streptococcus thermophilus* (**Tableau 05**).

Tableau 5. Effets de l’extrait hydo-méthanolique de *Mentha pipérита* sur les diamètres d’inhibitions (mm) des germes spécifiques du yaourt

Germes	Concentrations de l’extrait hydo-méthanolique de <i>Mentha pipérита</i> (%)						Effet des concentrations d’extrait de menthe
	Gentamicine	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> (mm)	39 ^a	0 ^d	0 ^d	2 ^d	17.7 ^c	23.5 ^b	$p<0.01$
<i>Streptococcus Thermophilus</i> (mm)	31 ^a	0 ^e	0 ^e	7.3 ^d	12.6 ^c	19.6 ^b	$p<0.01$

Les résultats sont exprimé en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; UFC : unité formant colonies ; $p>0.05$: effet non significatif du facteur étudié (concentrations en extrait hydrométhanolique de la menthe poivrée) ; $p<0.05$: effet significatif du facteur étudié ; $p<0.01$ effet hautement significatif du facteur étudié a,b,c..ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux a deux selon le test de Newman et Keuls.

1-1-4 Taux d'inhibition :

Les taux d'inhibition des deux germes spécifiques du yaourt sont nulles en présence d'extrait à 20 et 40%. Par rapport à la gentamicine, l'augmentation de la concentration d'extrait hydrométhanolique de la Menthe de 60 à 80 et à 100% s'est traduit par des fortes élévations ($p < 0.01$) des taux d'inhibitions des germes testés ; de 5.1 à 59% chez les *Lactobacillus bulgaricus* et de 25.3 à 67.8% chez les *Streptococcus thermophilus*. (Tableau 06)

Tableau 6. Effets de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipéríta* sur le taux d'inhibition des germes spécifiques du yaourt

Germes	Concentration de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha pipéríta</i> (%)						Effet des concentrations d'extrait de menthe
	Gentamicine	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	100 ^a	0 ^d	0 ^d	5.1 ^d	45.3 ^c	59.8 ^d	$p < 0.01$
<i>Streptococcus thermophilus</i>	100 ^a	0 ^e	0 ^e	25.3 ^d	33 ^c	67.8 ^d	$p < 0.01$

Les résultats sont exprimé en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions $n=3$; UFC : unité formant colonies ; $p > 0.05$: effet non significatif du facteur étudié (concentration en hydrométhanolique de la menthe poivrée) ; $p < 0.05$: effet significatif du facteur étudié ; $p < 0.01$ effet hautement significatif du facteur étudié a, b, c.ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux a deux selon le test de Newman et Keuls.

1.1.5 Concentration Minimales Inhibitrices :

La concentration minimale inhibitrice chez *Streptococcus thermophilus* à été remarquée à 20% d'extrait hydrométhanolique de Menthe poivrée ; alors que chez les *Lactobacillus bulgaricus* elle à été enregistrée plutôt à 40% d'extrait de la plante (**Tableau 07**)

Tableau 07. Evaluation des CMI de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta* vis-à-vis des deux germes spécifiques du yaourt :

Critères		Concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha pipérta</i> (%)					
		0	20%	40%	60%	80%	100%
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>							
	di	0,159	0,295	0,515	0,426	0,683	0,671
	df	0,217	0,308	0,509	0,419	0,601	0,579
	df-di	0,058	0,013	-0,006	-0,007	-0,082	-0,092
	S%	100	22,45	0	0	0	0
CMI= Extrait a 40%							
<i>Streptococcus thermophilus</i>							
	di	0,259	0,235	0,239	0,343	0,451	0,412
	df	0,154	0,408	0,483	0,548	0,605	0,583
	df-di	-0,105	0,173	0,244	0,205	0,154	0,171
	S%	100	0	0	0	0	0
CMI=Extrait a 20%							

CMI : Concentration Minimales Inhibitrices, **LB :** *Lactobacillus bulgaricus* ; **ST :** *Streptococcus thermophilus* ; **S :** Taux de survie du microorganisme en % ; **df-di :** différence de densité optique dans la solution d'extrait de Menthe ensemencée avant et après incubation à 37°C durant 24 heures ; **df :** densité optique après l'incubation ; **di :** densité optique avant l'incubation.

1-1-6 Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) :

Les concentrations minimales bactéricides ont été constatées dans les solutions d'extrait concentrées à 40 et à 60% pour respectivement *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.(Figure 17).

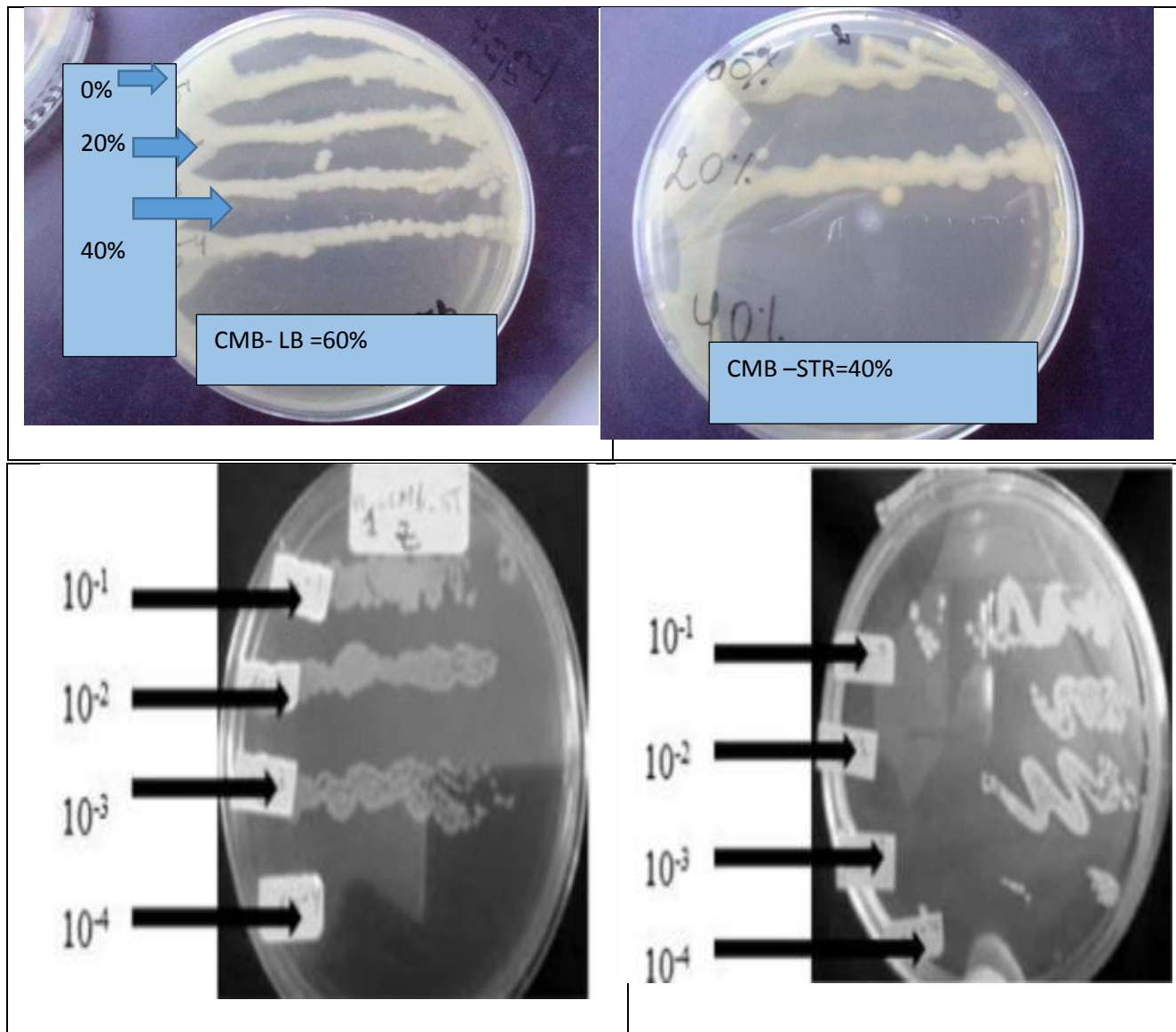


Figure17 : Evaluation des CMB de l'extrait hydrométhanolique de *Mentha pipérta* vis-à-vis des deux germes spécifiques du yaourt.(ST : *Streptococcus thermophilus* ;LB : *Lactobacillus bulgaricus*).

1.1.7 Types d'inhibitions de l'extrait hydro-méthanolique de la menthe poivrée (*Mentha pipérta*):

Selon le rapport CMB/CMI il apparait que l'extrait hydrométhanolique de *Mentha pipérta* exerce un pouvoir antimicrobienne de type bactéricide vis à vis des deux germes du yaourt ; *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Tableau 06).

Tableau 08. Types d'inhibitions de l'extrait hydro-méthanolique de la menthe poivrée vis-à-vis des germes spécifiques du yaourt.

Germes	CMI	CMB	CMB/CMI	Type d'inhibition
<i>Streptococcus thermophilus</i>	20%	40%	2	Bactéricide
<i>Lactobacillus Bulgaricus</i>	40%	60%	1.5	Bactéricide
Normes	D'après (Olivier 2007) : $CMB/CMI \leq 2$ (effet bactéricide) $CMB/CMI \geq 2$ (effet bactériostatique)			

1-2 Essai d'incorporation de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta* dans un lait fermenté type yaourt étuvé :

1-2-1 Qualité physicochimique :

1-2-1-1 pH

En fonction du temps, du début de la période de fermentation jusqu'au terme de la période de poste acidification le pH des laits fermentés expérimentaux (sans et avec extrait de *Mentha pipérta*) à nettement diminué de 5.93 à 4.6.

En fin, de la phase de fermentation, les résultats de Ph mesurées s'avèrent proportionnelles ($p < 0.01$) au taux d'extrait variables (de 0, à 2, à 4 et à 6%) ajoutés dans les produits expérimentaux ; 4.08, 4.11, 4.14, 4.17, en moyenne, respectivement.

Par ailleurs, durant la période de post acidification, c'est uniquement au 14^{em} jours de conservation que cette tendance est maintenue, avec des niveaux de pH qui ont varié ($p < 0.01$) de 4.28, à 4.26, à 4.44 et à 4.48 en fonction de l'augmentation des quantités d'extrait incorporées dans les produits. (**Tableau 09**)

Tableau 09. Effets d'incorporations de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérита* sur les variations du pH des laits fermentés :

Périodes		Taux d'incorporations d'extrait de <i>Mentha pipérита</i>				Moyennes	Effets de l'incorporation de l'extrait
		0%	2%	4%	6%		
Fermentation	0 H	6.1 ^a ± 0.031	6.01 ^a ± 0.04	5.92 ^a ± 0.199	5.7 ^b ± 0.15	5,925	p<0.01
	2 H	4.27 ^c ± 0.061	4.42 ^b ± 0.036	4.44 ^b ± 0.021	4.55 ^a ± 0.046	5,17	p<0.01
	4 H	4.08 ^c ± 0.025	4.11 ^b ± 0.006	4.14 ^{bc} ± 0.01	4.17 ^a ± 0.015	4,1075	p<0.01
Post acidification	7 J	4.6 ^a ± 0.101	4.52 ^b ± 0.02	4.46 ^b ± 0.025	4.43 ^b ± 0.012	4,5025	p<0.01
	14 J	4.28 ^c ± 0.06	4.26 ^c ± 0.029	4.44 ^b ± 0.025	4.48 ^a ± 0	4,365	p<0.01
	21J	4.55 ^a ± 0.124	4.38 ^b ± 0.032	4.58 ^a ± 0.029	4.49 ^{ab} ± 0.012		p<0.05
Moyennes		4,735	4,68	4,60	5,02		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts types correspondants avec un nombre de répétitions n=3, H : heures ; J : jours. p> 0.05 : effet non significatif du facteur étudié (taux d'extrait hydrométhanolique incorporés dans le yaourt) ; p<0.05 : effet significatif du facteur étudié ; p<0.01 : effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c, ...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ;

1-2-1-2 Acidité :

Du début de la période de fermentation à la fin de la période de post acidification l'acidité des laits fermentés a connu des hausses notables et variables de 21 à 90°D, en moyenne.

En fin de fermentation, l'augmentation des taux d'incorporations de l'extrait hydrométhanolique de la menthe poivrée de 0, à 2, à 4 et à 6 % s'est accompagnée d'une baisse notable ($p < 0.01$) de l'acidité titrable dans les produits ; 90, à 86, à 82, et à 79 °D, respectivement.

Cette tendance, semble maintenue au 7^{em} jours et au 21^{em} jours de la période de post acidification ou les valeurs de l'acidité ont diminué en fonction des quantités d'extrait ajoutées ; (de 105, à 85) et de (104, à 81 °D) en moyenne, successivement (**Tableau 10**).

Tableau 10. Effets d'incorporations de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérита* sur les variations de l'acidité des laits fermentés type yaourt :

Périodes		Taux d'incorporations d'extrait de <i>Mentha pipérита</i>				Moyennes	Effets d'incorporation de l'extrait
		0%	2%	4%	6%		
Fermentation	0 H	24 ^a ± 1	21 ^b ± 0.577	20.66 ^b ± 1	19 ^b ± 1	21,15	p<0.05
	2H	72 ^a ± 3.606	61.33 ^b ± 0.577	59 ^b ± 1	50 ^c ± 1	60,5825	p<0.01
	4 H	90.33 ^a ± 1.13	86 ^{ab} ± 1.5	82 ^{bc} ± 0	79 ^c ± 0.577	66,3325	p<0.01
Post acidification	7 J	105 ^a ± 3	95.6 ^b ± 3.05	91.33 ^b ± 4.04	85 ^c ± 1	74,9825	p<0.01
	14 J	104 ^b ± 10.9	128 ^a ± 3.46	103.3 ^{bc} ± 4.1	95.6 ^c ± 2.08	90,225	p<0.05
	21 J	104.66 ^a ± 4.6	94 ^b ± 5.2	81.6 ^c ± 3.5	81 ^c ± 1	70,315	p<0.01
Moyennes		84,331	65,655	60,471	55,266		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts types correspondants avec un nombre de répétitions n=3; H : heures ; J : jours., $p > 0.05$: effet non significatif du facteur étudié (taux d'extrait hydrométhanolique incorporés dans le yaourt) ; $p < 0.05$: effet significatif du facteur étudié ; $p < 0.01$: effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c, ...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls

1-2-1-3 Viscosité :

Durant l'expérimentation la viscosité à tendance à augmenté de 0.8, à 26.65 m²/s de 0 heure à 4 heures de fermentation puis de 37.27 à 41.46 m²/s du 7^{ème} jours au 14^{ème} jours de post acidification pour diminuer en fin de la phase de conservation après 21 jours à 37.75 m²/s ; en moyenne.

Après 4 heures de fermentation la viscosité s'avère inversement proportionnelle ($p < 0.01$) aux taux d'extrait de la menthe incorporés ; les faibles valeurs ($19.92 \text{ m}^2/\text{m}$) ont été surtout observées dans les produits à 6% d'extrait par comparaison au témoin ayant observé de meilleurs ($p < 0.01$) résultats ($34.28 \text{ m}^2/\text{s}$)

Par ailleurs, au cours de la période de post acidification les laits fermentés additionnés d'extrait de *Mentha pipéríta* à des taux sévères de 4 et 6% ont accusé de médiocres valeurs de viscosité, par rapport au témoin standard ($p < 0.01$) : (33.77 vs 23.55 vs $56.75 \text{ m}^2/\text{s}$), au 7^{ème} jours ; (26.8 vs 12.16 vs $64.62 \text{ m}^2/\text{s}$), au 14^{ème} jours et 10.22 vs 8.38 vs $68.11 \text{ m}^2/\text{s}$ au 21^{ème} jours (**Tableau 11**).

Tableau 11 .Effets d'incorporations de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipéríta* sur les variations de la viscosité des laits fermentés type yaourt .

Périodes		Taux d'incorporations d'extrait de <i>Mentha pipéríta</i>				Moyennes	Effets de l'incorporation de l'extrait
		0%	2%	4%	6%		
Fermentation	0 H	0.895 ± 0.082	0.848 ± 0	0.848 ± 0	0.754 ± 0.082	0,85	$p > 0.05$
	2H	18.369 ^a ± 0.424	13.94 ^b ± 2.652	9.797 ^c ± 1.002	6.406 ^d ± 1.511	12,12	$p < 0.01$
	4H	34.28 ^a ± 0.571	29.95 ^b ± 1.713	22.467 ^b ± 0.787	19.92 ^d ± 0.648	26,65	$p < 0.01$
Post acidification	7 J	56.75 ^a ± 9.71	34.99 ^b ± 1.313	33.77 ^b ± 0.85	23.55 ^b ± 3.37	37,27	$p < 0.01$
	14 J	64,621 ^a ± 3,614	62,266 ^b ± 20,001	26,8 ^c ± 2,489	12.16 ^d ± 3.1	41,46	$p < 0.05$
	21 J	68,107 ^a ± 13,565	64,339 ^a ± 22,666	10,221 ^b ± 2,195	8,384 ^b ± 0,216	37.75	$p < 0.01$
Moyennes		40,5	34,38	17,31	11,86		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts types correspondants avec un nombre de répétitions $n=3$, H : heures ; J : jours $p > 0.05$: effet non significatif du facteur étudié (taux d'extrait hydrométhanolique incorporés dans le yaourt) ; $p < 0.05$: effet significatif du facteur étudié ; $p < 0.01$: effet hautement significatif du facteur étudiés ; a, b, c, ...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ;

1-2-2 Dénombrement des germes spécifiques du yaourt :

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

Durant les deux périodes expérimentales de fermentation et de post acidification le nombre de *Streptococcus thermophilus* à varié dans l'ensemble des échantillons expérimentaux de 156.10^5 à 229.10^5 UFC/ml de 0 à 4

heures de fermentation, suivi d'une diminution à 131.10^5 au 14^{em} jours d'entreposage et enfin d'une élévation à 184.10^5 UFC/ml en moyenne au 21 jours.

Après 4 heures de fermentation, l'essai à 6% d'extrait à accusé une faible ($p<0.01$) charge en *Streptococcus thermophilus* par comparaison au témoin ; 146.10^5 Vs 286.10^5 UFC/ml . Cependant, à des taux d'incorporations de 2 ,4 , et 6% d'extrait hydrométhanolique ,les produits n'ont présenté aucune différence des résultats ($p<0.01$) par rapport à ceux du témoin ; 220.10^5 Vs à 286.10^5 UFC/ml ,en moyenne.

Apparemment, au cours de la périodes de post acidification, l'accroissance du taux d'extrait de la menthe de 0 à 6% s'est manifeste de nette baisses microbiens ($p<0.01$) ; de 275.10^5 à 45.10^5 au 7^{eme} jours ; de 241.10^5 à 31.10^5 , au 14^{eme}jour et de 311.10^5 à 58.10^5 UFC /ml au 21^{eme} jours (**Tableau 12**)

Tableau 12. Effets d'incorporations de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus* ($N.10^5$ UFC/ml) :

Périodes		Taux d'incorporations d'extrait de <i>Mentha pipérta</i>				Effets de l'incorporation de l'extrait
		0%	2%	4%	6%	
Fermentation	0 H	205 ^a	183 ^{ab}	146 ^b	93 ^c	$p<0.05$
	2 H	266 ^a	238 ^a	205 ^a	79 ^b	$p<0.05$
	4 H	286 ^a	264 ^a	220 ^a	146 ^b	$p<0.05$
Post acidification	7 J	275 ^a	194 ^b	107 ^c	45 ^d	$p<0.01$
	14 J	241 ^a	157 ^b	95 ^b	31 ^c	$p<0.01$
	21 J	311 ^a	294 ^a	74 ^b	58 ^b	$p<0.01$

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes ,avec un nombre de répétitions $n=3$, $p> 0.05$: effet non significatif du facteurs étudié (taux d'extrait hydrométhanolique incorporés dans le yaourt) ; $p<0.05$: effet significatif du facteur étudié ; $p<0.01$: effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c, ...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ;N :nombre de germes ; H : heures ; J : jours ; UFC : unité formant colonies .

1-2-2-2 *Lactobacillus bulgaricus* (10^5 UFC/ml) :

Du de but jusqu'à la fin de l'expérimentation, il est remarqué de nettes diminutions ($p<0.01$)de la prolifération des germes *Lactobacillus bulgaricus* en fonction l'adjonction croissant de 0 à 6% d'extrait de la menthe dans les produits ; soit des baisses considérables notamment (de 292.10^5 à 82.10^5 UFC/ml)

à 4 heure de fermentation et de (200.10^5 à 8.10^5 UFC/ml)en fin de la période de post acidification , après 21 jours de stockage (**Tableau 13**)

Tableau 13. Effets d’incorporations de l’extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta* sur la croissance des *Lactobacillus bulgaricus*($N.10^5$ UFC/ml) .

Périodes		Taux d’incorporations d’extrait de <i>Mentha pipérta</i>				Effets de l’incorporation de l’extrait
		0%	2%	4%	6%	
Fermentation	0 H	187 ^a	163 ^a	96 ^b	46 ^b	p<0.01
	2 H	219 ^a	202 ^a	118 ^b	64 ^b	p<0.05
	4 H	292 ^a	288 ^a	234 ^a	82 ^b	p<0.01
Post acidification	7 J	300 ^a	292 ^a	222 ^b	41 ^c	p<0.01
	14 J	265 ^a	146 ^b	96 ^c	16 ^d	p<0.01
	21 J	200 ^a	104 ^b	84 ^b	8 ^b	p<0.01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n=3, p> 0.05 : effet non significatif du facteur étudié (taux d’extrait hydromethanolique incorporés dans le yaourt) ; p<0.05 : effet significatif du facteur étudié ; p<0.01 : effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c, ...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ;N :nombre de germes ; H : heures ; J : jours ; UFC : unité formant colonies .

1-2-3 Qualité organoleptique :

1-2-3-1 Critères gustatifs

Durant, la période de post-acidification, en fonction des taux d’incorporation de l’extrait hydromethanolique de menthe variables de (0,2,4 à 6%)les laits fermentés s’avèrent d’avantage altérer

($P < 0.01$) au plan du goût acide, de la fraîcheur et de l'arrière-goût ; avec des moyennes des sommes des rangs qui ont augmenté de (14.25 à 128.25, à 30.75 et à 37) de (15.25, à 19.12, à 26.5, 39.37) et de (15.25 à 18, à 28.25 et à 36), respectivement (**tableau 14**)

Tableau 14 . Variations sensorielles des critères gustatifs (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt additionnés d'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta* au cours de la période de post acidification ;

Périodes (jours)		Taux d'incorporations de l'extrait hydromethanolique de <i>Mentha pipérta</i>				Effet d'incorporation d l'extrait hydromethanolique de la menthe
		0%	2%	4%	6%	
Goût acide	1 j	14 ^c	19 ^c	27.5 ^b	39 ^a	p<0.01
	7j	14 ^c	18 ^b	33 ^a	36 ^a	p<0.01
	14j	14 ^b	18 ^b	33 ^a	36 ^a	p<0.01
	21j	14.5 ^c	18 ^c	29.5 ^b	38.5 ^a	p<0.01
	Moyennes des somme des rang	14.25	18.25	30.75	37	
Goût de fraîcheur	1 j	14.5 ^d	20.5 ^c	26.5 ^b	38.5 ^a	p<0.01
	7j	14.5 ^c	18.5 ^c	27.5 ^b	39.5 ^a	p<0.01
	14j	16 ^c	19.5 ^c	26 ^b	38.5 ^a	p<0.01
	21j	16 ^c	18 ^c	27 ^b	39 ^a	p<0.01
	Moyennes des somme des rangs	15.25	19.12	26.5	39.37	
Arrière-goût	1 j	15.5 ^c	2.18.5 ^c	27.5 ^b	39.5 ^a	p<0.01
	7j	15.5 ^b	17.5 ^b	27.5 ^a	39.5 ^a	p<0.01
	14j	15 ^c	17.5 ^c	28.5 ^b	39 ^a	p<0.01
	21j	15 ^c	18.5 ^c	29.5 ^b	38 ^a	p<0.01
	Moyenne des somme des rangs	15,25	18	28.25	36	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs, avec un nombre de panelistes n=10 ; $p > 0.05$: effet non significatif du facteur étudié (taux d'extrait hydromethanolique incorporés dans le yaourt) ; $p < 0.05$: effet significatif du facteur étudié ; $p < 0.01$: effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c, ...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1-2-3-3 Adhésivité et Cohésivité :

Au cours de l'expérimentation du 1^{er} du 21^{ème} jours de la période de post-acidification il s'avère que l'adhésivité et la cohésivité sont nettement détériorées avec l'augmentation de la dose de (0 à 2, à 4 et 6%) de l'extrait hydromethanolique de *Mentha pipérta* ($P < 0.01$) ; soit des moyennes des sommes des rangs respectifs de (15.12, 18.25, 29.25 et 39.37) vs (14.5, 19.28 et 38.5) (**tableau 15, tableau 16**)

Tableau 15. Variations sensorielles de l'adhévisité (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt additionnés d'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipéríta* au cours de la période de post acidification .

Périodes (jours)	Taux d'incorporations de l'extrait hydromethanolique de <i>Mentha pipéríta</i>				Effet d'incorporation de l'extrait hydromethanolique de la menthe
	0%	2%	4%	6%	
1j	15.5 ^d	20 ^c	26.5 ^b	40 ^a	p<0.01
7j	15 ^c	18 ^c	33.5 ^b	39.5 ^a	p<0.01
14j	14.5 ^c	18 ^c	28.5 ^b	39 ^a	p<0.01
21j	15.5 ^c	17 ^c	28.5 ^b	39 ^a	p<0.01
Moyenne des sommes des rangs	15.125	18.25	29.25	39.37	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre de panelistes n=10 ; p> 0.05 : effet non significatif du facteur étudié (taux d'extrait hydromethanolique incorporés dans le yaourt) ; p<0.05 : effet significatif du facteur étudié ; p<0.01 : effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c, ...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Tableau 16. Variations sensorielles de la cohésivité (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt additionnés d'extrait de *Mentha pipéríta* au cours de la période de post acidification :

Périodes (jours)	Taux d'incorporations de l'extrait hydromethanolique de <i>Mentha pipéríta</i>				Effet d'incorporation de l'extrait hydromethanolique de la menthe
	0%	2%	4%	6%	
1 j	15 ^c	19 ^c	28 ^b	38 ^a	p<0.01
7j	14 ^d	20.5 ^c	28 ^b	38.5 ^a	p<0.01
14j	15.5 ^c	18.5 ^c	27 ^b	40 ^a	p<0.01
21j	14.5 ^c	18 ^c	29 ^b	38.5 ^a	p<0.01
Moyennes des sommes des rangs	14.5	19	28	38.5	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre de panelistes n=10 ; p> 0.05 : effet non significatif du facteur étudié (taux d'extrait hydromethanolique incorporés dans le yaourt) ; p<0.05 : effet significatif du facteur étudié ; p<0.01 : effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c, ...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1-2-3-3 Odeur et couleur

Il apparaît, au cours de l'expérimentation, du 1^{er} au 21^{ème} jours que l'incorporation de l'extrait de menthe poivrée à 2 et 4 % améliore le critère odeur qui a été ainsi mieux apprécié par les dégustateurs par rapport au témoin ; 18.5 VS 14.75 VS 27.87, sommes des rangs en moyenne.

Durant cette période, pour le critère couleur, les meilleurs résultats, ($P < 0.01$) par rapport au yaourt témoin ont été décelés avec l'essai préparé à 2 % d'extrait de la plante ; 15.87 VS 17.5 somme des rangs en moyenne (**Tableau 17, Tableau 18**)

Tableau 17. Variations sensorielles de l'odeur (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt additionnés d'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta* au cours de la période de post acidification ;

Périodes (jours)	Taux d'incorporations de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha pipérta</i>				Effet d'incorporation de l'extrait hydrométhanolique de la menthe
	0%	2%	4%	6%	
1 j	29 ^b	18.5 ^c	15 ^c	38.5 ^a	$p < 0.01$
7j	27 ^b	18 ^c	15 ^c	40 ^a	$p < 0.01$
14j	29 ^b	18.5 ^c	14 ^c	38.5 ^a	$p < 0.01$
21j	40 ^b	19 ^c	15 ^c	40 ^a	$p < 0.01$
Moyennes des sommes des rangs	27.875	18.5	14.75	39.25	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre de panélistes $n=10$; $p > 0.05$: effet non significatif du facteur étudié (taux d'extrait hydrométhanolique incorporés dans le yaourt) ; $p < 0.05$: effet significatif du facteur étudié ; $p < 0.01$: effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c, ...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Tableau 18. Variations sensorielles de la couleur (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt additionnés d'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérита* au cours de la période de post acidification :

Périodes (jours)	Taux d'incorporations de l'extrait hydromethanolique de <i>Mentha pipérита</i>				Effet d'incorporation de l'extrait hydromethanolique de la menthe
	0%	2%	4%	6%	
1 j	13.5	19.5	29.5	37.5	p>0.05
7j	17 ^c	16.5 ^c	28.5 ^b	39 ^a	p<0.01
14j	19.5 ^c	14 ^d	26.5 ^b	40 ^a	p<0.01
21j	20 ^c	13.5 ^d	27.5 ^b	39 ^a	p<0.01
Moyennes des sommes des rangs	17.5	15.875	28	38.875	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre de panélistes n=10 ; p> 0.05 : effet non significatif du facteur étudié (taux d'extrait hydromethanolique incorporés dans le yaourt) ; p<0.05 : effet significatif du facteur étudié ; p<0.01 : effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c, ...ete : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

2- Discussion

2-1-Effets antimicrobiens sur les germes spécifiques du yaourt :

D'après les tests antimicrobiens préliminaires effectués, il peut être supposé que les taux de croissance des germes spécifiques du yaourt varient d'une façon inversement proportionnelle en fonction de la concentration d'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta L*; plus la concentration de l'extrait de la plante augmente de 0, à 20, à 40, à 60 ; à 80 et 100% plus le taux de croissance de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* diminue et plus le taux d'inhibition de ces germes augmente. L'efficacité de l'extrait pur a inhibé la prolifération des souches spécifiques du yaourt à été dévoilé par la méthode des disques dont des diamètres d'inhibitions enregistrés chez les deux germes *Streptococcus thermophilus*, ainsi que *Lactobacillus bulgaricus* variables de (23.5 à 19.6 mm) étaient proches à 63% de la gentamicine ; antibiotique à large spectre (**Brut ;2004 et Skandamis et al ; 2001**)

L'analyse de la CMI et la CMB a aussi montré que les germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* sont très sensibles à l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta L* qui a exercé un effet de type bactéricide chez les deux microorganismes étudiés spécifiques du yaourt.

Les travaux de (**Andamis , 2001**) ont révélé que 29% des extraits de la *Menthe Poivrée* testés soit à l'eau ou aux solvants organiques dont l'éthanol et le méthanol notamment ont présenté au fait de fortes activités antimicrobiennes contre les bactéries Gram (+) ; alors que seulement 13% des extraits étaient actifs contre les souches à Gram (-).

La menthe poivrée (*Mentha Pipérta L*) est en effet une source de plusieurs composés bioactifs de nature surtout phénoliques, très intéressantes pour l'activité antimicrobiennes ; ils sont représentés surtout par les flavonoïdes, les tannins, hétérosides, d'aspégénine, la diosmétine, la tuteoline, et le flavone polyméthosite (**Brut ;2004 et Skandamis et al ; 2001**). Le méthanol aqueux utilisé comme

solvant d'extraction des principaux composés phénoliques de la plante objet de l'étude à permis d'avoir par macération selon la méthode de (Soltana et al.,2009) un extrait riche en composés phénoliques a fort pouvoir antimicrobien.

L'activité antimicrobienne de ces composés résulte probablement d'une combinaison de plusieurs modes d'actions, impliquant différents cibles cellulaires (Brut ;2004 et Skandamis et all ; 2001).

Cette action des composés phénoliques sur les cellules des microorganismes est basée sur une multiplicité d'influences incluant la synthèse des protéines, agissant sur l'ADN ainsi que les activités enzymatiques de la bactérie (Lucke et al ; 1995).. Celles-ci n'impliquent pas seulement un mécanisme physique ; mais aussi chimique et biochimique. Les polyphénols, notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leurs toxicités vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de cette toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (protéase et hydrolase) ou à d'autres interactions susceptibles d'inactiver les protéines de transports, et de lyser la paroi cellulaire (Cowan, 1999).

2-2-Impact d'ajout d'extrait de menthe poivrée sur la qualité d'un lait fermenté (type yaourt) :

D'une façon globale, durant la période de fermentation et de post-acidification les laits fermentés expérimentaux sont caractérisés par une nette diminution du pH de 5.93 à 4.6 en moyenne accompagnées d'augmentations remarquables d'acidité Dornic en moyenne de 21 à 90°D. Cette réduction du pH est la conséquence d'une fermentation du lactose du lait en acide lactique effectuée par les souches spécifique du yaourt (Cachonet al., 1998). Toutefois, durant l'expérimentation l'acidité des produits n'a pas dépassé les normes admises commercialement de 150°D (Loones, 1989).

Apparemment, l'acidité des laits fermentés préparés à l'extrait de menthe est nettement plus faible que le témoin (91.87 vs 101°D). Cette diminution de l'acidité est certainement en relation avec la concentration en composées phénoliques a fort pouvoir antimicrobien dans l'extrait de menthe ajouté au yaourt ; ce qui a affecté sans doute l'activité fermentaire des germes *Streptococcus*

thermophilus et *Lactobacillus bulgaricus* responsables de la fermentation du lactose du milieu en acide lactique (Loones, 1989).

L'évolution des valeurs moyennes de la viscosité des laits fermentés expérimentaux à son tour connaît une augmentation de 0.8 à 41.46 en moyenne depuis le début jusqu'au 21^{ème} jour de conservation des produits au froid à 4°C. Ces réponses peuvent être expliquées par le fait que les souches spécifiques du yaourtensemencées dont notamment les *Streptococcus thermophilus* présentent la capacité de produire au cours de la fermentation des macromolécules de type glucidiques appelées exopolysaccharides, ayant la faculté d'augmenter la viscosité et d'améliorer l'onctuosité du yaourt tout en modifiant sa texture (Meilee et Chen, 2004).

En effet les *Streptococcus thermophilus* ramenés à de fortes doses dans le lait peuvent au cours de leurs croissances sécréter d'avantage d'exopolysaccharides (EPS) dans le milieu, sorte de fibres polysaccharidiques composés du galactose, glucose ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose capables d'augmenter la viscosité du milieu (Bergamaier, 2002). Ces exopolysaccharides produits a de faible quantités chez les *Lactobacillus bulgaricus* durant la période de poste-acidification sont des composés glucidiques constitués particulièrement de β glucane et de β fructane capables de se lier aux caséines des laits avec comme conséquence un léger accroissement de la viscosité des yaourts (Cerniver et al., 1986).

Selon (luquet, 1994), durant la période de post acidification l'activité des *Streptococcus thermophilus* n'est pas totalement arrêtée ; mais elle est moins importante comparativement à celle de *Lactobacillus bulgaricus* qui produisent non seulement de l'acide lactique par fermentation du lactose mais éventuellement une légère quantité d'agents texturants.

Le yaourt est caractérisé par une saveur acide due à la présence de lactate. 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 (*Biliaderis et al., 1992 ;Weber, 1994*). Ainsi, les réarrangements protéiques qui ont lieu ou les interactions-protéines sont favorisés par les liaisons de faibles énergies (hydrogènes, hydrophobes,...) en fonction des variations du pH du milieu, engendrent souvent une augmentation de la viscosité au cours du temps (*Abu jdayil, 2002*).

Durant la conservation, la viscosité des produits notamment a des taux sévères d'extrait de 6% de menthe est toutefois diminuée relativement, surtout à partir du 14^{ème} jour de conservation. Cette baisse de la viscosité constatée dans les échantillons expérimentaux par comparaison au témoin résulte assurément de l'action inhibitrice antimicrobienne qu'a exercé vis-à-vis des souches spécifiques du yaourt les composés phénoliques contenus dans l'extrait de *Mentha pipérита* ajouté comme additif naturel à différentes concentrations dans les laits fermentés et qui ont provoqué à des doses surtout élevés de 6% d'incorporations une baisse de la production d'exopolysaccharides (EPS) et de la viscosité du milieu en conséquence d'une moindre activité microbienne des *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Ceci a été bien confirmé par les panelistes lors des tests de dégustation effectuée au cours de la période de post acidification qui ont bien noté que l'adhésivité et la cohésivité sont nettement ($p < 0.01$) altérés en fonction de la quantité d'extrait de menthe poivrée ajouté aux laits fermentés expérimentaux.

Globalement, les bactéries lactiques spécifiques du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*)ensemencées simultanément dans les produits ont été retrouvées à l'état vivant et a un taux normal de 10^7 UFC/ml (**Libnor, 1999**), du 1^{er} jusqu'à la date limite de consommation fixée dans cette étude d'environ 21 jours.

Le nombre élevé de *Streptococcus thermophilus* à la fin de fabrication des laits fermentés est lié au fait qu'ils sont responsables du démarrage de la fermentation lactique du yaourt ; leur croissance est stimulée par les acides aminés libérés suite à l'activité protéolytique des *Lactobacillus*. Durant la phase de post-acidification lorsque le milieu devient plus ou moins acide la croissance des germes *Streptococcus thermophilus* est freinée ; alors que le *Lactobacillus bulgaricus* continue relativement à croître et à produire du lactate (Guyot, 1992). Ceci explique la nette diminution du nombre de *Streptococcus thermophilus* durant la période de post-acidification.

La croissance des bactéries lactiques a été aussi relativement faible dans le cas des yaourts additionnés de l'extrait hydro-méthanolique de menthe. Cette sensibilité est due certainement à la concentration en composés phénoliques dans l'extrait ajouté aux produits surtout à des fortes concentrations de 6 % d'extrait de menthe. Les composés phénoliques, notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leurs toxicités et leurs pouvoirs antimicrobiens vis-à-vis des microorganismes à Gram (+) (Andamis ; 2001)

Enfin, il s'avère possible d'incorporer l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérita L* riche en composés phénoliques surtout à de faibles taux de 2 et 4 % et produire un lait fermenté fonctionnel alicament pouvant répondre au souhait des consommateurs à la recherche sans cesse croissante de nouveaux produits naturels à vertus bénéfiques pour la santé.

Conclusion

Conclusion

Au terme de cette étude et à la lumière des résultats obtenus il est prouvé que l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha pipérta* L (menthe poivrée) , collecté à Ouargla-Algérie , riche en principaux composés phénoliques ,exerce une fort activité antimicrobienne de type bactéricide chez les deux germes spécifiques du yaourt étudiés à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

L'effet antimicrobien de l'extrait de la plante a montré toutefois, qu'il est possible d'incorporer l'extrait à une concentration de moins de 20% dans les produits alimentaires sans affecter remarquablement la croissance surtout des *Streptococcus thermophilus* (à 99.2%) et dans une moindre mesure aussi à (74.6%) celle des *Lactobacillus bulgaricus*.

Cependant ,il apparait , au cours des deux périodes d'essais pratiques de fermentation et de post acidification que l'ajout de l'extrait pur même à de faibles doses de 0 , 2, 4, et 6% le nombre des germes spécifiques du yaourt a tendance à diminuer graduellement avec les concentrations de la plant ajoutées sans toutefois dépasser la normale de 10^7 germes vivants /ml

Cette baisse, en nombre de germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* s'est traduite à chaque augmentation de la dose d'extrait d'une altération notable du pH , de l'acidité , de la viscosité , de l'adhésivité ,de la cohésivité ,et de certains critères organoleptique tels que le goût acide , l'arrière-gout ainsi que le goût de fraîcheur des produits .

Néanmoins, il semble possible d'incorporer l'extrait de *Mentha pipérta* L jusqu'à un seuil de 4% sans que la qualité des produits fermentés ne soit affectée. L'échantillon préparé à 4% à été même très bien apprécié par les dégustateurs au plan de l'odeur par rapport au yaourt témoin.

En perspective, il est souhaitable de reconduire cette étude afin de confirmer les résultats trouvés. Il serait intéressant, aussi, d'étudier le profil des composés phénoliques de l'extrait afin de connaître exactement les principes actifs qui affectent ou pas la croissance des germes spécifiques du yaourt. Un essais de toxicité dans le cas de cette étude s'impose avant de proposer l'utilisation de l'extrait de menthe à l'échelle industrielle.

Références

Référence :

- AÏLI. S, CARAFFA .N, et PERROTI C; 1999-** Se soigne par les plantes. BERTI Edition p59.
- ABBANI B et ABDE-LALI Y ; 2005-**contribution a l'étude de la qualité des eaux phréatiques sur l'état de dégradation de la palmeraie cuvette de Ouargla .thèse Ing, Eco, ITAS.Ouargla.p141.
- ARRIGNON. J; 1987-** Agro écologie des zones arides et subhumide Edition Maison neuve et ACCT. France. 283 p.
- BABA AISSA. F; 1999-**Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Ed librairie moderne. ROUIBA. p 172.
- BAGNOULS. F et GAUSSEN. H; 1953-** Saison sèche et indice xéothermique. Ball. Soc.Hist-Nat, Toulouse pp 193-239.
- BEKKARI. A et BENZAOUI. S ; 1991-** Contribution à l'étude de la faune des palmeraies de deux régions du Sud-Est Algérien (Ouargla, Djamaa). thèse: Ing, Agro, Sahar, ITAS.Ouargla 109 p.
- BELOUED. A ; 2001-** Plantes médicinales d'Algérie. Edition: O.P.U.ELHARRACH.Alger 274 p.
- BENSETTI. A et HACINI. H ; 2005-**Contribution à l'étude phytoécologique des plantes médicinales dans la région de Ouargla. Thèse I.E.B Ouargla. P22.
- BRUNETON. J ; 1999-** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Edition.Paris pp 533-536.
- CASTANY. G; 1982-** Principes et méthodes de l'hydrogéologie. Ed DUNOD. Paris 233p.
- DANIEL. J, RODOLPHE – EDOUARD. S, VINCENT V.S; 2002-** Botanique systématiques des plantes à fleurs (Collection biologique). 2^{ème} Edition. PPUR. 328 p.
- DAOUD. I et HALITIM. A; 1994-** Irrigation et salinisation au Sahara Algérien. Sécheresse V5. N° 3. pp 151-160.
- DEMOLON. A; 1968-** principe d'agronomie, croissance des végétaux cultivés. Tome II 6^{ème} Ed DUNOD. Paris 590 p.

ABDALLI et all .2017 : Effets antimicrobiens de l'extrait à l'Eau de *Thymus vulgaris* (Thym) récolté dans la région de Naama sur la croissance des germes spécifiques du yaourt : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. mémoire de fin d'étude.

KORICHI Sliman (2006) : mémoire de fin d'étude *En vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Sciences Biologiques.Filière Ecologie Végétale et Environnement*

Affer .M, Bouziane.T, 2013. L'effet de l'incorporation de la farine de pois chiche sur le lait fermenté type yaourt.

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

Bourgeois. CM, Larpent.J.P, 1996. Microbiologie alimentaire, Aliments fermentés et fermentation alimentaires, 2e édition, Lavoisier TEC, DOC.

Beladem.K, 2015. Effet des extraits de Menthe (*Mentha piperita*) sur la qualité d'un lait fermenté alicament type yaourt étuvé au cours de sa conservation

Driessen. F.M, 1982. Evedence that lactobacillus in yaourt is stimulated by carbon produced by streptococcus thermophilus, mill.Dairy journal N°22.p134-144.

Ghalem.K, 2014. L'effet de variation des doses de jus de citron sur la qualité physico-chimique, microbiologique et organoleptique d'un lait fermenté type yaourt étuvé.

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. Universite 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 ». 2ème 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.

Références électroniques

Anonyme1. (2015). <<http://www.doc-stock.com/en/image-pictures/201711.html>> (accessed 26.05.2015).

Anonyme2. (2015). <<http://imgbuddy.com/lactobacillus-bulgaricus.asp>> (accessed 26.05.2015).

RLF. (2015). Marché Mondial Du Yaourt - De fortes perspectives de croissance, mai 2015.

<<http://www.rlf.fr/public/index.php>> (accessed 28.05. 2015).