

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis

Mostaganem

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس

مستغانم

كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{elle} SEKKOUM Yassamina

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité: Contrôle de la Qualité des Aliments

THÈME

Effet de l'extrait hydro- méthanolique de *Mentha piperita* L.
sur la croissance du germe *Streptococcus thermophilus*
spécifique du yaourt.

Devant le jury :

Président	Mme. AIT CHABANE. O	M.C.B	U. Mostaganem
Encadreur	M. AIT SAADA.D	M.C.A	U. Mostaganem
Examineur	Mme. BENMAHDI.F	M.C.B	U. Mostaganem
Invité	Mme. GUEMIDI.C	Doctorante	U. Mostaganem

Etude réalisée au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition sise à l'Université de Mostaganem.

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.

Je voudrais tout d'abord adresser toute ma reconnaissance à mon encadreur, Monsieur AIT SAADA Djamel maitre de conférences classe A à l'université de Mostaganem, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter à enrichir se modeste mémoire.

Sans oublier de remercier aussi mon Mme.GAMEDI.C doctorante à l'université de Mostaganem d'avoir accepté de co-diriger ce travail et pour son aide et pour sa disponibilité à tous moment.

Je tiens également à remercier Mme. AIT CHABANE Ouiza maitre de conférences classe B à l'université de Mostaganem qui a accepté de présider le jury.

Je remercie éventuellement Mme. BENMAHDI Faiza maitre de conférences classe B à l'université de Mostaganem qui m'a fait l'honneur d'examiner ce mémoire

Mes remerciements s'adressent dans la même ligne de conduire à ma famille, spécialement ma mère qui m'a encouragé à tous moment pour continuer mes études et à réaliser ce mémoire; je lui souhaite un prompt rétablissement.

Et enfin, J'exprime ma reconnaissance envers tous les amis et collègues qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout le long de mes études universitaires.

Résumé :

Cette étude a été entreprise afin d'étudier l'effet antimicrobien de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha piperita* L., récolté dans la région de Ouargla-Algérie sur la croissance d'un germe spécifique du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus*. Au cours de l'expérimentation, une extraction des composées phénoliques de la menthe poivrée a été réalisée par macération à froid dans méthanol aqueux. Le solvant du filtrat a été ensuite concentré et l'extrait récupéré a été enfin dilué à 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. Les mesures et contrôles effectués ont concerné : dosage des polyphénols totaux, dosage des flavonoides, test de croissance, test de diffusion sur disque, concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). Les résultats ont subi une analyse de variance monofactorielle et une comparaison des moyennes selon le test de Newman et Keuls.

L'extrait d'hydro-méthanolique de *Mentha piperita* L., semble riche en composés phénoliques totaux (14.53 mgEAG/ml); alors qu'il s'avère contenir de faibles proportions en flavonoides (0.43 mgEQ/ml).

Cet extrait a exercé un effet inhibiteur de type bactéricide vis-à-vis de *Streptococcus thermophilus* impliquée dans la fermentation du yaourt. La CMI et la CMB de ce germe lactique ont été obtenues respectivement à 20 et 40% d'extrait de la plante.

Mots clés : *Streptococcus thermophilus*, extrait d'hydro-méthanolique, *Mentha piperita* L., menthe poivrée, composées phénoliques.

Abstract:

This study was undertaken to study the antimicrobial effect of *Mentha piperita* L. hydromethanolic extract from the Ouargla-Algérie region on the growth of a specific yogurt germ, namely *Streptococcus thermophilus*. During the experiment, extraction of phenolic compounds from peppermint was carried out by cold maceration in aqueous methanol. The filtrate solvent was then concentrated and the recovered extract was finally diluted to 0, 20, 40, 60, 80 and 100%. The measurements and control carried out concerned: determination of total polyphenols, determination of flavonoids, growth test, disc diffusion test, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (BMC). The results underwent a monofactorial variance analysis and a comparison of the Newman and Keuls means.

The hydromethanolic extract of *Mentha piperita* L., appears to be rich in total phenolic compounds (14.53 mgEAG/ml); whereas it is found to contain low proportions of flavonoides (0.43 mgEQ/ml).

This extract exerted a bactericidal inhibitory effect vis-à-vis *Streptococcus thermophilus* involved in the fermentation of yogurt. The CMI and CMB of this lactic germ were obtained at 20% and 40% of the plant extract, respectively.

Keywords: *Streptococcus thermophilus*, hydromethanolic extract, *Mentha piperita* L., peppermint, phenolic compounds.

Table des matières

Remerciements

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Partie 01 : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la Menthe poivrée 3

1. Histoire de la menthe : 3

2. Les menthes 3

3. Menthe poivrée 4

3.1. Définition 4

3.2. Noms vernaculaires 4

3.3. Origine et distribution 5

3.4. Classification 5

3.5. Description botanique 6

3.6. Culture 6

3.7. Récolte 6

3.8. Conservation 7

4. Composition chimique de la menthe poivrée 7

5. Utilisation 7

5.1. Usage culinaire 7

5.2. Usage médicinal 7

5.3. Usage artisanal et autres 8

6. Propriétés 8

6.1. Effets antioxydants 8

6.2. Effets insecticides 8

6.3. Effets antimicrobiens 8

6.4. Activité antifongique 9

7. Composées phénoliques 9

7.1. Définition 9

7.2.Répartition et variation des composées phénoliques dans la plantes	9
7.3. Biosynthèse des composées phénoliques	10
7.4. Classification des composées phénoliques	10
7.5.Rôle et l'importance des composées phénoliques	12
Chapitre II : Les bactéries spécifiques du yaourt	14
1. Généralités sur les bactéries lactiques	14
2. Genre <i>Streptococcus</i>	14
3. <i>Streptococcus thermophilus</i>	15
3.1. Définition et caractères générale	15
3.2. Classification	16
3.3. Fermentation et proto-coopération des bactéries spécifiques du yaourt	17
3.4. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt	19
a. Production d'acide lactique	19
b. Activité protéolytique	19
d. Activité aromatique	20
c. Activité texturante	20

Partie 02 : Matériel et méthodes

1. Objectifs	21
2- Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal	21
3. Extraction des composés phénoliques	21
4. Préparation des solutions d'extrait phénolique	22
5. Effets antimicrobiens.....	22
5.1. Activation des souches microbiennes.....	22
5.2. Méthode de contact direct	23
5.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose	24
5.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	26
5.5. Concentration minimale bactéricide (CMB)	27
6. Traitement statistique	28

Partie 03 : Résultats et discussion

1-Résultats	29
1.1. Composés phénoliques et flavonoïdes de <i>Mentha piperita</i> .L.	29
1.2 Effet antimicrobien de l'extrait de menthe	29
2. Discussion	31

Conclusion..... 34

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

NC : non caractérisé.

ST : *Streptococcus thermophilus*.

ppm : *partie par million*.

EPS : exo-polysaccharide

°C: degré celsuece.

UFC: Unité formant colonie

°D: degré Dornic.

NaCl: Chlorure de sodium.

pH : Potentiel d'hydrogène.

Liste des tableaux

Tableau 1. Principales classes des composées phénoliques chez les plantes (Thayumanavan et Sadasivam, 2003).	11
Tableau 2. Caractéristiques de <i>Streptococcus thermophilus</i> (Bourgeois et Larpent, 1996) ...	16
Tableau3. Interactions métaboliques entre <i>Lactobacillus bulgaricus</i> et <i>Streptococcus thermophilus</i> en culture mixte de lait (Georges et Marie, 2008).	18
Tableau 4. Teneurs en principaux composés phénoliques de l'extrait hydro-méthanolique et de la matière végétale de <i>Mentha piperita</i> L.....	29
Tableau 5. Effet antimicrobien de l'extrait hydro- méthanolique de <i>Mentha piperita</i> .L sur la croissance du germe <i>Streptococcus thermophilus</i> spécifique du yaourt.	30

Liste des figures

Figure 1. Menthe poivré (<i>mentha</i> × <i>pipérita</i> . L) (Doctissimo,2020)	4
Figure 2. Structure de base des composées phénoliques (Jean,2009)	9
Figure 3. les grandes lignes de biosynthèse des principaux groupes des composées phénoliques (Macheix.D <i>et al</i> ,2005)	10
Figure 4. Coloration � Gram positif.....	16
Figure 5. Observation au microscope électronique de <i>S.thermophilus</i> . 6250X (science source).....	16
Figure 6. Schéma des interaction métaboliques de <i>S.thermophilus</i> et <i>Lb.delbrueckii ssp.bulgaricus</i> (Tamime et Robinson,1999).....	18
Figure 7. Etapes d'extr�ction des composés phénoliques par macération.....	22
Figure 8. Méthode d'activation des <i>Streptococcus thermophilus</i>	23
Figure 9. Méthode de contact direct.	24
Figure 10. Méthode des disques par diffusion sur gélose sur milieu de Muller Hinton.....	25
Figure 11. Concentration minimale Inhibitrice(CMI).	27
Figure 12. Méthode de la détermination de la concentration minimale bactéricide.....	28

Introduction

Les plantes médicinales occupent de part le monde une place très importante depuis des milliers d'années à ce jour. Pour les désigner plusieurs définitions ont été rapportées. Généralement, il s'agit des plantes dont au moins une partie du végétal (feuilles, racines, tubercules...) est riche en plusieurs composés bioactifs possédant de nombreuses propriétés médicamenteuses. C'est ainsi, qu'environ 35 000 espèces de plantes sont employées de nos jours à des fins thérapeutiques (**Elqaj et al., 2007**). Elles sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager diverses maladies (**Farnsworth et al., 1986 ; Benkiki, 2006 ; Jean et al., 2013**).

Selon (**Mokkadem, 1999**) l'Algérie recense plus de 600 espèces de plantes médicinales. La majorité de ces plantes possèdent des propriétés biologiques très importantes, qui trouvent des applications dans divers domaines non seulement médicinale et pharmacologique mais aussi dans la cosmétologie et l'agriculture (**Bahorun, 1997 ; Yano et al., 2006**).

La menthe poivrée compte parmi ces plantes médicinales aromatiques largement utilisées en médecine traditionnelle. Malheureusement, elle n'est pas très exploitée en Algérie, et sa culture n'est pas très développée, contrairement à d'autres pays comme le Maroc qui est le premier producteur mondial, ainsi que la France, l'Espagne, l'Italie et l'USA...(**Wees, 2015**).

Dans le but de valoriser la menthe poivrée à l'échelle industrielle, un essai d'incorporation des composés phénoliques constitutifs de la plante dans la fabrication d'un lait fermenté (type yaourt étuvé) largement consommé par les Algériens a été suggéré en vue de promouvoir la culture de *Mentha piperita* L. dans le pays, d'innover un nouveau produit alimentaire sur le marché et de répondre aux besoins sans cesse croissants des consommateurs. Seulement la question qui se pose : est-ce que les composés bioactifs de la menthe poivrée dont les composés phénoliques utilisés comme adjuvant ont un effet antimicrobien avéré sur les germes spécifiques du yaourt en l'occurrence vis-à-vis de *Streptococcus thermophilus* qui assure le démarrage de la fermentation.

Pour répondre à cette problématique, ce travail consiste à suivre le comportement *in vitro* de *Streptococcus thermophilus* vis-à-vis de certains inhibiteurs de croissance dont les composés phénoliques totaux de la menthe poivrée extrait par la méthode de macération de la matière végétale dans une solution hydro-méthanolique.

Le manuscrit objet d'un mémoire de fin d'études comporte trois parties :

- ✓ Une première partie bibliographique qui consiste à présenter un aperçu général sur la classification, la composition, les propriétés et les utilisations de *Mentha piperita* L., complétée par une revue succincte sur l'un des germes spécifique du yaourt à savoir : *Streptococcus thermophilus*.
- ✓ La seconde partie décrit les matériels utilisés à fin d'aboutir l'étude pratique expérimentale.
- ✓ La troisième partie a été consacrée à la discussion des résultats, aux enseignements à tirer des résultats expérimentaux et aux perspectives recherche et développement à entreprendre à l'avenir dans le cadre de cette étude.

Partie 01 : Etude bibliographique

Partie 01 : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la Menthe poivrée

1. Histoire de la menthe :

La plupart des espèces de menthe sont originaires du bassin méditerranéen, leur nom vient de la mythologie grecque, plus précisément d'une nymphe nommée Minthê transformée en fleur par Proserpine qui était jalouse d'elle (**Wilson, 2007**).

L'armée grecque interdisait à ses soldats la consommation de la menthe, car selon lui elle peut réduire leur courage au combat. La propagation de la menthe en Europe a été effectuée par les Romains durant leurs conquêtes. Abondamment citée dans les textes Médiévaux, la menthe était cultivée dans les jardins au temps de Charlemagne, pour être utilisée en cuisine et en médecine. Mais elle ne devient vraiment populaire en Europe occidentale qu'à partir du XVIII^{ème} siècle (**Sylvie, 2002 ; Wilson, 2007; Laurant, 2013**).

En Egypte, les archéologues ont retrouvé de la menthe séchée dans les pyramides datant de mille ans avant Jésus-Christ (**Wilson, 2007**). Les Hébreux utilisaient la menthe comme stimulant. Les druides en brûlaient les feuilles pour faire fuir les mauvais esprits. Les Romains utilisaient la menthe en parfumerie, mais aussi pour aromatiser leurs vins et leurs sauces (**Laurant, 2013**).

Dans les pays d'Afrique du nord, la menthe est depuis toujours le symbole de l'hospitalité ; on accueille les voyageurs avec un verre de thé à la menthe (**Laurant, 2013**). Les Arabes en faisaient une grande consommation et la consacrèrent « plante des harengs » (**Wilson, 2007**).

2. Les menthes :

Les menthes forment un ensemble des plantes très nombreuses, qui s'hybrident souvent entre elle. Elles ont les mêmes propriétés et des caractères communs (**Jean , 2006**). C'est une plante aromatique vivace originaire de la région méditerranéenne, la puissance et la qualité de leurs parfums varie d'une espèce a l'autre (**Jean, 2006**). Selon (**Wilson, 2007**), plusieurs espèces de la menthe sont plantées pour leurs propriétés aromatiques et médicinales.

Les menthes font partie d'une famille très diversifiée. Selon **(Bhart et al., 2009)**, les menthes appartiennent au genre *Mentha* de la famille des Lamiaceae. *Mentha* est un genre d'environ 25 espèces et de plusieurs centaines de variétés (sous-espèces).

3. Menthe poivrée :

3.1. Définition :

La menthe poivrée, connue avec son nom scientifique par« *Mentha Piperita* L.», est un hybride naturel de menthe aquatique et de la menthe verte l'une des menthes la plus parfumée **(François, 2009)**. Elle a été cultivée depuis 1750 par les Anglais qui l'ont utilisé en infusion et en sauce **(Wilson, 2007)**.

3.2. Noms vernaculaires :

Le mot *menthe* vient du latin *mentha*, qui dérive lui-même du grec *μίνθη* / *Mínthê* ou *μίνθα* / *míntha*, du nom de *Minthe* **(Eccles et al., 1990)**.

La menthe poivrée (*Mentha piperta*) a plusieurs noms vernaculaires à travers le monde :

- ✓ **En anglais** : peppermint.
- ✓ **En espagnol** : hierbabuena, *Mentha pimienta*.
- ✓ **En allemagne**: Pfefferminze.
- ✓ **En français** : menthe anglaise, menthe poivrée
- ✓ **En arabe** : nânâ folfoli.



Figure 1 . Menthe poivrée (*mentha* × *pipérita*. L) (**Doctissimo,2020**)

3.3. Origine et distribution :

La menthe est originaire du bassin méditerranéen et se propage de là au reste du monde. La menthe poivrée est cultivée aux États-Unis, au Maroc, en Argentine, en Australie, en France, dans l'ancienne URSS, en Bulgarie, en Tchécoslovaquie, en Hongrie, en Italie, en Suisse ... (Farooqi et al., 2005).

Selon Wees (2015) le Maroc est le premier producteur mondial de menthe poivrée. Vient en deuxième position l'Argentine, les États-Unis et l'Espagne qu'ils ont également une production d'importance de la menthe poivrée.

3.4. Classification :

La menthe appartient à la famille des Lamiaceae, ordre de Lamiales qui englobe d'autres familles comme Verbenaceae et Acanthaceae. La délimitation de la famille Lamiaceae est récemment redéfinie ; beaucoup de genres qui ont été classés dans la famille de Verbenaceae ont été réaffectés aux Lamiaceae. Cette dernière a été divisée en 8 sous-familles : Ajugoideae, Chloranthoideae, Lamiodeae, Nepetoideae, Pogostemonoideae, Scutellarioideae, Teucrioideae et Viticoideae, avec 47% de la famille Lamiaceae est occupée par la sous-famille Nepetoideae (Brain, 2006).

Le genre *mentha* est actuellement classé dans la tribu Mentheae avec d'autres nombreuses plantes aromatiques telles que Thymus, Salvia, Rosmarinus...etc. Plus de 3000 noms d'espèces appartenant au genre *Mentha* ont été publiés en 1753 mais à cause de l'hybridation des espèces la classification est devenue très difficile (Brain, 2006).

La menthe poivrée est un hybride de deux espèces : de la Menthe aquatique (*M. aquatica*) et la Menthe verte (*M. spicata*) avec un nombre chromosomique : $2n=72$. Les variétés les plus connues selon Miloradovich (2012) de la *Mentha piperita* L. sont :

-*Mentha piperita* var. *vulgaris* ou noirs

-*Mentha piperita* var. *crispata*.

-*Mentha piperita* *officinalis*.

Selon (Brain, 2006 et Naveen et al., 2014) la classification de la menthe poivrée se présente comme suit :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae (Labiatae)

Sous-famille : Nepetoideae

Tribu : Menthae

Genre : Mentha

Espèce : *Mentha piperita*.L

3.5. Description botanique :

La menthe poivrée est une herbe ayant des feuilles très odorantes, ovales, lancéolées, dentées et assez grand (5cm) qui sont rattachées à une tige carrée de 50 cm de longueur, ramifiée de couleur vert mauve, leur coloration peut se trouver dans les veines des feuilles, avec de petites fleurs violettes poussant à l'extrémité des branches (**Walter et Lebolt, 2007**).

Les feuilles et les sommités ont une odeur pénétrante, une saveur poivrée, faiblement camphrée, chaude d'abord mais laissant ensuite une sensation de froid (**Truelle, 2011**).

3.6. Culture:

La culture de la menthe nécessite des terrains frais non marécageux, ni trop ensoleillés, ni trop ombragés; une terre de jardin fraîche et profonde lui plaît également. L'important est qu'il n'y ait pas d'excès d'humidité, car celle-ci favorise la rouille. Elle pousse vigoureusement dans un terrain bien défoncé et fumé (**Truelle, 2011**).

On peut employer tous les fumiers, jusqu'à 20000kg à l'hectare, et certains engrais chimiques, tels que le nitrate de sodium, le sulfate d'ammonium, le superphosphate minéral ; influencent favorablement la composition et la proportion de l'essence. Dans le jardin familial, ces trois sels peuvent être répandus à la dose de 30g par mètre carré. (**Truelle, 2011**)

3.7. Récolte :

La récolte de la menthe peut se faire à tout moment de la saison, dès que les plantes atteignent environ 15cm, un peu avant la florissant pour une saveur optimale (**Emest et Grace, 2001**).

3.8. Conservation :

La menthe fraîche se conserve quelques jours dans le réfrigérateur. On peut aussi la sécher et placer dans un contenant hermétique à l'abri de la lumière, Cela la menthe peut conserver sa saveur pendant 2 ans **(François, 1996)**.

4. Composition chimique de la menthe poivrée :

Les feuilles de ces espèces contiennent divers flavonoïdes, en particulier des flavones polysubstitués (courantes chez les lamiacées), des triterpènes et des caroténoïdes. L'huile essentielle représente 1 à 3% du poids sec riche en menthol, flavonoïdes phénoliques, tanins, lactone triterpénique et autres substances, avec une composition très changeante qui dépend de divers facteurs: climat, culture, temps de récolte, etc. **(Muñoz, 1999 ; Ramiro et Silvia, 2007)**.

Les principaux constituants sont le menthol (30-55%) et le menthone (14-32%). Le menthol se trouve principalement dans l'alcool libre, avec d'autres composés à de petites quantités comme l'acétate (3-5%) et les esters de valérate. Les autres monoterpènes présents comprennent l'isomenthone (2-10%), le 1,8-cinéole (6-14%), l' α -pinène (1,0-1,5%), le B-pinène (1-2%), le limonène (1-5%), le néomenthol (2,5-3,5%) et le menthofuran (1-9%) **(WHO, 2002)**.

5. Utilisation :

5.1. Usage culinaire :

La menthe peut être utilisée à l'état frais ou séché pour assaisonner notamment certains plats ; des soupes froides ou chaudes, des sauces, certains légumes comme par exemple aubergine, chou, concombre, salades, viande, poisson, crème glacée, yaourts et thé. Selon **(François, 1999)** il est conseillé de ne pas associer la menthe à d'autres aromates, mais elle peut être délicieuse mélangée au citron.

5.2. Usage médicinal :

La menthe poivrée est une source de vitamine C et de provitamine A ; elle est connue depuis l'antiquité par leurs usages médicinaux ; son huile était employée en médecine populaire et moderne comme :antiseptique ,désodorisant et pour traiter les maux de tête, l'insomnie, l'anxiété, les nausées, les troubles digestifs, la flatulence, la bronchite, l'asthme, les maux de gorge, le cancer, les rhumatismes, les maux des dents, et les névralgies. Il est parfois utilisé

pour soulager les crampes menstruelles, stimuler l'appétit et peut aussi être utilisée pour traiter la diarrhée et le choléra (**Emest et Grace,2001**).

5.3. Usage artisanal et autres :

La menthe poivrée est très employée commercialement pour masquer le mauvais goût de certains médicaments et pour aromatiser les dentifrices, les rinces bouche la gomme à mâcher, le chocolat, les liqueurs, les cigarettes et les cosmétiques ...etc. Les feuilles de menthes peuvent contribuer aussi au parfum des sachets et des pots-pourris (**François , 1999 ; Emest et Grace, 2001**).

6. Propriétés

6.1. Effets antioxydants :

Selon (**Zheng et Wang, 2001**), la menthe poivrée (*mentha piperita*) a la capacité d'absorber les radicaux libres.

6.2. Effets insecticides :

Des résultats obtenus par (**Kumar et al., 2011**) sur l'étude de l'effet insecticide de l'huile essentielle extraite de la menthe poivrée contre les larves et les adultes d'*Aedes aegypti* (*Ae. Aegypti*) ont montré que cette l'huile possédait une excellente efficacité larvicide contre les vecteurs de la dengue, et que la toxicité de l'extrait augmente avec la dose et la durée d'exposition (**Zheng et Wang, 2001**).

6.3. Effets antimicrobiens :

D'autres recherches sont menés par (**Dukic et al., 2003**) pour étudiées les propriétés antimicrobiennes de L'extrait de la menthe poivrée sur certains micro-organismes; ont montré que l'extrait de la plante possède une très forte activité antibactérienne en particulier contre les souches d'*E.Coli*. L'étude a également montré une activité fongistatique et fongicide avec des valeurs de concentration minimale significative. **Yadegarinia et al., 2006** ont aussi confirmé que l'extrait de la menthe poivrée possède d'excellentes activités antimicrobiennes contre *E.Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, et une activité modéré contre les genres *Clostridium* dont (*Clostridium butyricum*, *Clostridium hystoliticum*, *Clostridium intestinale*, *Clostridium perfringens* et *Clostridium ramosum*).

6.4. Activité antifongique :

Les menthes ont été utilisés dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire et employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (Desam et al., 2017 ; Gow et al., 2017).

7. Composées phénoliques :

7.1. Définition :

Les composées phénoliques sont exclusivement synthétisées dans le règne végétal. Ils forment une large famille de composées chimiques qui regroupent une grande quantité de molécules depuis les simples acides phénoliques jusqu'aux polymères complexes comme par exemple : les tanins et la lignine. Leur élément structural fondamental (**figure 2**) est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Jean, 2009, William, 2003).

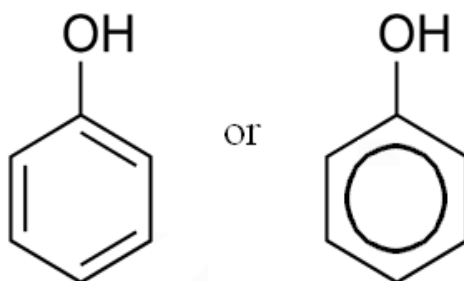


Figure 2 . Structure de base des composées phénoliques
(Jean, 2009)

7.2. Répartition et variation des composées phénoliques dans la plantes :

Selon Macheix et al., 2005, la répartition des composées phénoliques est inégale chez les différentes espèces végétales et, pour une même espèce, selon la variété et le stade d'évolution physiologique. Les variations sont également considérables selon la nature des tissus et des cellules composant le végétal. et leur répartition tant qualitative que quantitative (Gresele et al., 2011).

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi ; participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques ou abiotiques (pathogènes, rayonnement UV...). Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales (**Macheix et al., 2005 ; Gresele et al., 2011**). D'après **Enneb et al., 2015**, les composées phénoliques se concentrent beaucoup dans les feuilles que d'autres organes.

7.3. Biosynthèse des composées phénoliques :

Selon (**Jean, 2009**) les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse :

-la voie la plus courante est celle de Shikimate (acide shikimique), conduit des oses aux amino-acides aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acides benzoïques, acétophénones ; lignanes et lignines, etc .

-l'autre voie part de l'acétate et conduit à des poly-B-cétoesters de longueurs variables par cyclisation (réaction de Claisen ou condensation aldolique) dont : chromones, isocoumarines, orcinols, xanthones, quinones, etc.

7.4. Classification des composées phénoliques :

Le terme composées phénoliques couvre un groupe très vaste et diversifié de composés chimiques. Ces composés peuvent être classés de plusieurs façons. **Harborne et Smmonds (1964)** ont classé ces composés dans des groupes en fonction du nombre de carbones dans la molécule. Une autre classification a été utilisée par **Swain et Bate-smith (1962)**, ils ont regroupé les phénols dans les catégories «communes» et «moins courantes». **Ribéreau-Gyon (1972)** a regroupé les phénols en trois familles comme suit:

1-Phénols largement distribués-omniprésents (largement répandus) à toutes les plantes, ou d'importance dans une plante spécifique.

2-Phénols moins distribués (peu répandus) - nombre limité de composés connus (exemple : le cathécol et l'acide caféique).

3-Constituants phénoliques présents dans la nature sous forme de polymères (**Wilfred et Ralph, 2008**).

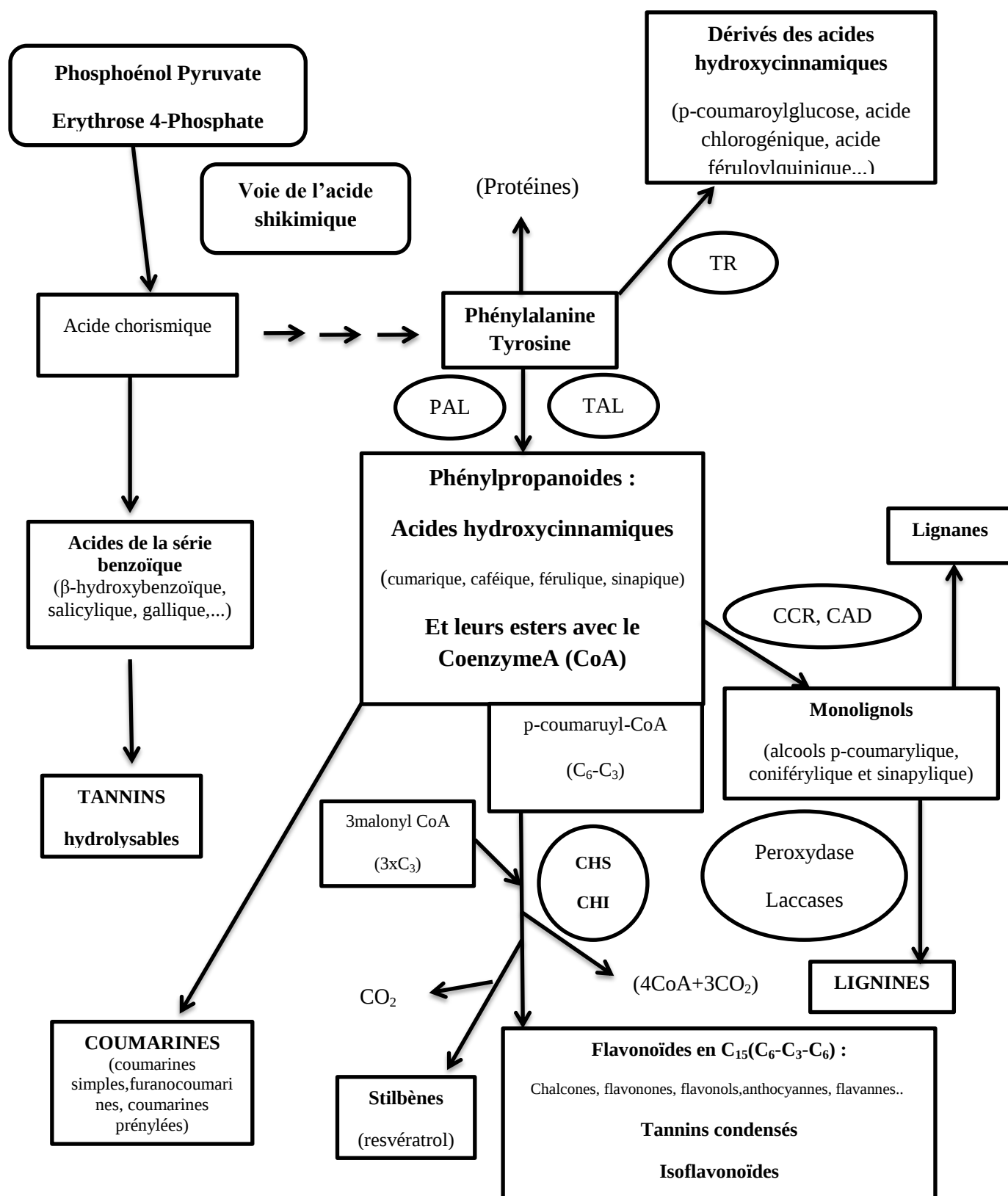


Figure 3 . les grandes lignes de biosynthèse des principaux groupes des composées phénoliques (Macheix et al.,2005)

Tableau 1. Principales classes des composées phénoliques chez les plantes (**Thayumanavan et Sadasivam, 2003**).

Les classes	n de carbone	Squelette de base de carbone	Exemple
1- Phénols simples	6	C ₆	Catechol, Hydroquinone Phloroglucinol
2- Acétophénone Phénylacétique	8	C ₆ -C ₂	4-Hydroxyacétophénone p-hydroxyphénylacétate Caféique, Férulique
3- Hydroxycinnamates Isocoumarines Chromons	9	C ₆ -C ₄ C ₆ - C ₃ C ₆ -C ₃	Umbelliferoneaesculétine Bergénine Eugenin
4-Hydroxybenzoates	7	C ₆ -C ₁	Salicylique, gallique
5-Naphtoquinones	10	C ₆ -C ₃	Juglone, plumbagine
6-Xanthonés	13	C ₆ -C ₁ - C ₆	Mangiférine
7-Stilbènes Anthraquinones	14	C ₆ - C ₂ -- C ₆ C ₆ - C ₂ -- C ₆	Resvératrol Emodine
8-Flavonoïdes Isoflavonoïdes	15	C ₆ -C ₃ - C ₆ C ₆ - C ₃ - C ₆	Cyanidin Génistéine
9-Lignanés	18	(C ₆ -C ₃) ₂	Pinorésinol
10-Bioflavonoïdes	30	(C ₆ -C ₃ - C ₆) ₂	Amentoflavone
11-Hydrolysable Tanins	N	(C ₆ -C ₁) _n : GLc	Gallotannins
12-Tanins condensés	N	(C ₆ -C ₃ - C ₆) _n	Polymères de catéchine
13-Lignines	N	(C ₆ -C ₃) _n	Lignines guaiacyle
14- Mélanines Catéchol	N	(C ₆) _n	

7.5.Rôle et l'importance des composées phénoliques :

Le rôle des composées phénoliques peuvent toucher divers domaines : dans différents aspects de la vie de la plante, dans l'utilisation industriel, pharmaceutiques Ils peuvent intervenir :

a) Chez les végétaux :

D'après **Macheix et al. (2005)**, les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature

soit lors de la conservation après récoltes de certains végétaux, dans les critères de la qualité (couleur, astringence, amertume, qualité nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par transformation.

b) Chez l'Homme :

Macheix et al. (2005) explique que le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection de l'homme vis-à-vis contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes,

c) En industrie :

Compte-tenu du large éventail d'activités biologiques qu'ils présentent, les polyphénols ont été exploités et trouvent des applications dans de nombreux domaines industriels tels l'industrie agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique, Dans l'industrie agroalimentaire les composées phénoliques intervient :

-dans les variations des certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparations des jus de fruit, des boissons fermentées,...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini ;

-l'extraction et utilisation des additifs alimentaires d'origine phénolique essentiellement les colorants et antioxydants phénoliques extrait des végétaux et qui remplacent de plus en plus les additifs chimiques (**Macheix et al., 2005**).

Chapitre II : Les bactéries spécifiques du yaourt

1. Généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des bactéries microaérophiles non sporulées à Gram positif ayant une composition de base d'ADN inférieure à 50% molaire de G + C. Elles comprennent à la fois des cocci et des bâtonnets ou des coccobacilles. Elles ont un pouvoir fermentaire en transformant des glucides en le lactate (acide lactique) selon deux voies métaboliques :

- Le glucose est converti principalement en acide lactique (homofermentation),
- ou en acide lactique, dioxyde de carbone, éthanol et / ou acide acétique (hétérofermentation) (De Vuyst et Vandamme, 1994).

Ils peuvent être utilisés avec succès comme micro-organismes industriels pour la synthèse des produits chimiques, pharmaceutiques et d'autres produits utiles aux humains, et même elles sont largement utilisées dans l'industrie laitière. Shettyetal (2006) a décrit les principaux genres des bactéries lactique les plus utilisées à savoir: *Lactococcus* *ssp.lactis* et *cremoris*; *Streptococcus thermophilus*; *Leuconostoc* *spèces lactis, mesenteroides* *ssp. (cremoris et dextranum)* et *pseudomesenteroides*; *Enterococcus* *faecalis* et *faecium*; et plusieurs espèces de *Lactobacillus*, notamment, *delbrueckii* *ssp. bulgaricus, casei, brevis, helveticus, rhamnosus, acidophilus, fermentum, curvatus, johnsonii, et gasseri*.

2. Genre Streptococcus :

Ce vaste groupe de micro-organismes ubiquitaires comprend de nombreux genres et espèces. Leur type de relation avec l'homme ou l'environnement permet de distinguer des espèces pathogènes, des espèces commensales et des espèces saprophytes.

Les streptocoques lactiques sont parmi les espèces saprophytes qui occupent une place importante en fromagerie et dans les industries laitières. On les trouve au niveau de pis et des canaux galactophores des mammifères, et aussi sont retrouvés dans le lait. Les principales espèces utilisées sont :

-*Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* et *Streptococcus diacetylactis* ; ces trois espèces sont regroupées aujourd'hui sous l'appellation de *lactococcus lactis*. Leur action modifie (en bien ou mal) les qualités organoleptiques d'un lait et lui donne un goût et une odeur caractéristique;

-*Sterptococcus therpophilus* : Sert à la fabrication des yaourts en association avec les lactobacilles ;

-*Leuconostoc mesenteroides* et *Leuconostoc lactis* : Les *leuconostocs* sont retrouvés sur l'herbe et sur des végétaux comme le chou, le concombre, la canne à sucre ainsi que dans les jus de fruits et le lait. Ferments lactiques dans l'industrie laitière, ils produisent des acides aromatiques et du gaz, et leur action peut participer à la flaveur d'un produit. *Leuconostoc citrovorum* est présent dans le beurre, *leuconstoc mesenteroids* dans la choucroute (Hélène, 2008).

Les *Streptococci*, quand ils sont cultivés dans du bouillon, forment généralement de longues chaînes, alors: que dans le lait et milieux nutritifs solides ils se présentent sous des formes variées. *C'est un groupe de bactéries très répandu et qui offre une richesse extraordinaire d'espèces différencies*; qui toutes produisent de l'acide lactique (Orla-Jensen, 1924).

3. *Streptococcus thermophilus* :

3.1. Définition et caractères générale:

Streptococcus thermophilus est une bactérie lactique que l'on trouve associée à un ou plusieurs lactobacilles dans des levains utilisés par l'industrie laitière dans la fabrication du yaourt et celle des fromages (Hemme., 1980). C'est une coque de 0,7 à 0,9 nm de diamètres regroupés en paires ou en longues chaînes de longueur variable, à Gram positif, anaérobie facultatif, non mobile. Dépourvue d'antigène du groupe D, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques, son métabolisme est du type homofermentaire, thermorésistante. Il peut résisté à une température de 60°C, il se développe mieux à 40°C, il peut être facilement isolé du lait maintenu à température élevée (Orla-Jensen, 1924 ; Terré, 1986 ; Lamoureux, 2000)

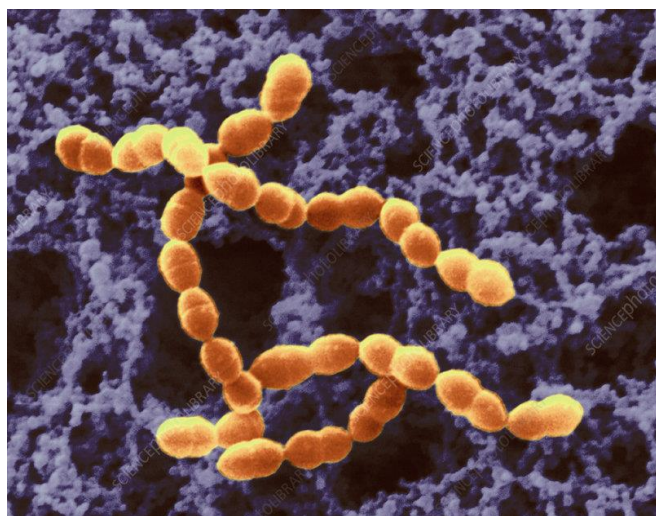


Figure 5. Observation au microscope électronique de *S.thermophilus*. 6250X (science source)



Figure 4 . Coloration à Gram positif de *S. thermophilus*. 1000X (Fankhauser.D, 1995)

Tableau 2. Caractéristiques de *Streptococcus thermophilus* (Bourgeois et Larpent:1996)

V: variable, (+) : positif pour la plupart des souches, (=) : variable

Les caractères	<i>S, thermophilus</i>	Les caractères	<i>S, thermophilus</i>
Groupe sérologique	-	Arabinose	±
Hémolyse	alpha	Galactose	-
Croissance à PH	6-6,5	Glucose	+
ADH	-	Maltose	-
CO ₂	-	Raffinose	±
Acétonine	-	Saccharose	+
Croissance à 6,5% NaCl	-	Tréhalose	-
G+C%	37-40	Dextrine	-
Isomère d'acide lactique	L(+)	Arginine	V
indice de l'eau disponible (a _w) qui réduit de 50% l'acidification	0,94	Température de croissance	optimale 37-42°C
			Maximale 49°C

3.2. Classification :

Le statut taxonomique de *S. thermophilus* signalé par **Orla-Jensen** a fluctué depuis les années 1980 en raison de la relation étroite entre cet organisme et *Sterpococcus salivarius*, en conséquence, il a été désigné comme une sous-espèce de (*Streptococcus Salivarius sub sp thermophilus*). En 1991, un statut d'espèce distincte a été proposé à nouveau sur la base de critères génétiques et phénotypiques (**Tammime et Robinson, 2007**), leur classification est comme suite :

Règne : Bactérie

Division : Firmicutes

Classe : Coccus

Ordre : Lactobacillales

Famille : Streptococcaceae

Genre : Streptococcus

Espèce : *S. thermophilus*

3.3. Fermentation et proto-coopération des bactéries spécifiques du yaourt :

La proto-coopération est un ensemble des interactions indirectes qui ont un effet positif sur deux populations ou plus, soit simultanément, soit successivement. Dans le cas de fabrication du yaourt, on remarque cette interaction entre les bactéries spécifique du yaourt à savoir *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Cette interaction est bénéfique mais pas indispensable au développement de ces deux souches. Ces dernières ont la capacité de fermenter le lactose par l'intermédiaire de l'enzyme β -galactosidase, mais c'est les *Streptococcus thermophilus* qui déclenchent la fermentation ; le lactose est hydrolysé en glucose et galactose, puis le glucose en pyruvate et ce dernier en acide lactique par l'enzyme la lactate déshydrogénase. D'autre part, le galactose est partiellement métabolisé par *Lactobacillus bulgaricus* par contre les *Streptococcus thermophilus* ne peuvent pas le métaboliser.

Les *Streptococcus thermophilus* produisent aussi du dioxyde de carbone et de l'acide formique qui stimulent la croissance des *Lactobacillus bulgaricus* simultanément, ces dernières produisent des acides aminées qui sont utilisés encore par les *S. thermophilus*. Le pH du lait peut se réduire jusqu'à 4,5 par *S. thermophilus* dont le taux de production d'acide

lactique peut atteindre 0,6%. Aussi les *Lactobacillus bulgaricus* sont capable de produire jusqu'à 2,6% de lactate en abaissant le pH du milieu jusqu'à environ 3,6. Les *S. thermophilus* sont moins acidifiant contrairement aux *Lactobacillus bulgaricus* (Vignola, 2002 ; Georeges et Marie, 2008 ; Yildiz, 2010)

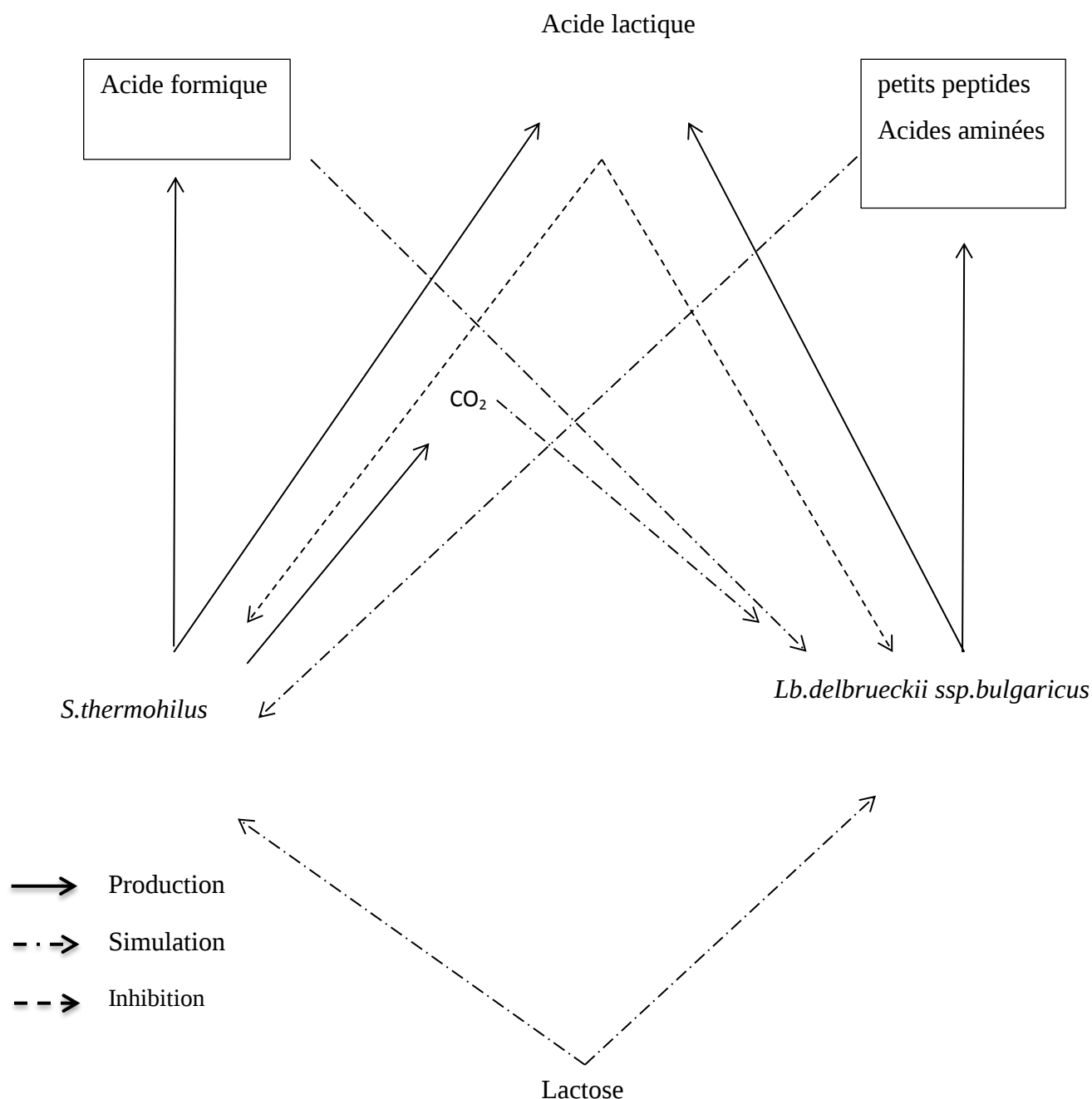


Figure 6. Schéma des interactions métaboliques de *S. thermophilus* et *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* (Mahaut et al., 2000)

Tableau 3. Interactions métaboliques entre *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* en culture mixte de lait (Georges et Marie, 2008).

	<i>S.thermophilus</i> ↓↑ <i>Lb.bulgaricus</i>	<i>S.thermophilus</i> ↑ <i>Lb.bulgaricus</i>	<i>S.thermophilus</i> ↓ <i>Lb.bulgaricus</i>		
Mécanisme et facteur d'interaction	Synthèse d'acide lactique à partir du lactose	Production de peptides et d'acides aminés sous l'action de la protéinase PrtB	Production de CO ₂ par l'activité uréase	Acide formique	Acide pyruvique Acide folique
Rôle de l'interaction	Inhibition de la croissance	Activation de la croissance	Synthèses de l'acide aspartique	Synthèses des bases puriques	NC

NC : non caractérisé.

3.4. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt :

a. Production d'acide lactique :

Les bactéries du yaourt sont de type homofermentaire, elles produisent exclusivement du l'acide lactique. L'acidité du yaourt est exprimée en degré Dornic (1°D= 0.1 g/l d'acide lactique) (Loones,1994).

L'acide lactique a des intérêts technologiques dans la fabrication du yaourt à savoir:

- un rôle coagulant ou gélifiant ; en déstabilisant les micelles des caséines ;
- donne des caractéristiques organoleptiques distinct (goût, saveur, l'arôme);
- un rôle antimicrobien pouvant inhiber la prolifération de certains micro-organismes indésirables (Tamime et Robinson,1999 ; Leory et al.,2002).

b. Activité protéolytique :

Cette activité est déterminée par la libération des acides aminés ; par la dégradation de la caséine et des protéines sériques Sous l'effet de deux enzymes qui constituent le système protéolytique des bactéries du yaourt : les protéases et les peptidases (Marshall,1987).

Les protéases sont localisées au niveau de la paroi cellulaire de *Lb. bulgaricus*. Cette enzyme permet d'hydrolyse la caséine en polypeptide. D'autre part, les *St. thermophilus* ayant une

faible activité endopeptidasique permet de dégrader les polypeptides par son activité exopeptidasique en acides aminés libres (Schmid et al., 1994).

d. Activité aromatique :

Au cours de la fabrication du yaourt et à la fin de fermentation, il y'a la formation de divers composées volatiles et aromatiques qui interviennent dans la saveur du yaourt dont principalement :

- l'acide lactique, qui confère au yaourt un goût acidulé.
- l'acétaldéhyde, dont les teneurs souhaitables dans le yaourt sont de l'ordre de 25 ppm (Yildiz, 2010).

c. Activité texturante :

La production d'exo-polysaccharide(EPS) a un impact major sur la texture du yaourt. Les EPS sont fortement produites par les *S. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* qui peuvent conférer au yaourt une forte viscosité, une texture lisse, une onctuosité élevée, une faible synérèse ainsi qu'un caractère filant. Par ailleurs, *Lb. bulgaricus* possède une aptitude à produire les EPS à partir de galactose, glucose, rhamnose à des rapports de 4/1/1 ; alors que les *S. thermophilus* peuvent les produire à partir de glucose, galactose et N-acytyle-D-galactosamine à des rapports de 1/2/1 (Yildiz.F, 2010).

Partie 02 : Matériel et méthodes

Partie 02 : Matériel et méthodes

1. Objectifs :

Ce travail expérimental consiste à suivre l'effet des extraits phénoliques d'une variété de plante médicinale qu'est la Menthe Poivrée (*Mentha Piperita* L.) sur l'un des germes caractéristiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus*.

L'étude vise à comprendre le type d'action inhibitrice que peuvent exercer les principaux composés bioactifs de la Menthe Poivrée obtenu par l'usage d'un solvant hydro-méthanolique et riche en composés phénoliques vis-à-vis du germe *Streptococcus thermophilus*.

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

Le matériel végétal objet de l'étude dont la Menthe poivrée (*Mentha pipérita* L) a été collecté le mois de septembre dans la région de Ouargla- Algérie où elle est introduite à titre expérimentale et cultivée par certaines autochtones de la région sous palmeraie.

Un échantillon de 2 à 3 kg de matériel végétale a été récolté aléatoirement 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) relevant de la wilaya de Ouargla.

La matière végétale a été ensuite étalée sur du papier journal, puis séchée à l'air ambiant. Les échantillons de feuilles séchés ont été enfin broyés dans un broyeur à lame de cuisine puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité ainsi que de la lumière.

3. Extraction des composés phénoliques :

L'extraction des principaux composés bioactifs phénoliques a été réalisé par la méthode de (Sultana et al., 2009) par une macération à froid (extraction solide-liquide) ; une opération qui consiste à laisser séjourner pendant 6 heure la matière végétale (broyat de feuilles de *Mentha piperité* L) dans une solution hydro-méthanolique (03 X 100ml, 80/20, solvant/eau, v/v) à la température ambiante afin d'extraire les principaux composés phénoliques constitutifs de la plante.

L'extrait hydro-méthanolique obtenu a été filtrées en utilisant un papier filtre Whatman N°3 ayant une porosité de 0,3µm et débarrassé ensuite du solvant par évaporation sous vide à 45 °C dans un rota vapeur.

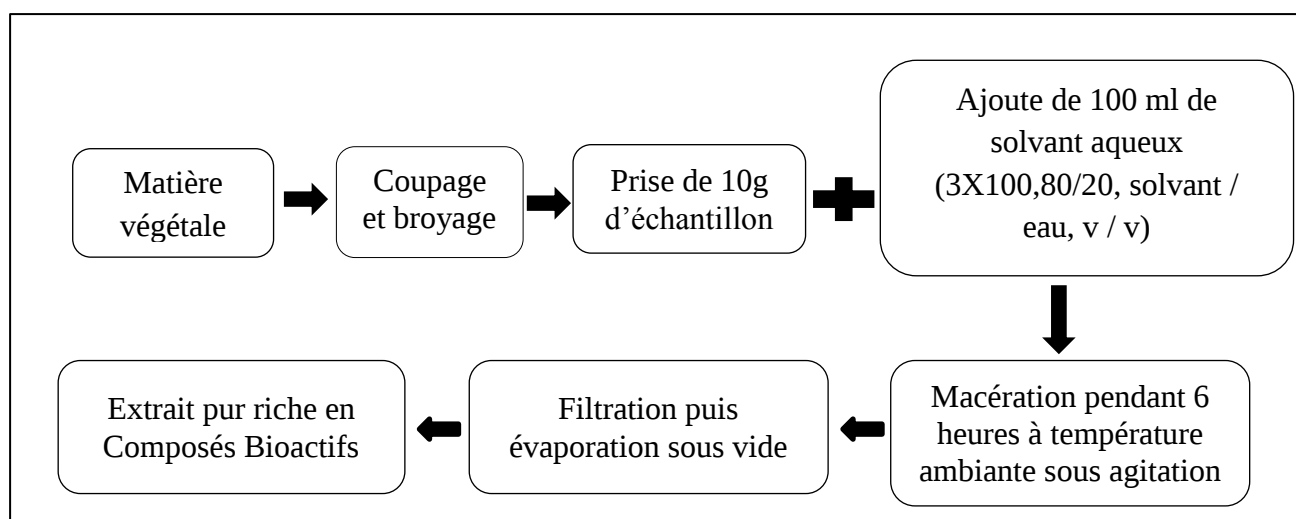


Figure 7.Etapes d'extraction des composés phénoliques par macération.

4. Préparation des solutions d'extrait phénolique:

A partir de l'extrait pur de Menthe poivrée obtenu, une série de dilutions avec de l'eau distillée stérile a été effectuée à raison de : 0,20,40,60,80 et 100%, respectivement.

5. Effets antimicrobiens:

5.1. Activation des souches microbiennes:

La souche bactérienne concernée dans cette étude est une souche pure lyophilisée caractéristique du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus*. Cette souche doit être activée avant son utilisation expérimentale.

Une prise de 0,25g de l'espèce étudiée estensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C pendant 3 heures jusqu'à atteindre une densité optique de 0,9 au spectrophotomètre réglé à 560nm. A partir de cette dernière solution, une prise de 0,1ml estensemencée en surface d'une boîte de Petrie contenant un milieu spécifique gélosé de croissance pour les *Streptococcus thermophilus* à savoir le milieu M17. Puis les boîtes ont été enfin incubées à 37°C pendant 24 heures.

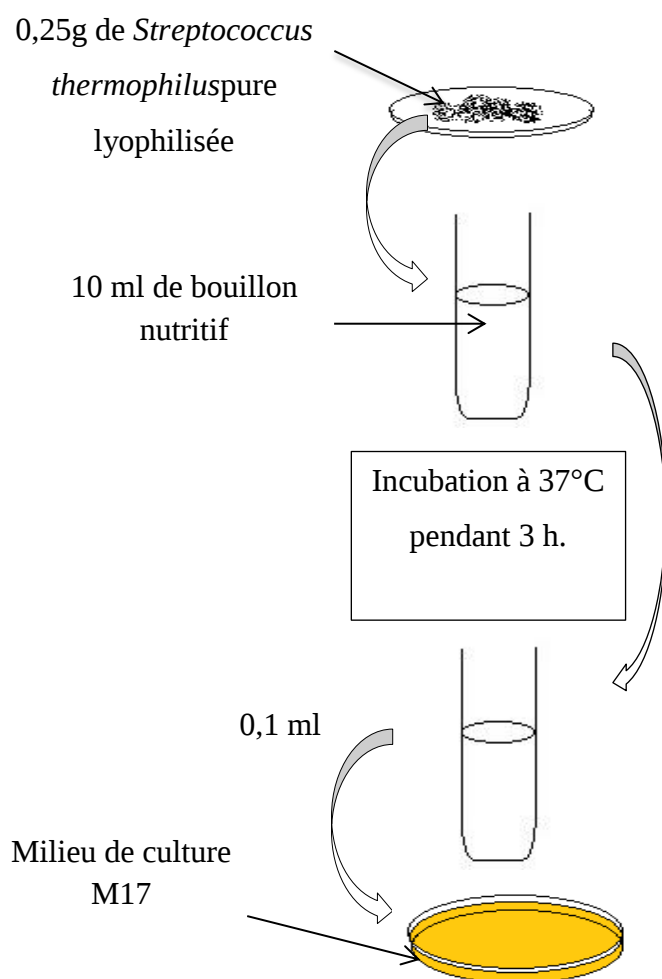


Figure 8. Méthode d'activation des *Streptococcus thermophilus*

5.2. Méthode de contact direct :

Une colonie d'une culture jeune de l'espèce microbienne *Streptococcus thermophilus* activée comme préalablement est prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, elle 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 cette dernière solution qui constitue une solution mère, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique ont été effectuées ; allant à 10^{-5} . 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 (M17) de croissance pour les *Streptococcus thermophilus*.

La lecture du nombre de colonies développées est effectuée après incubation des milieux ensemencés à 37°C pendant 24 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

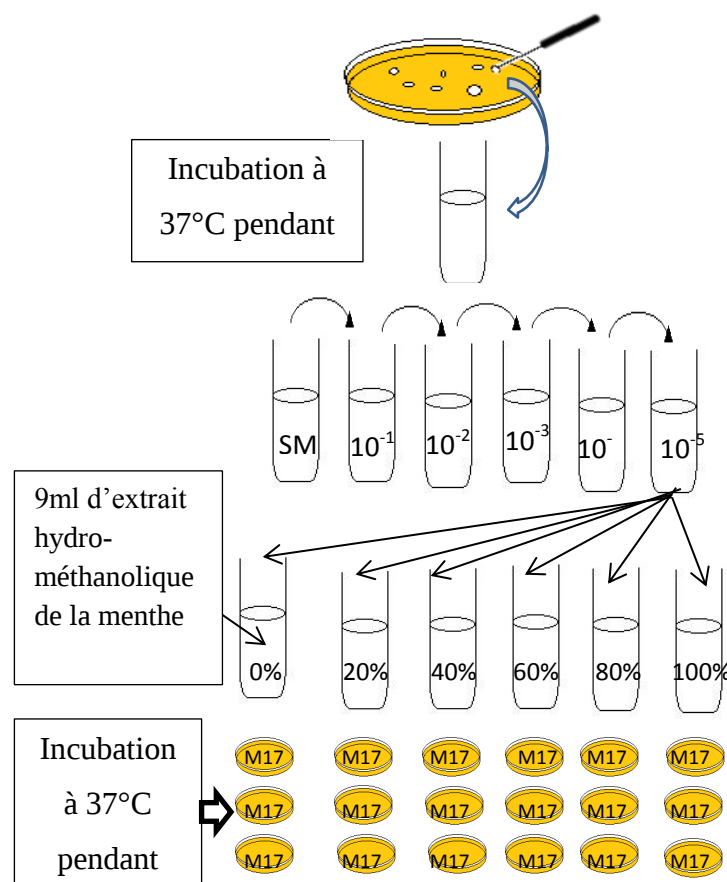


Figure 9. Méthode de contact direct.

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 l'espèce lactique étudiée 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 0,2ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Pétri contenant le milieu M17. Des séries de trois disques stériles ont été respectivement imbibés pendant 5 minutes dans chaque dilution d'extrait hydro-méthanolique de menthe, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamicine. Chaque série de disques ont été ensuite déposée

successivement à la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé spécifique ensemencé au germe lactique étudié (*Streptococcus thetmophilus*) (Prescott et al., 2003).

La lecture des diamètres d'inhibition a été effectuée après incubation des boîtes de Petri à 37°C pendant 24 heures à l'aide d'un pied à colis (Guignar,1998).

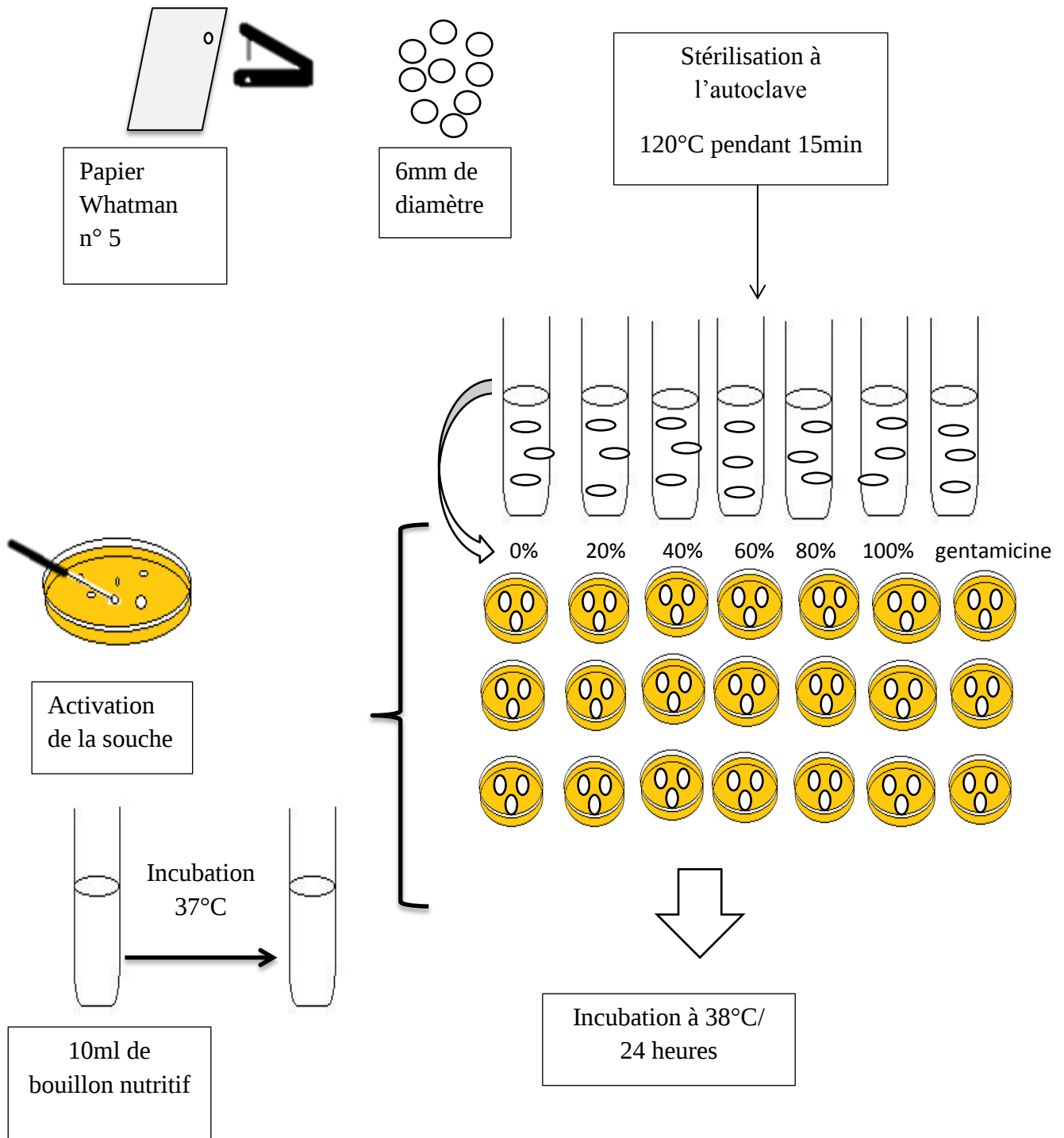


Figure 10 .Méthode des disques par diffusion sur gélose sur milieu de Muller Hinton

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 de l'extrait hydro-méthanolique de la Menthe qui sont utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice chez l'espèce microbienne spécifiques du yaourt : *Streptococcus thermophilus*.

Ainsi, une colonie jeune de *Streptococcus thermophilus* a été prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir l'inoculum. Des prises de 0,2ml de l'inoculum ont été ensuite mélangées respectivement dans 2 ml de chaque solution d'extrait hydro-méthanolique de *Mentha piperita* L. diluée non pas avec de l'eau distillée stérile 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 37 °C pendant 24 heures (**Moroh et al., 2008**).

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

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

$$S = 100 \times (df - di / DF - DI)$$

S: Taux de survie du microorganisme en %.

di : Densité optique initiale de la solution phénoliqueensemencée au germe sans incubation.

df : Densité optique finale de la solution phénoliqueensemencée au germe après incubation.

df-di : Différence de densité optique de la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

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

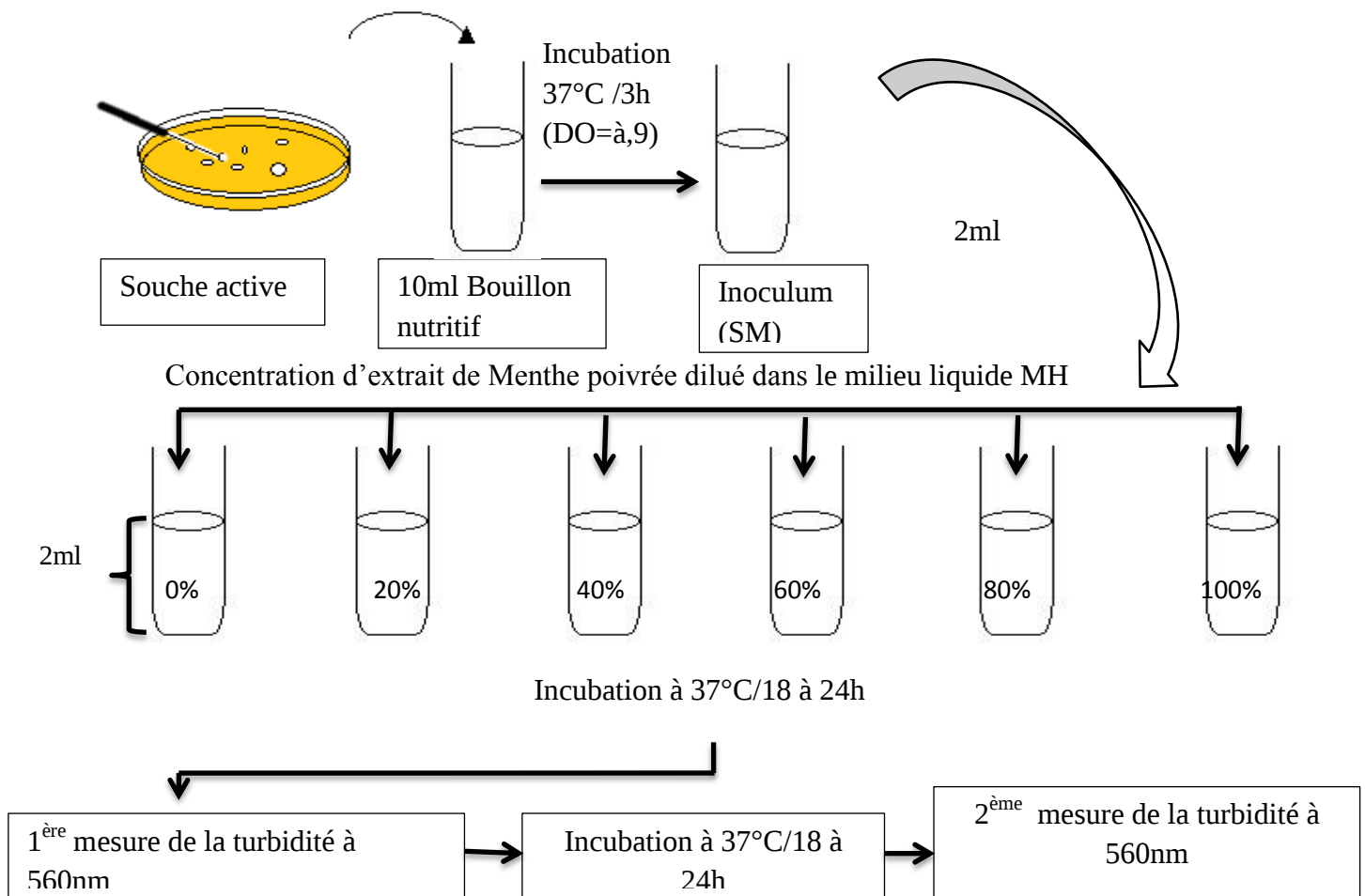


Figure 11. Concentration minimale Inhibitrice(CMI).

5.5. 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 dernière dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle estensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum, égalementensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui 10^{-1} représente la CMB.

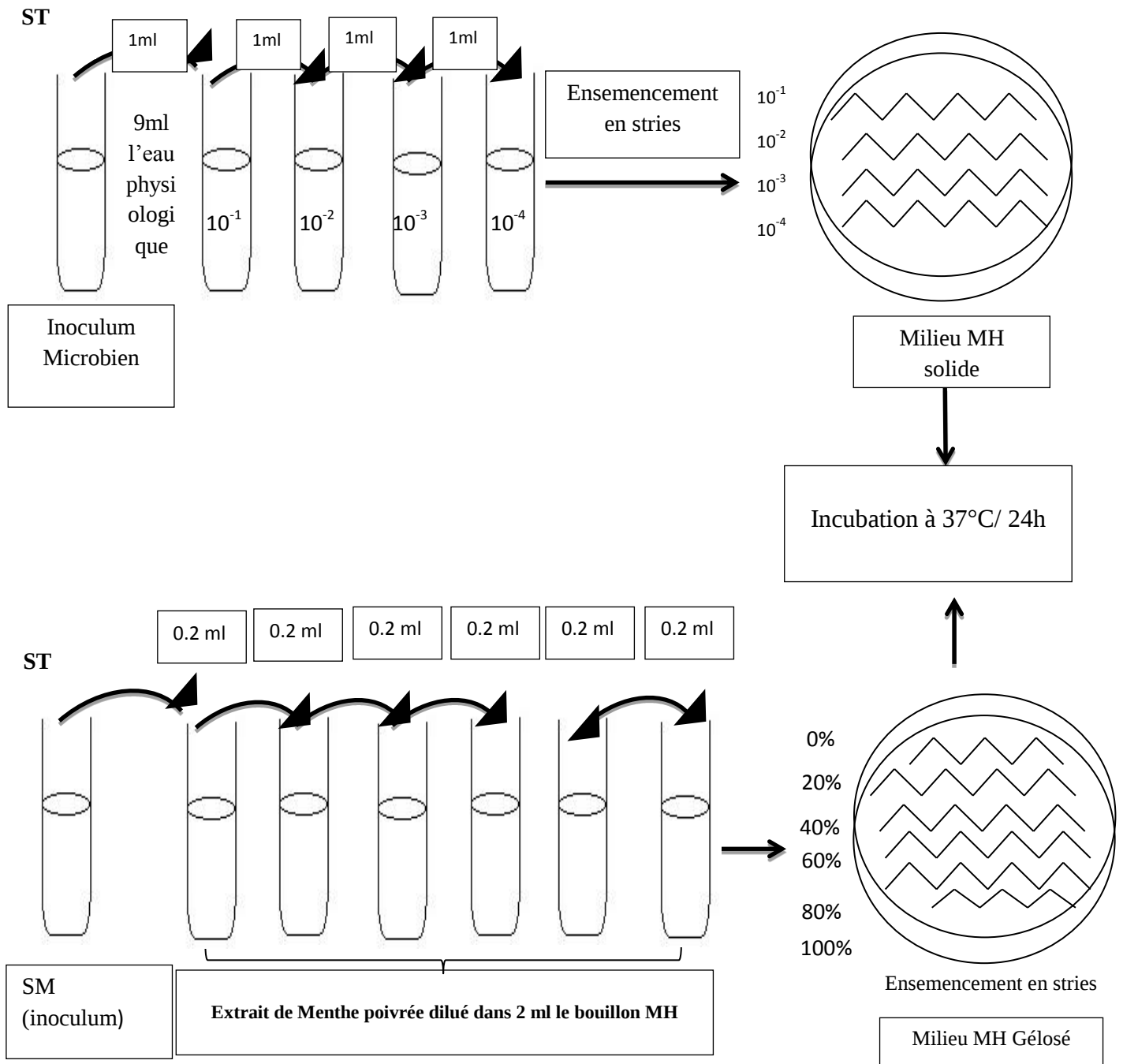


Figure 12 . Méthode de la détermination de la concentration minimale bactéricide

6. Traitement statistique :

Les résultats ont subi une analyse de variance monofactorielle en randomisation totale, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls (**Stat Box 6.4**).

Partie 03 : Résultats et discussion

Partie 03 : Résultats et discussion

1-Résultats :

1.1. Composés phénoliques et flavonoïdes de *Mentha piperita* L. :

Les résultats des teneurs en principaux composés phénoliques de l'extrait hydro-méthanolique et de la matière végétale de *Mentha piperita* L. sont résumées dans le (Tableau 4).

La teneur moyenne en composés phénoliques dans l'extrait hydro-méthanolique a été estimée à 14,53mgEAG/ml. La concentration en ces composés bioactifs dans les feuilles a été évaluée à environ 145.3 mgEAG/g de matière sèche.

Concernant les flavonoïdes l'extrait hydro-méthanolique a dosé 0,43mgEG/ml dans ; alors que les feuilles ont notés une teneur moyenne de l'ordre de 4,28mgEQ/g de matière sèche.

Tableau 4. Teneurs en principaux composés phénoliques de l'extrait hydro-méthanolique et de la matière végétale de *Mentha piperita* L.

Polyphénols		Flavonoïdes	
mgEAG/ml d'extrait	mgEAG/g MS	mgEQ/ml d'extrait	mgEQ/g MS
14.53 ±	145.3 ±	0.43 ±	04.28 ±

Les résultats, sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondants, avec un nombre de répétitions n égal à 03mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; EQ : équivalent quercitrine; MS : Matière sèche.

1.2 Effet antimicrobien de l'extrait de menthe :

Les résultats de l'effet antimicrobien de l'extrait hydro- méthanolique de *Mentha piperita* L. chez *Streptococcus thermophilus* sont illustré dans le (Tableau 5).

En comparant les résultats obtenus du test de croissance par rapport au témoin, on remarque qu'il y'a une relation inverse entre la croissance de la souche *Streptococcus thermophilus* et la concentration des solutions d'extrait phénolique de la menthe ; c'est-à-dire que le développement du nombre des germes s'avèrent inversement proportionnel ($p < 0.01$) avec l'augmentation de la concentration d'extrait. Ainsi, le nombre de ses germes a connu une diminution de 299.10^5 UFC/ml à 25.10^5 UFC/ml dans les solutions variables de 0 à 100% d'extrait de polyphénols. Par ailleurs, le plus faible niveau de croissance de *Streptococcus thermophilus* a été remarqué dans l'extrait hydro-méthanolique pure de la menthe poivrée concentré à 100% ; avec un taux de croissance de 25.10^5 UFC/ml.

La méthode des disques a montré que la gentamicine a présenté un fort ($p < 0.01$) diamètre d'inhibition chez *Streptococcus thermophilus* (31 mm) ; alors qu'à 20 et 40% d'extrait de menthe aucune zone d'inhibition n'a été développée vis-à-vis du germe étudié. Par ailleurs, de faibles zones d'inhibitions du germe ont été révélées avec les solutions d'extrait hydrométhanolique concentrées à 60 et 80%. Comparativement à la gentamicine, l'extrait pur de *Mentha piperita* L a engendré un diamètre d'inhibition chez *Streptococcus thermophilus* des plus intéressants (19.6 mm) ; avec un taux d'inhibition d'environ 67.8%.

Par ailleurs, la concentration minimale inhibitrice chez les *Streptococcus thermophilus* est à été réalisé avec l'extrait hydrométhanolique de menthe poivrée concentré à seulement 20%. En outre, la concentration minimale bactéricide a été notée à 40% d'extrait.

D'après le rapport CMB/CMI égale à 2 l'extrait hydro-méthanolique s'avère exercer un effet inhibiteur de type bactéricide à l'encontre du germe lactique spécifique du yaourt étudié à savoir *Streptococcus thermophilus*.

Tableau 5. Effet antimicrobien de l'extrait hydro- méthanolique de *Mentha piperita*.L sur la croissance du germe *Streptococcus thermophilus* spécifique du yaourt.

Mesures		Concentrations en extrait Hydro-méthanolique de <i>Mentha piperita</i> .L (%)						Effet de l'extrait
		Témoin	20% (mg EAG/ml)	40% (mg EAG/ml)	60% (mg EAG/ml)	80% (mg EAG/ml)	100% (mg EAG/ml)	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Test de croissance (UFC/ml)	299 ^a	291 ^a	74 ^b	63 ^b	58 ^b	25 ^c	$p < 0,01$
	Diamètre d'inhibition (mm)	31 ^a	0 ^e	0 ^e	7.3 ^d	12.6 ^c	19.6 ^b	$p < 0,01$
	Taux d'inhibition (%)	100 ^a	0 ^d	0 ^d	25.3 ^d	33 ^c	67.8 ^d	$p < 0,01$
	CMI	20%						
	CMB	40%						
	CMB/CMI	2						
	Effet inhibiteur	Bactéricide						

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n égal à 03 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; FTAM : Flore totale aérobie mésophile ; UFC : Unité formant colonie ; CMI : concentration minimale inhibitrice ; CMB : concentration minimale bactéricide ; a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

2. Discussion :

Plusieurs études ont bien montrés que les composées phénoliques exercent des effets bénéfiques chez déjà les plantes productrices. Ils permettent de les protéger contre les agressions par les pathogènes, parasites ainsi que certains prédateurs. Ils sont aussi impliqués dans de nombreux processus physiologique et sont même impliqués dans la couleur, le goût ainsi que l'odeur caractéristique des plantes. Chez l'homme, ils permettent de le protéger contre certaines maladies dont même les plus dangereuses tels que le cancer, les maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives (**Rejeb, 2007**). D'après **Nathan, 2010 et Soto-Hernandez et al., 2017**, l'apport total en polyphénols dans le régime alimentaire d'une personne est d'environ 1 gramme par jours ; les acides phénoliques représentent environ un tiers de l'apport total de polyphénols alors que les flavonoïdes représentent les deux tiers.

Selon (**Stagos et al., 2012**) les taux en composées phénoliques dans les plantes peuvent varier selon plusieurs facteurs (climat, espèces, sol, saison de récolte...etc.) et les teneurs pour le genre *Mentha*, mesurées par la méthode au Folin-Ciocalteu peuvent fluctuer de 90 à 575mgEAG/g de matière sèche . Apparemment, la menthe poivrée (*Mentha X Piperita* L.) objet de l'étude récoltée à Ouargla-Algérie est riche en polyphénols totaux (145mgEAG/g de matière sèche) et moins bien riche en flavonoïdes (4,28mgEG/g de matière sèche). Cette plante peut être donc une source de plusieurs composés bioactifs intéressants pour la santé humaine incluant surtout les esters d'acides gras méthylique et les flavonoïdes dont : hétéroside d'apégénine, diosmétine, lutéoline, éridictiol, flavone polyméthoxilé...etc (**François, 2012**) possédant une activité anti-oxydante avérée et une activité antimicrobien très élevé à l'égard de plusieurs germes banaux et pathogènes (**Naveen et al., 2004**).

Cette expérimentation vise surtout à optimiser l'effet antimicrobien de l'extrait hydrométhanolique de la menthe poivrée riche en composés phénoliques vis-à-vis de *Streptococcus thermophilus* afin de l'ajouter comme conservateur sans détériorer la qualité d'un lait fermenté type yaourt étuvé au cours de sa fermentation. En effet, le yaourt est défini par le codex alimentarius comme étant « un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* et de *Streptococcus salivarius*, sous-espèce *thermophilus* à partir du lait frais ainsi que du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition de substances (lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines lactosériques concentrées ou non, la caséine alimentaire ...etc.). Les micro-organismes du produit final doivent être viables ». Selon l'arrêté du 29 juin 1978 (**J.O. R,1998**), les bactéries spécifiques du yaourt dont les *Streptococcus thermophilus* et les *Lactobacillus bulgaticus* doivent être trouvées vivantes dans le produit final à raison de 10^8 bactéries.ml⁻¹ dans un délai de 4 jours au maximum après la fabrication.

La présente étude a dévoilé des zones d'inhibitions du germe *Streptococcus thermophilus* qui ont varié significativement ($p < 0.01$) de 7.3, à 12.6 et à 19.6 mm en fonction de l'augmentation respective de 60, à 80% et à 100% de la concentration d'extrait hydro-méthanolique de *Mentha piperita* L. La gentamicine, à son tour, a marqué le diamètre d'inhibition le plus élevé chez la bactérie étudiée (31mm). Toutefois, l'extrait de la menthe poivrée préparée à 20 et 40% n'a engendré aucune zone d'inhibition du germe lactique ; avec des taux d'inhibitions de l'ordre de 0%. A ce propos, (**Sbahat et al., 2006**) a bien confirmé que l'activité antimicrobienne de l'huile essentiel et du jus de la menthe poivrée testés par la méthode de diffusion des disques sur gélose chez 11 bactéries pathogènes à gram négatifs dont *E. coli*, *Salmonella typhi*, et *Pseudomonas aeruginosa* a enregistré des zones d'inhibitions variables de 11,78 à 10,41mm. Quoiqu'à 40% d'extrait le test de croissance a

montré une décroissance microbienne significative ($p < 0.01$) du germe étudié par rapport au témoin; $74 \cdot 10^5$ vs $299 \cdot 10^5$ UFC/ml.

Au faite, à travers les valeurs de CMI et CMB , obtenues respectivement à 20 et 40% d'extrait hydrométhanolique, les polyphénols de *Mentha x poperita* L., semblent exercer une activité antimicrobienne de type bactéricide chez *Streptococcus thermophilus*. D'après **(Davidson et al., 2013 ; Stragos,2012)** cette activité inhibitrice est très forte chez les bactéries à Gram-positifs que chez ceux à Gram-négatifs Par ailleurs, cette action des polyphénols sur les cellules des microorganismes est basée sur une multiplicité d'influences individuelles. Celles-ci n'incluent pas seulement un mécanisme physique et physico-chimique mais aussi une réaction biochimique. En générale, l'action antimicrobienne peut être expliquée par les étapes suivantes : influence sur les parois cellulaires, influence sur l'ADN, influence sur synthèse des protéines, et influence sur l'activité des enzymes. Les polyphénols considérés comme des substances lipophiles agissent sur la cellule en perforant la membrane cellulaire. Cette perforation augmente le flux des protons vers l'intérieur de la cellule ce qui accroît le besoin en énergie **(Luck et al., 1995)**.

Cette étude a révélé qu'il est possible d'incorporer l'extrait hydro-méthanolique de la menthe poivrée (*Mentha pipérata* L) riche en composés phénoliques surtout à de faible taux de 20 et 40% dans le yaourt et de fabriquer un lait fermenté ayant toutes les vertus d'un alicament pouvant répondre au souhait du consommateurs à la recherche sans cesse croissante de nouveaux produits naturels a vertus bénéfiques pour la santé.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus, il apparaît que l'extrait hydro-méthanolique riche en composées phénoliques de *Mentha x piperita* L., (menthe poivrée) récoltée dans la région de Ouargla-Algérie- exerce un effet antimicrobien avéré contre la croissance de *Streptococcus thermophilus* l'un des germes spécifique du yaourt.

La méthode des disques a montré que le diamètre d'inhibition chez *Streptococcus thermophilus* augmente significativement ($p < 0.01$) avec l'élévation de la concentration d'extraits hydro-méthanolique de la menthe et que l'efficacité antimicrobienne de l'extrait pur sans dilution à l'eau est proche de celui de la Gentamicine à 67.9% .

Par ailleurs, la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de la croissance du germe étudié a été observée avec la solution préparée à 20% d'extrait hydrométhanolique ; alors que la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) a été enregistrée à 40% d'extrait de la plante. Les composé phénoliques contenus dans l'extrait de *Mentha x piperita* L., ont démontré ainsi une action de type bactéricide vis-à-vis du germe lactique *Streptococcus thermophilus*.

Il est intéressant d'essayer de comprendre à l'avenir la relation entre les différentes facteurs intrinsèques et extrinsèques pouvant affecter les plantes médicinales poussant en Algérie dont la menthe poivrée et capables d'influencer sensiblement le rendement, la qualité des composées phénoliques et l'activité antimicrobienne soit des germes utiles en industrie ou pathogènes nuisibles à la santé humaine. Il faut aussi songé dès à présent d'introduire ces extraits des plantes médicinales riches en composés bioactifs dans le secteur des industries agroalimentaires tels qu'en yaourterie afin de mettre à la disposition des consommateurs de nouveaux produits ayant toutes les vertus santé d'aliments alicaments.

Références bibliographiques

ΚΕΙΜΕΝΟΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΟΣ

Références bibliographiques

-A-

1. **Alilou H., Hassani L. M. I, Barka N, Bencharki B. 2014.** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens* subsp. *odorus*. *Afrique Science* 10(3) 316 – 328.
2. **Almas, K. and N.H. Al-Bagieh, 1999.** The Antimicrobial effects of bark and pulp extracts of miswak, *Salvadora persica*. *Biomed Letters.*, 60: 71-75.
3. **Almas,K. 2001.** The Antimicrobial effects of seven different types of asian chewing sticks. *Odonto-Stomatologie Tropicale.*, 96: 17-20.
4. **Annie Walter et Vincent Lebot. 2007.** Gardens of oceania. 1^{ère} éditions en 2003. Ed. IRD&RAD.France., p : 274-275.

-B-

5. **Bolivar P., Cruz-Parades C, Hernandez L. R., Juarez Z. N. Sanchez-Arreola E, Av-Gay Y, Bach.H. 2011.** Antimicrobial, anti-inflammatory, antiparasitic, and cytotoxic activities of *Galium mexicanum*. *Journal of Ethnopharmacology*,137. 141– 147.
6. **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., p : 331.
7. **Bourgeois.C.M et Larpent. 1996.** Microbiologie alimentaire. 2^{ème} édition. Ed.Tec&Doc. Lavoisier. Paris - France., p : 249.
8. **Brahat B.Aggrawal et Ajaikumar B.Kunnumakkara. 2009.** Modern uses for ancient medicine “Molecular targets and therapeutic uses of spices” Ed.World Scientific., p:15.
9. **Brain M.Lawrence. 2006.** Mint the genus *mentha*. Ed.CRC Press., p:3-4.
10. **Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Editions Tec & Doc. Lavoisier. Paris., p : 1120.

-C-

11. **Chaovanalikit, A. et R.E. Wrolstad. 2014.** Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *J. Food Sci.*, 69: 67-72.

-D-

- 12. Davidson P. Michael, Taylor T. Matthew, Schmidt Shannon E. 2013.** Chemical preservatives and naturel antimicrobial compounds. J. Food Microbiologie., 30 :765-768.
- 13. De Vuyst et E.J.Vandamme. 1994.** Bacteriocins of lactic acid bacteria, Microbiology. genetics and applications. Ed. Sringer Science. New York. p:1.5.14.
- 14. Denis, F., E. Bingen, C. Martin, M.C. Ploy et R. Quentin. 2011.** Bacteriologie Medicale. 2nd Edn. Elsevier Masson. Paris. ISBN: 9782294725944., p: 640.
- 15. Dohou N., Tahrouch S, Hassani L. M. I, Badoc A, Gmira N, Yamni K. 2003.** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine. Menthe verte (Mentha pipérita L) elya lythroides. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142, 61-78.

-E-

- 16. Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. 2007.** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- 17. Ernest Small et Grace Deutsch. 2001.** Conseil national de recherche Canada. Herbes culinaires pour nos jardins de pays froid. Editions NRC Research Press. p :122.
- 18. Enneb.H., Belkadhi.A, Cheour.F et Ferchichi.A. 2015.** Comparaisons des vomposées phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (lawsonia inermis L). Journal of New sciences, Volume 20(2), Tunisie. p : 790- 791.

-F-

- 19. Farroqi.A.A., Sreeramu.B.S et Srinivasappa.K.N. 2005.** Cultivation of spice crops. Universities press.,India., p: 268
- 20. François Couplan. 2009.** Le régal végétal: plantes sauvages comestibles. Ed.Ellebore., p : 365
- 21. François Fortin. 1996.** Encyclopédie visuels des aliments , Ed. Québec Amérique., p : 478.

-G-

- 22. Georges Corrieu et F.Marie Luquet. 2008.** Bactéries lactique de la génétique aux ferments. Ed. TEC&DOC. Lavoisier.Paris., p:438, 440.
- 23. Gresele.P., Cerlettic.C, Guglielmini.G, Pignatelli.P , De Gaetano.G et Violif. 2011.** Effet resveratol and other wine polyphenols on vascular function : an update . Journal of Nutritional Biochemistry (3): 201-211.

24. **Guignard, J. L. 2000.** Biochimie végétale. Dunod, Paris., p: 274.

-H-

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

26. **Hélène Brossard., Guy Leyarl et Odette Terry. 2008.** Activités technologiques en microbiologie. Bactériologie systématique. Ed.CRDP Aquitaine, France. p :23.

27. **Hème D., Wahl Danièle et Nardi Michèle. 1980 .** Variations de l'équipement enzymatique de *Streptococcus thermophilus*. Institut National de la Recherche Agronomique (C.N.R.Z.) - 78350 Jouy-en-Josas (France)., p :111.

-J-

28. **Jean Brutneton,2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} éditions. Ed.Tec&Dec. Lavoisier. P :161-162- 261.

29. **Jean-Marie Polese. 2006.** La culture des plantes aromatiques. Artemis. p :61.

30. **Jerez, M., M. Pinelo, J. Sineiro et M.J. Nunez. 2006.** Influence of extraction conditions on phenolic yields from pine bark: Assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis. Food Chem., 94: 406-414.

31. **Journal Officiel de la République Algérienne (JORA) N°86, 28 Rajab 1419** correspondant au **18 novembre 1998** relative aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leur mise à la consommation., p :22.

-K-

32. **Kra, A.K.M. 2001.** Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse de doctorat 3ème cycle UFR Biosciences.Univ. Abidjan., p: 126.

-L-

33. **Lamoureux L. 2000.** Exploitation de l'activité β - galactosidase de culture de bifidobacteries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. Mémoire de maitrise. Université de Laval. Canada.

34. **Lanrant bourgeois. 2013.** Remèdes et recettes à la menthe . Ed .Ustica .p : 01

35. **Leory.F , B.Degeest et L.DeVuyst. 2002.** A novel area of predictive modeling : describing the functionality of beneficial micro-organisms in foods. International Journal of Food microbial.p:73

36. Loones, A.1994. Laits fermentés par les bactéries lactiques. In bacteries lactiques : Aspectsfondamentaux et technologiques. De Roissart, H & Luquet , F. M. (Ed), Lorica. Uriage ., 2 : p :135-145.

37. Luhata P., Kanangila A. B, Kitawa E. K, Mulungulungu D, Lumbu J. B, Kalonda E. 2008. Étude chimique de l'espèce *Jacobinia carnea.*, Université de Lubumbashi.

-M-

38. Macheix Jean-Jacques., Fleuriet Annie et Jay-allemand Christian. 2005. Les composées phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Editions Press Polytechniques et Universitaires Romandes, Italie. :VII.

39. Marshall V .M.F .1987. Lactic acid bacteria : starters for flavor, FEMS Microbiology Review . p:46- 121.

40. Miloradovich. 2012. Growing and using herbs and spices. Ed.Dover Publications. p:104.

41. Moroh, J.L.A., C. Bahi, K. Dje, Y.G. Loukou and F. Guede-guina. 2008. Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides*(Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. Bulletin Societe Royale des Sciences Liege, 77: 44-61.

42. Muñoz Orlando . 1999. Plantas medicinales de uso en Chile : química y farmacología. Ed.Universitaria. p : 35.

-N-

43. Nathan.S Bryan. 2010. Food nutrition and the nitric oxide pathway. Biochemistry and Bioactivity. DEStech publications. USA. p: 119.

44. Naveen Gaurav., A.P.Singh, Abhishekh Srivastava, Arun Kumar, Prerna Chauhan. 2004. An experimental text book on"phytochemical analysis and antimicrobial activity of menthe piperita".Ed.Online Gatha. p:12.

-O-

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

46. Orla-Jensen S. 1924. La classification des bactéries lactiques. Ed.HAL. p : 471- 472.

-P-

47. Prescott, L.M., J.P. Harley and D.A. Klein. 2003. Microbiologie. De Boeck-Supérieur., p: 1137.

-R-

- 48. Ramiro Fonnegra.G et Silvia Luzy Jiménez.R .2007.** Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2^{ème} éditions. 1^{ère} éditions en 1999 . Ed.Universidade de Antioquia. Colombia. p :185.
- 49. Rejeb Imen. 2008.** Etude de l'effet de F irradiation sur les polyphénols du curcumin. Projet de Fin d'Etudes Pour l'obtention du Diplôme National d'Ingénieur. Université du 7 novembre à Carthage Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie., p :01.
- 50. Rizk A. M. 1982.** Constituents of plants growing in Qatar, Fitoterapia, 52 (2)., p 35-42.

-S-

- 51. Schmidt J.L., Tourneur C et Lenoir J. 1994.** Fonction et choix des bacteries lactiques laitières in « bacteries lactiques ». DE ROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, paris. p : 37-46.
- 52. Soto-Hermandey Marcos., Palma-Tenago Marianna et Maria Del Rosaria Garcia-Mateos. 2017.** Penolic compounds.natural sources , importance and application. Editions InTech. Rijeta,Croatia.p:120.
- 53. Stagos Dimitrios., Portisis Nicolaos, Spanou Chryssa, Mossialos Dimitrios, Aligiannis Nektarios, Aristidis M. Tsatsakis, Leandros Skaltsounis, Eleni Reri, Christos Panagoulis, Eliza Chaita, Dimitrios Kouretas. 2012.** Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterialactivity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species
- 54. Sultana, B., F. Anwar et M. Ashraf. 2009.** Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules., 14: 2167-2180.
- 55. Sylvie Verbois. 2002.** Palantes et herbes aromatiques, saveurs et vertus. Ed.Lanore fernand, France –Paris. P :159.

-T-

- 56. Tammime. A.Y.et.Robinson . R.K.2007.** Tamime and Robinson's Yoghurt: Science and Technology,3ème edition .Ed woodhead .p:469- 470.
- 57. Thayumanavan B and Sadasivam S. 2003.** Molecular Host Plant Resistance to Pests. Ed.CRC Pres LLC.

58. Truelle Auguste. 2011. Le jardin familial de plantes médicinales. Ed.Gloulik Science., p:133.

-V-

59. Vingola Carole.L. 2002. Science et technologie du lait , transformation du lait. Editions Press internationales polytechnique, Québec. Canada. p : 95, 459.

-W-

60. Wilfred Vermerrise et Ralph Nicholas. 2008. Phenolic compound biochemistry .Ed.Springer. p:1-2-3.

61. William.G. Horkins. 2003. Physiologie végétale. 2^{ème} editions. Ed.Boeck.p:276.

62. Wilson Mélinda. 2007. Fleurs comestibles du jardin à table. Fides. p :130

63. World Health Organization (WHO).2002. Selected medicinal plants, Volume 2.Geneva.p:188.

-Y-

64. Yildiz Fatih. 2010. Developement and manufacture of yogurt and other functional dairy products. Ed. CRC press. p:101.

-Z-

65. Zheng, W. et S.Y. Wang. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Journal of Agricultural and Food chemistry. p. 5165-5170.

66. Zrihi, G.N., A.K.M. Kra et D.T. Etien. 2007. Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) (Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*. Revue Méd. Pharm. Afr., 20: 9-17.

Sites :

1. Doctissimo : <https://www.doctissimo.fr/sante/aromatherapie/guide-huiles-essentielles/huile-essentielle-de-menthe-poivree>, consulté le 02/07/2020 à 08 :35
2. Fankhauser.David, 9 juillet 1995 . milk fermenters
:<https://fankhauserblog.wordpress.com/1995/07/09/milk-fermenters/> consulté le 19/08/2020 à 10 :34
3. Science source . Streptococcus termophilus :
<https://www.sciencesource.com/archive/Streptococcus-termophilus-in-yogurt-SS2134628.html> , consulté le 19/08/2020 à 10 :50

4. Wees David, 4 mars 2015 . Mentha. Encyclopédie canadienne :

<https://thecanadianencyclopedia.ca/fr/article/menthe> , consulté le 29/06/2020 à 02 :50

Annexes

ANNEXES

Annexe 1

1-Matériels consommable et non consommable :

Matériels consommable	Matériels non consommable
-Pipettes Pasteur	-Mortier
-Boites Petrie	- Entonnoir
-Papier Wathman n°3	-Béchers
-Cuves de spectrophotomètre	-Tubes à essai
-Papier aluminium	-Verre de montre
	- Anse à platine stérile
	-Pro-pipette
	-Pipette graduée 10ml
	-Erlenmeyers
	-Flacons....

2-Les appareils

-Spectrophotomètre	- Bain marie
-Etuves d'incubation à 37°C	- Balance de précision
-Agitateur magnétique	-Rota-vapeur
-Bec bunsen	-Autoclave

3-Les milieux de culture et réactif

Les milieux de culture	Les réactifs
M17	Eau physiologique
Muller Hinton agar	Gentamicine
Bouillon nutritif	

Annexe 2

1-Composition de la gélose M17 selon Terzaghi et Sandine pour 1L :

Peptone	10g
Extrait de viande	5g
Extrait de levures	2,5g
Glycérophosphate de Sodium	19g
Sulfate de magnésium.....	0,25g
Acide ascorbique	0,5g
Agar-Agar.....	15g
Glucose	0,5g
Eau distillée.....	1L
Ajuster le PH du milieu entre.....	7,1 à 7,2

2-Bouillon nutritif : Pour 1L de milieu

Peptone	5,0g
Extrait de viande.....	3,0g
Extrait de levure	2,0g
Chlorure de sodium.....	5,0g
L'eau distillée.....	1000ml
pH du milieu.....	7,0 ± 0,2.

3-Muller Hinton agar : Pour 1 L de milieu (3,8g /L)

Hydrolysât de caséine (tryptone).....	17,5 g
Extrait de viande.....	3,0 g
Amidon.....	1,5 g
Agar-Agar.....	18,0 g
pH du milieu.....	7,3 ± 0,2.
L'eau distillée.....	1000ml

Eau physiologique : Pour 1 litre de milieu :

Chlorure de Sodium.....	9,0 g
L'eau distillée.....	1000ml
pH du milieu.....	7,0 ± 0,2

Annexe 3 :**Dénombrement des *Streptococcus thermophilus*:****- Milieu de culture : M17**

- Ensemencement : couler 12 à 15 ml de M17 fondu au préalable et refroidi à 45°C dans les boîtes de Petri. Après solidification de milieu, prélever aseptiquement 0,1 ml des dilutions concernées à l'aide d'une pipette de Pasteur et introduire dans la boîte de Petri en le répartissant en surface à l'aide d'un râteau.

- **Incubation** : pour le dénombrement de *Streptococcus thermophilus* placer les boîtes de Petri dans l'incubateur à 37°C±1°C de 24 à 48 heures.

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