



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

KOUZRIT Kacem & MOSBAH Zohir

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES AGRONOMIQUES

Spécialité: BIOTECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

THÈME

Contribution à l'étude de la qualité et la stabilité d'un lait fermenté
aliquement (type yaourt étuvé) additionné d'extrait au méthanol de
Thymus vulgaris (Thym) récolté dans la région de SETIF

Soutenues publiquement le 15/06/2017

DEVANT LE JURY :

Président	M. BOUDEROUA. K	Professeur	Univ. Mostaganem
Encadreur	M. AIT SAADA. D	MCCA	Univ. Mostaganem
Examineur	M. BENMILOUD. D	MACC	Univ. Mostaganem
Examineur	M. BEKADA. A	Professeur	Univ. Tissemsilt
Invité	M. HAROUNE	Doctorant	Univ. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire Technologie Alimentaire et Nutrition et le laboratoire de Microbiologie de l'Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2016/2017

Remerciements

Nous remercions Dieu " الله " Tout Puissant et Miséricordieux de nous avoir donné santé, volonté, courage et patience pour réaliser ce travail.

Un remerciement exceptionnel à nos parents et à toute notre famille pour leur soutien, et leurs encouragements.

Nos vifs remerciements s'adressent à :

- Notre promoteur AIT SAADA DJ pour son encadrement, ses orientations et ses conseils ainsi que pour le temps qu'il nous a consacré pour la réalisation de ce travail.*

Je tiens à exprimer nos plus vifs remerciements aux membres de jury :

- Mr. BOUDEROUA K, Professeur à l'université de mostaganem, d'avoir accepté de présider ce travail.*
- Mr. BENKADA A, Professeur à l'université de mostaganem d'avoir examiné ce travail.*
- Mr. BENMILOUD DJ, Maître-assistant au département d'agronomie à l'université de mostaganem d'avoir examiné ce travail.*

A M.MOHAMED et Mme. MOUKHTARIA D'avoir bien réalisé ce travail au laboratoire d'université.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :



- *Ma très chère et douce mère et mon très cher père, qui ont sacrifié pour moi et qui ont soutenu moralement et financièrement.*
- *Mes très chers frères : Abderrahmane et Abdelaziz, mes chères sœurs M&L M, et ma grande famille KOUZRITE.*
- *Ma très chère fiancée BOUHDIWA K, qui m'aider de tout ce qu'elle possède.*
- *Mon très cher binôme MOSBBAH Zohir.*
- *Toutes les promotions des 2ème années Master Agronomie surtout celle de biotechnologie alimentaire 2016/2017.*
- *Le cadre éducatif de l'institut AMMI SAID.*
- *A tous mes chères amis et collègues.*
- *Ainsi à tous les personnels de la société, de près ou de loin, se sont sacrifiés pour moi.*



Kacem

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

- *Mon dieu l'unique maître des terres et des cieux,*
- *Les plus idéaux hommes et femmes dans ma vie « mon père et ma mère »*
- *A mon amour et ma très cher mari  Babeker F  pour leurs soutiens, compréhension et patience.*
- *A mes frères Ahmed et Sliman et mes belles sœurs.*
- *ma grande famille Mosbah et Houdjadj.*
- *Mon cher binôme et frère Kouzrit Kacem et tous mes collègues.*
- *Toute ma promotion d'agronomie et surtout celle de biotechnologie alimentaire.*
- *A mes chers cousins surtout Soufian .H , ilyes .M et Moussa.T.*
- *A tous ceux qui, de près ou de loin, se sont sacrifiés pour moi.*



Zohir

Sommaire

REMERCIEMENT.....	A
LISTE DES TABLEAUX.....	B
LISTE DES FIGURES.....	C
LISTE DES ABREVIATIONS.....	D
RESUME.....	E
INTRODUCTION.....	01

PARTIE 01

ÉTUDES BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01 : Généralités sur les yaourts

1.1.1. Définition.....	02
1.1.2. Historique.....	02
1.2. Matières utilisées pour la production du yaourt.....	02
1.2.1. Lait frais.....	02
1.2.1.1. La poudre de lait.....	03
1.2.2. Les bactéries caractéristiques du yaourt.....	03
1.2.2.1. Caractéristiques générales des bactéries du yaourt.....	03
1.2.2.1.1. Streptococcus thermophilus.....	03
1.2.2.1.2. Lactobacillus bulgaricus.....	04
1.2.2.2. Intérêts et fonctions des bactéries du yaourt.....	04
1.2.2.2.1. Production d'acide lactique.....	04
1.2.2.2.2. Activité protéolytique.....	04
1.2.2.2.3. Activité aromatisant.....	04
1.2.2.2.4. Activité texturant.....	05
1.3. Les différents types du yaourt.....	05
1.4. Technologie du yaourt.....	05
1.4.1. Standardisation du mélange.....	05
1.4.2. Traitement thermique.....	06
1.4.3. Ensemencement.....	06
1.4.4. Réchauffage.....	06
1.4.5. Etuvage / brassage.....	07
1.4.5.1. Phase d'incubation (Etuvage).....	07

1.4.5.2. Brassage.....	07
1.4.6. Conservation des yaourts.....	08

Chapitre 02 : Le Thym (*thymus vulgaris*)

1. Présentation	09
2. Historique.....	09
3. Classification	09
4. Description botanique	09
5. Production	10
6. Répartition géographique dans le monde.....	10
6.1. Pays d'origine	10
6.2. Principaux pays producteurs	10
6.3. Principaux pays exportateurs	10
7. Culture :	10
8. Récolte	10
9. Conservation	11
10.Composé bioactifs	11
11. Utilisation	12
11.1. Le thym en médecine :	12
11.2. Pharmacologie évaluation clinique	12

PARTIE 02 : Méthodologie

1. Objectifs	13
2. Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal	13
3. Extraction des composés bioactifs	14
4. Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi d'extraits de thym.....	14
4.1. Protocole expérimental.....	14
4.2. Préparation des levains.....	15
4.3 .Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux	15
5. Mesures et contrôles	15
5.1. Paramètres physicochimiques	15
5.1.1. Mesure du Ph.....	15
5.1.2.Détermination de l'acidité Dornic (°D).....	15
5. 1.3 Viscosité.....	16
5.1. 3.1Appareillages	16
5.1.3.2 Mode opératoire	16
5.1.3.3 Expressions des résultats.....	16
5.2. Analyses microbiologiques	17

5.3 .Test organoleptique.....	19
6. Traitement statistique.....	19

PARTIE 03 : Résultats & discussion

1. Résultats.....	20
1.1. Analyses physico-chimiques.....	20
1.1.1. PH	20
1.1.2. L'acidité Dornic.....	21
1.1.3. Viscosité.....	22
1.2. Analyses microbiologiques.....	24
1.2.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	24
1.2.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	25
1.3. Tests organoleptiques.....	27
1.3.1. Goût acide.....	27
1.3.2. Cohésivité.....	28
1.3.3. Adhésivité.....	29
1.3.4. Arrière-gout.....	30
1.3.5. Couleur.....	31
1.3.6. Gout de fraîcheur.....	32
1.3.7. Odeur.....	33
2. Discussion.....	34
Conclusion.....	36

Liste des tableaux

Tableau 1.	Evolution du PH des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.	21
Tableau 2.	Evolution de l'acidité Dornic des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym...	22
Tableau 3.	Variation de la viscosité des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.....	23
Tableau 4.	Evolution du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.....	25
Tableau 5.	Evolution du nombre de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.....	26
Tableau 6.	Variation sensorielle du gout acide (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i>	27
Tableau 7.	Variation de la cohésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i>	28
Tableau 8.	Variation de l'adhésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i>	29
Tableau 9.	Variation de l'arrière-gout (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i>	30
Tableau 10.	Variation de la couleur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i>	31
Tableau 11.	Variation de gout de fraîcheur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i>	32
Tableau 12.	Variation de l'odeur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i>	33

Liste des figures

Figure 01.	Diagramme des principales étapes de fabrication du yaourt.....	08
Figure 02	Rameau de <i>Thymus vulgaris</i>	09
Figure 03.	Zone de prélèvement du matériel végétal (données cartographique, Google Maps, 2017).....	13
Figure 04.	Broyage de la partie de la plante <i>Thymus vulgaris</i> par un broyeur à lame.....	14
Figure 05	Agitation de pendant 6h.....	14
Figure 06	Filtration de l'extrait par une pompe de sous vide.....	14
Figure 07	Évaporation de solvant (méthanol) à sous vide à 45 °C.....	14
Figure 08	Activation des Souches (<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i>)	15
Figure 09	Titration acidobasique pour déterminer l'acidité °Dornic.....	16
Figure 10	Milieux M17 et MRS.....	17
Figure 11	Techniques d'isolement des bactéries lactiques à partir des échantillons yaourts.....	18
Figure 12	Evolution du pH des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.....	20
Figure 13	Evolution de l'acidité Dornic des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.....	21
Figure 14	Evolution de la viscosité (p/s) des laits fermentés additionnées d'extraits de thym au méthanol.....	23
Figure 15	Evolution du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> (N.10 ⁴ UFC/ml) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.	24
Figure 16	Evolution du nombre de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (N.10 ⁴ UFC/ml) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.	25
Figure 17	Variation sensorielle du gout acide (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i> .	27
Figure 18	Variation de la cohésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i> .	28
Figure 19	Variation de l'adhésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i> .	29
Figure 20	Variation de l'arrière-gout (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i> .	30
Figure 21	Variation de la couleur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i> .	31
Figure 22	Variation de gout de fraîcheur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i> .	32
Figure 23	Variation de l'odeur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de <i>Thymus vulgaris</i> .	33

Liste des abréviations

M : La masse

g : gramme

ml : Millilitre

l : litre

% : Pourcentage

UFC /ml : Unité formant colonie par millilitre

MRS : De Man Rogosae et Sharp

P/P : Poids sur Poids

V/V : volume sur volume

S/L : Souche par litre

PH : potentiel hydrogène

°D : degré Dornic

NaOH : Hydroxyde de sodium

UHT : Ultra haute température

Kcal : kilo calorie

EPS : exo polysaccharide

IAP : indice d'azote protéiques

FAO : Food and Agriculture Organization

OMS : Organisation mondiale de la santé

Lb. : Lactobacillus

St. : Streptococcus

RISUME

Les objectifs assignés à travers cette étude est de suivre les effets d'incorporation des principaux composés bioactifs de Thym (*thymus vulgaris*) extrait par le biais d'un solvant organique polaire à savoir le méthanol sur la stabilité physico-chimiques et microbiologique et organoleptique d'un lait fermenté type yaourt étuvé durant deux période expérimentales ; 4 heures de fermentation et 21 jours de conservation des échantillons au froid à 4 °C. Durant ces deux périodes d'essais des mesures physicochimiques (PH, acidité et viscosité), ainsi que microbiologiques (dénombrement des germes spécifiques du yaourt) et organoleptiques (goût acide, cohésivité, adhésivité, fraîcheur, couleur et odeur) ont été effectués en triples essais dans chaque échantillon expérimental.

L'acidité des lais fermentés semble nettement diminuer avec l'augmentation des doses d'extrait au méthanol de Thym, ce qui s'est traduit par une augmentation des valeurs de PH des produits conservés.

Durant l'expérimentation l'acidité des essais expérimentaux n'a pas toutefois dépassé les normes admise commercialement de 150 °D.

Il est observé aussi une relation inversement proportionnelle des valeurs de la viscosité des échantillons avec l'augmentation des taux d'incorporation d'extrait au méthanol de Thym de 0 à 8%.

Par ailleurs, à des taux d'incorporation d'extrait de Thym élevé le nombre moyenne des germes spécifiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* dans les essais est diminué. Toutefois, le nombre en ces germes recensé semble répondre à la normale de 10^7 UFC/ml admis pour un yaourt ferme étuvé.

Les laits fermentés préparés à 2 et 4% d'extrait au méthanol de Thym ont été très bien acceptés par les panelistes, au même titre que le yaourt témoin, surtout pour les critères sensoriels suivants (goût et couleur). Cependant les autres laits fermentés additionnés d'extrait de Thym n'ont pas bien été appréciés par le jury de dégustation.

Mots clés : extrait methanolique, *Thymus vulgaris*, lait fermenté, physicochimique, microbiologique, organoleptique.

Introduction

L'évolution du consommateur vers la recherche d'un nouveau goût dans l'aliment, néanmoins dépourvus d'additifs artificiels pour une tendance à une consommation biologiques, contribue actuellement au développement de la consommation des produits naturels qui deviennent aussi une des caractéristiques de l'alimentation particulière dite de diététique moderne.

Le yaourt est l'un des produits préféré par le consommateur, c'est un produit vivant dont l'intérêt nutritionnel réside en la présence des bactéries lactiques.

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al. 2001**). De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre les utilisent surtout comme substitution aux traitements conventionnels.

Le thym est une plante médicinale et aromatique très utilisé en médecine traditionnelle et comme condiments alimentaires. Elle contient plusieurs composés bioactifs dont le thymol, le carvacrol, les flavonoïdes utilisés dans les préparations alimentaires, pharmaceutiques et en parfumerie. À la fois antibactériennes et fongicides, ils possèdent des propriétés antispasmodiques et antioxydants démontrés.

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

Notre intérêt s'est porté à l'étude des effets antimicrobiens de l'extrait au Méthanol de *Thymus vulgaris* (Thym) récolté dans la région de SETIF localisée à l'est de l'Algérie sur la qualité et la stabilité d'un lait fermenté alicament type yaourt ferme.

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

- 1- Procéder à une extraction des principaux composés bioactifs de la plante par usage d'un solvant polaire à savoir : le Méthanol.
- 2- Essayer d'incorporer les extraits de *Thymus vulgaris* dans la fabrication d'un lait fermenté type yaourt ferme en vue de suivre leurs effets sur la stabilité et la qualité des produits transformés (laits fermentés) durant 21 jours de conservation au froid à 4 °C.

PARTIE 01

Etudes Bibliographiques

Chapitre 01 : Généralités sur les yaourts

1.1.1. Définition :

D'après le Codex Alimentarius, le yaourt est 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* (*St. Thermophilus*) à partir du lait frais ainsi que du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition de substances (lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines lactosériques concentrées ou non, la caséine alimentaire ...etc.). Les micro-organismes du produit final doivent être viables et abondants.

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

1.1.2. Historique :

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

Dans le sillage des découvertes de Louis Pasteur sur la fermentation lactique, de nombreux chercheurs s'intéressent aux micro-organismes présents dans le lait. En 1902, Ris et Khoury, deux médecins français, isolent les bactéries présentes dans un lait fermenté égyptien. Metchnikoff (1845-1916) isole ensuite la bactérie spécifique du yaourt « le bacille bulgare », analyse l'action acidifiante du lait caillé et suggère une méthode de production sûre et régulière (**Rousseau, 2005**).

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

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

L'apparition du yaourt brassé a constitué une autre étape importante de la commercialisation des laits fermentés. En outre, le développement commercial des produits probiotiques est important et correspond à une demande du consommateur (**Brule, 2003**).

1.2. Matières utilisées pour la production du yaourt :

1.2.1. Lait frais :

Le lait est un produit de forte valeur nutritionnelle. C'est l'un des rares aliments à contenir une teneur équilibrée en nutriments de base (glucides, lipides et protides). C'est aussi l'un des rares à convenir à toutes les tranches d'âge (nourrissons, enfants, adolescents, adultes, personnes âgées) qui le consomment tel quel à l'état liquide (lait frais) ou sous forme de produits dérivés (fromages, yaourts, crèmes glacées...etc). Avec une valeur énergétique de l'ordre de 700Kcal/l, le lait de plusieurs espèces animales constitue une source importante et relativement bon marché d'apport quotidien en acides aminés et acides gras essentiels ainsi qu'en calcium alimentaire. Le lait est aussi riche en d'autres sels minéraux (notamment phosphore et magnésium) et en vitamines du groupe B (B1, B2, B5 et B12) et en vitamine A (**Anonyme, 1995**).

Pour répondre à ces besoins, le lait bovin est le plus utilisé dans le monde et dans notre pays. Les espèces voisines (ovin, caprin, camelin) représentent un pourcentage de production relativement faibles, n'excédant pas 10% (**Anonyme, 1995**).

1.2.2. La poudre de lait :

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

Les poudres commercialisées sont en réalité de trois types, classées selon l'intensité du traitement de déshydratation (et le degré de dénaturation qu'il génère) opéré : poudre « low heat », medium heat et « high – heat ». Le degré de dénaturation est exprimé par l'indice d'azote protéique (IAP ou WPNI en anglais) en milligrammes de protéines sériques non dénaturées (psnd) par gramme de poudre considérée (**Modler, 1985 ; Campbell et Pavlasek, 1987**).

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

Les poudres type « médium heat » (WPNI compris entre 1,5 et 5,9) possèdent une bonne capacité d'hydratation et d'activité de surface. Elles sont utilisées notamment dans les fabrications de crèmes glacées, desserts congelés...etc (**Modler, 1985 ; Campbell et Pavlasek, 1987**).

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

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

1.2.3. Les bactéries de yaourt :

1.2.3.1. Caractéristiques générales des bactéries du yaourt :

1.2.3.1.1. *Streptococcus thermophilus* :

St. Thermophilus est une cocci Gram positif, anaérobie facultative, non mobile. On le trouve dans les laits fermentés et les fromages (**Dellaglio et al, 1993 ; Roussel et al, 1994**). C'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (**Dellaglio et al, 1994**). Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposées en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C. Son métabolisme est du type homofermentaire (**Lamoureux, 2000**).

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

1.2.3.1.2. *Lactobacillus Bulgaricus* :

Lb. Bulgaricus est un bacille Gram positif, immobile, aspérule, microaérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chaînettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucres par voie d'Emden Meyerhof. Il est incapable de fermenter les pentoses (Marty-Teysset et al, 2000).

Lb. Bulgaricus est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en Magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 42 °C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (Marty-Teysset et al, 2000).

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

1.2.3.2. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt :

1.2.3.2.1. 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 (Schmid et al., 1994). Le métabolisme est du type homofermentaire (production exclusif de l'acide lactique).

L'acidité du yaourt est communément exprimée en degré Dornic (1°D = 0,1g/l d'acide lactique). Elle se situe entre 100 et 130 °D pour le yaourt brassé et entre 80 et 90 °D pour le yaourt étuvé (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 (Tamme et Robinson, 1999 ; Singh et al., 2006) ;
- intervient comme inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes indésirables (Leory et al., 2002).

1.2.3.2.2. Activité protéolytique :

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

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

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

1.2.3.2.3. Activité aromatisant :

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) ; de la Thréonine par l'action de la Thréonine aldolase.

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

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

1.2.3.2.4. 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 formant des filaments, limitent l'altération du gel par les traitements mécaniques et contribuent à la viscosité du yaourt (Schmidt et al., 1994).

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

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

1.3. Les différents types de yaourts :

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

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

1.4. Technologie de fabrication :

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

Les étapes de fabrication (résumées sur la figure 01) peuvent différer selon qu'on a affaire à un yaourt « étuvé » dont la fermentation se fait après conditionnement en pots et le yaourt « brassé », dont la fermentation se fait en cuve. Le coagulum obtenu dans ce dernier cas est dilacéré et brassé pour être rendu plus ou moins visqueux, puis conditionné en pots.

Globalement, nous distinguons dans le processus d'élaboration les étapes énumérées ci- dessous (Schmid et al., 1994).

1.4.1. Standardisation du mélange :

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

La teneur en matière grasse du yaourt est variable. Généralement, elle est ajustée de sorte que le produit

entre dans l'une des catégories ci-après :

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

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

La consistance et la viscosité du yaourt sont pour une grande partie sous la dépendance de la matière sèche du lait. La matière grasse confère de l'onctuosité, masque l'acidité et améliore la saveur. Les protéines améliorent la texture et masquent aussi l'acidité.

Selon le Code des recommandations FAO/OMS (1975), la teneur minimale en matière sèche laitière non grasse doit être de 8,2 % (en poids) quelle que soit la teneur en matière grasse (**Schmid et al., 1994**).

1.4.2. Traitement thermique :

La préparation du lait terminée, celui-ci est soumis alors à un traitement thermique de pasteurisation (94 à 96°C pendant 3 à 5 minutes). Ce traitement a pour but de :

-Détruire les micro-organismes pathogènes pouvant être présents et la plus grande partie de la flore banale. Il permet aussi la suppression éventuelle d'inhibiteurs naturels et la stimulation des bactéries par l'apparition de facteurs de croissance ;

-provoquer un déplissement par dénaturation partielle des protéines solubles et leur fixation sur les caséines. Cet effet a pour conséquence d'augmenter les capacités de rétention d'eau du yaourt entraînant la modification des propriétés rhéologiques du coagulum acidifié. Le caillé devient plus ferme et la tendance à l'expulsion de sérum au cours du stockage est réduite. Avec ce traitement, le yaourt brassé présente une structure plus homogène et visqueuse (**Anonyme, 1995**).

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

1.4.3. Ensemencement :

Elle se fait à l'aide d'un levain comprenant exclusivement chacune des deux bactéries spécifiques du yaourt : *Streptococcus salivarius, subsp. Thermophilus*, et *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*. La culture utilisée est ensemencée à raison de 2%. Une bonne agitation est nécessaire pour rendre parfaitement homogène le mélange lait/ferment (**Anonyme, 1995**).

1.4.4. Réchauffage :

Le lait reconstitué ainsi ensemencé est amené à une température généralement voisine de 45 °C par passage à travers des réchauffeurs à plaques. La température optimale de développement du Streptocoque est de 42-45°C ; celle du Lactobacille de 47-50°C (**Anonyme, 1995**).

Selon les régions, les consommateurs préfèrent des yaourts plus ou moins acides et plus ou moins aromatiques. Les caractères recherchés dépendent des souches utilisées et de la température d'incubation. En abaissant celle-ci de 1 à 3°C (42-44°C), on favorise le développement du streptocoque et donc la production d'arôme. En l'augmentant légèrement (45-46 °C), on favorise le lactobacille et donc la production d'acide (**Anonyme, 1995**).

1.4.5 Etuvage / brassage :

Selon la nature du yaourt à fabriquer, on procède soit à une incubation au niveau des chambres chaudes (dans le cas du yaourt ferme) ou à une fermentation:

1.4.5.1 Phase d'incubation (étuvage) :

Dans le cas des yaourts étuvés (dit aussi en pot, fermes ou traditionnels), le laitensemencé est rapidement réparti en pots en plastique (poly-vinyl). Dans le cas des yaourts sucrés, aromatisés, aux fruits, à la confiture... etc, l'apport des additifs se fait avant le remplissage des pots (**Anonyme, 1995**).

Après le capsulage (fermeture étanche par une membrane en aluminium), les pots sont acheminés vers une chambre chaude pour incubation qui dure environ de 2 à 3 heures. L'acidification dépend de la température et de la durée d'incubation (**Anonyme, 1995**).

Les pots sont maintenus dans l'étuve jusqu'à l'obtention d'une acidité de 0,75 (au minimum) à 1% environ d'acide lactique, soit 75 à 100° Dornic. Le caillé obtenu dans ces conditions doit être ferme, lisse et sans exsudation de sérum (**Anonyme, 1995**).

Une fois l'acidité attendue est atteinte, les pots de yaourts sont alors immédiatement sortis des locaux d'étuvage, refroidis le plus rapidement possible à la température de +4°C, ce qui a pour but d'arrêter l'acidification par inhibition des bactéries lactiques. Les pots sont ensuite stockés à cette température pendant 12 à 24 heures de façon à augmenter la consistance du produit sous l'effet du froid (**Anonyme, 1995**).

1.4.5.2. Brassage :

En vue de fabriquer des yaourts brassés, le laitensemencé est maintenu en cuve à la même température que dans le cas des pots (entre 42 et 46 °C) jusqu'à obtention de l'acidité voulue. On procède par la suite au découpage et au brassage du caillé pour le rendre onctueux. Ce traitement, qui doit se faire avec précaution pour ne pas induire des transformations indésirables, a pour but de rendre le caillé onctueux. Il doit être réalisé avec précaution en optant par l'un des procédés suivants :

- agitation mécanique à l'aide d'un brasseur à turbine ou à hélice.
- - passage du gel à travers un tamis.
- homogénéisation à basse pression.

Une fois ce traitement opéré, le caillé est immédiatement et rapidement refroidi à une température inférieure à 10 °C. La réfrigération dans le tank se fait trop lentement et peut provoquer une sur acidification. C'est pour cette raison qu'elle doit être réalisée par passage dans un échangeur-réfrigérant à plaques ou tubulaire. Le brassage du caillé au cours de la réfrigération améliore l'onctuosité du produit (**Schmid et al., 1994**).

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

Notons que le yaourt à boire se différencie du brassé par son état liquide qui l'assimile à une boisson. Sa fluidité est obtenue par une diminution de la teneur en matière sèche. Le brassage, effectué par passage à l'homogénéisateur sous pression inférieure à 50 atmosphères, donne une viscosité inférieure d'environ 50 % à celle obtenue par brassage mécanique (**Schmid et al., 1994**).

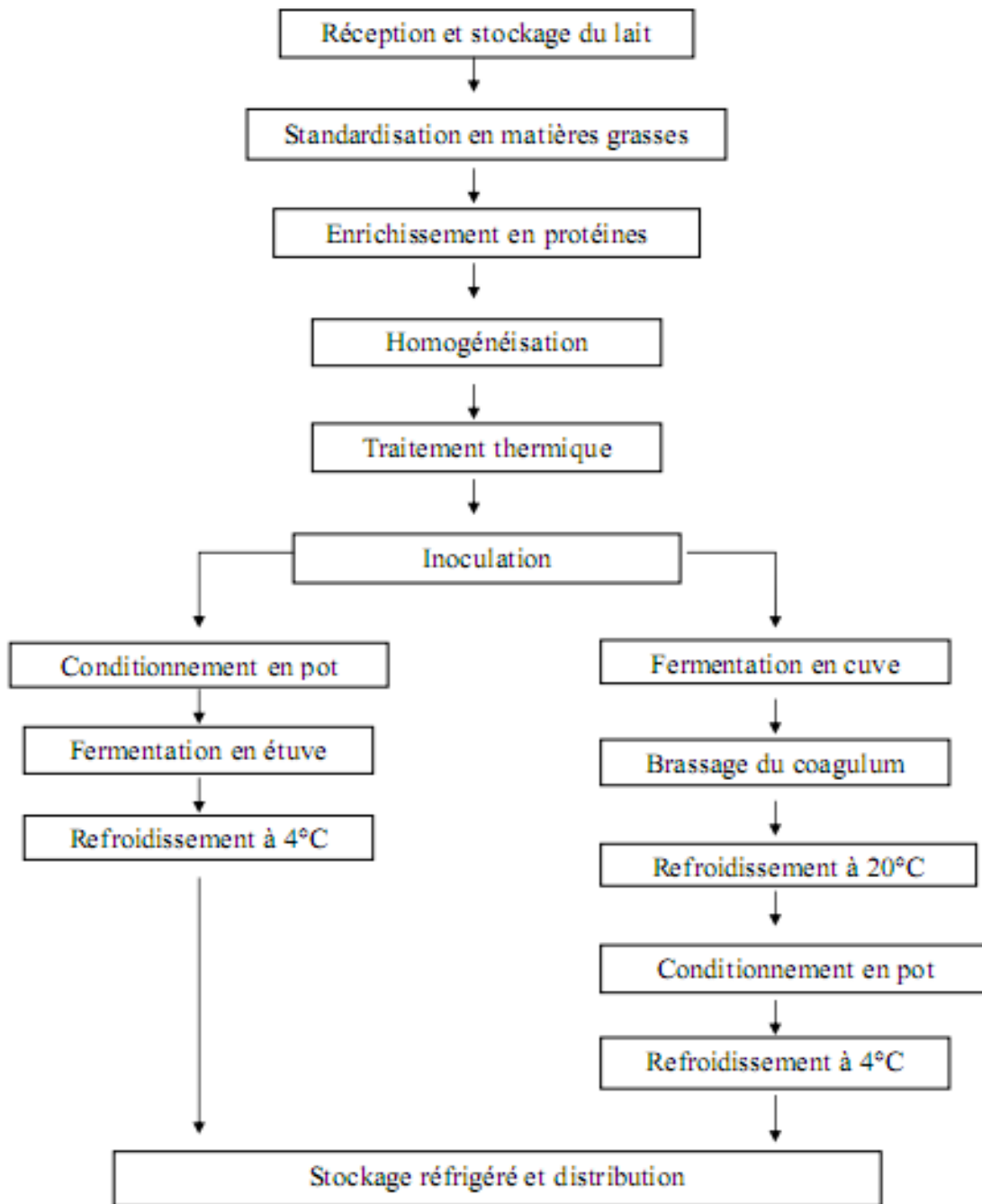


Figure 01. diagramme des principales étapes de fabrication du yaourt (Loones, 2004)

1.4.6. Conservation des yaourts :

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

Si le maintien des yaourts au froid empêche la multiplication bactérienne, il n'arrête pas complètement leur activité métabolique. Bien que lente, la production d'acide lactique se poursuit. De plus, des enzymes hydrolysent les protéines avec, comme conséquences, une diminution de la fermeté et de la viscosité et l'apparition de peptides à goût amer. Pour ces raisons, on procède parfois, quand la réglementation le permet, à un traitement thermique après la fermentation (Lamoureux, 2000)

Chapitre 02 : Le Thym (*Thymus vulgaricus*)

1. Présentation :

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

Le Thym commun dans le midi et fréquemment cultivé dans les jardins est le Thym vulgaire, *Thymus vulgaricus*. Les provençaux le nomment "farigoule" en provençal *farigoulo*. Ce terme provient du latin *ferus*, sauvage.

Les autres espèces des plantes rampantes que l'on regroupe sous le nom globale de "serpolet" ce nom dérive, via le provençal, du latin *serpyllum* qui désignait les Thym rampantes (également *serpillum*). Il vient du grec *herpillon*, désignant les plantes, d'*erpo*, rampet (Couplan, 2012).

2. Historique :

Dans ses divers pays d'origines, le Thym était connu en qualité d'aromate depuis l'Antiquité, bien que l'on ne sache pas exactement quelle espèce de Thym étaient utilisées à cette époque. Dioscoride (2^e moitié de 1^{er} siècle) et Hippocrate (460 à 370 avJ-C).

Le mentionnent déjà dans leurs écrits. Ce sont les Romains qui l'ont introduit en Angleterre. Comme de nombreuses autres plantes médicinales et aromatiques, son usage s'est répandu dans toute l'Europe, dès le début du moyen Age, grâce au moine bénédictin. Le Thym entrain dans la composition de diverses préparations (alcoolature vulnéraire, baume Tranquille, baume *Opodeldoch*...) et faisait partie des espèces vulnéraires (Teuscher, 2005).

3. Les caractéristiques du Thym est communément les suivants :

- Famille : Lamiaceae/labiateae (Lamiacées).
- Autres noms : Thym culyivé, frigoule, barigoule.
- Origine : Bassin méditerranéen.
- Taille : arbrisseau nain atteignant 10 cm.
- Caractéristiques : feuilles linéaires à bord enroulé (Kothe, 2007).

4. Description botanique :

Les Thymus sont des sous-arbrisseaux à tige dressées, ligneuses, tortueuses et très rameuse. Les rameaux portent des feuilles opposées, subsessiles. Les fleurs, petites, mauves, zygomorphes, sont groupées en glomérules ovoïdes.



Les feuilles de *Thymus vulgaris*, lancéolées ou linéaires (4-12×3mm), ont un limbe coriace, fortement enroulé sur les bords vers la face ventrale. Leur face dorsale est marquée par une nervure centrale déprimée ; les deux faces

Figure 02. Rameau de *Thymus vulgaris*

sont recouvertes d'un indument gris à gris vert. Les fleurs à calice tubuleux, vert bilabié et obturé après la floraison par une couronne de longs poils raides, ont une corolle brunâtre à desséché, faiblement bilabée, deux fois plus longue que le calice (Bruneton, 2009).

5. Production :

Durant la première année de culture, la récolte a lieu juste avant la floraison (jusqu'à fin septembre) et dans la seconde année, de juin à début septembre, à environ 10cm au-dessus du sol. Deux coupes annuelles sont donc possible, la première en début de floraison, la seconde en début d'automne. C'est en début d'après-midi que la teneur en huile essentielle est maximale. Après séchage entre 35 et 40 °C, le montage et le tamisage sont réalisés, de manière mécanique. Pour un usage personnel, il est recommandé de récolter les feuilles fraîches et les tiges fleuries au fur à mesure des besoins. Dans un contexte industriel, le Thym est récolté encore aujourd'hui en partie de pieds, à partir de pieds sauvages (Teuscher, 2005).

6. Répartition géographique dans le monde :

6.1. Pays d'origine :

Les pays d'origine dans espèces de *Thymus* sont partiellement ceux situés dans les méditerranéennes s'étalant de à l'Ouest de l'Europe jusqu'au sud de l'Italie (Teuscher et al, 2005).

6.2. Principaux pays producteurs :

Les principaux pays producteurs sont surtout en Europe, plus particulièrement la France, l'Espagne, la Grèce, le Portugal, l'Italie, la Tchétchénie, la Hongrie la Pologne, l'Ukraine, le Maroc, l'Algérie et les Etats Unis, l'Inde, l'Argentine, l'Afrique de l'ouest et du sud (Teuscher et al... ; 2005).

6.3. Principaux pays exportateurs :

Espagne, Pologne, Hongrie, avec en outre le Maroc, l'Autriche, l'Italie, l'Albanie, la Bulgarie, la Roumanie, le Portugal, LA France, l'Angleterre, l'Allemagne, et le Nord de l'Amérique (Teuscher et al...; 2005).

7. Culture :

Le Thym pousse bien sur des endroits naturels, sur sol légers et calcaires ; mais il prospère toute aussi bien sur sols fertiles argileux non détrempés, il nécessite des endroits bien ensoleillés et supporte relativement bien la sécheresse. C'est d'ailleurs sur sol pauvre (maquis, rocaille de garrigues) que se développe le mieux son arôme. Dans les endroits de fortes gelées, une protection est recommandée durant l'hiver.

Sa multiplication se fait par semis superficiel (germination à la lumière), réalisé mi-avril ou plus rarement en août, en rangées écartées d'environ 20 à 30 cm, de préférence sur sol léger et sablonneux. Une pré-culture sous châssis dès la mi-mars, suivie d'une plantation définitive, est également possible. Pour éviter l'hétérogénéité des qualités de semences, la multiplication peut également se faire par division des souches, de préférence au printemps, ce qui permet d'obtenir rapidement des plantes rigoureux. Le Thym croit également bien dans les rocailles et se cultive également en pots la culture est possible durant 4 à 6 années. Elle peut se faire à partir de diverses qualités comme par exemple "Mixta" et "Varico". Les qualités de semences françaises ne conviennent pas aux régions d'Allemagne, aux hivers trop rudes. Elles devront donc être ressemées chaque année (Teuscher et al., 2005).

8. Récolte :

Les sommités (berba Thymi) sont récoltées à des fins médicinales. Les jeunes branches sont coupées à la main, au début de la floraison, pour préparer le produit pendant l'été. Elles sont mises à sécher en couches fines, à l'ombre ou dans un séchoir à 35°C au maximum. Les tiges contiennent des tanins, des principes amers,

des saponines, des de antiseptiques végétaux et une huile essentielle dont les principaux composants sont le Thymol et le carvacrol (**Blot et gouillier, 2012**).

9. Conservation :

Les feuilles fraîches ou les rameaux fleuris frais se conservent quelques jours dans des sacs plastiques, au réfrigérateur. Ils peuvent également être congelés ou mis dans des bacs à glaçons. Le Thym se sèche parfaitement bien, sans perte considérable de son caractère aromatique.

Au contraire, il semble que la force de l'arôme d'un Thym sec soit renforcée. Séchée, la drogue se conserve au frais, protégée de l'humidité et de la lumière, dans des récipients hermétiques (en porcelaine, n verre ou en métal) ; dans ces conditions, elle est relativement stable. Les pertes en huiles essentielle, après une conservation de 15 mois après la récolte, n'atteignent en effet que 0.075 ml/100g (**Teuscher et al., 2005**).

10. Composés bioactifs :

- **Huile essentielle** : 1.5 à 4 % (dans le Thym d'origine française et récolté en été, les teneurs peuvent même atteindre 6.5%). Les constituants principaux sont très différents selon les races chimiques. En France, une demi-douzaine de chimiotypes différents a été décrite pour la seule région méridionale.

Divers compositions ont été décrites : ainsi, le Thymol, le carvacrol (teneur jusqu'à 85 %), le p-cymène (jusqu'à 45 %), le linalol, l' α -terpinol, le camphre, le mélange tymol jusqu'à 65 %) +carvacrol (5 à 10 %), le mélange tymol (environ 35%) + -terpinéol (environ 18%), le mélange géraniol +acétate de géranyle (jusqu'à 90%), le mélange linalol + acétate de linalyle (jusqu'à 95%), le mélange α -terpinéol +acétate d' α -terpényle (jusqu'à 96%), le mélange hydrate de trans-sabinène (jusqu'à 56%) + trepinéol-4 (jusqu'à 43%) le mélange 1.8-cinéol + camphre ainsi que le mélange trans-thujanol+terpinol-4 peuvent dominer.

Dans l'huile essentielle de Thym du commerce, le Thymol prédomine (teneur comprise entre 30 et 50%), souvent accompagné de p-cymène (15 à 20%), de γ -terpinène (5 à 10%) et de carvacrol (1 à 5%) ; les constituants minoritaires sont notamment les suivants : Thymol méthyléther, (-)-boméol, camphre, limonène, linalol, β -myrcène, β -pinène, hydrate de cis-sabinène, α -terpinène et terpinéol-4.

La pharmacopée européenne exige que l'huile essentielle de Thym renferme entre 36 et 55% de Thymol, 15 à 28% de p-cymène, 5 à 10% de γ -terpinène, 4 à 6.5% de linalol, 1 à 4% de carvacrol et 0.2 et 2.5% de de terpinéol-4).

- **Flavonoïdes** : Des flavones libres (notamment l'apigénine, la 6-hydroxylutéoline et la lutéoline), des flavanonols comme la taxifoline, des flavanones comme la naringénine, de nombreuses flavones méthoxylées (cirsilinéol, 8-méthoxycirsilinéol, cirsimaritine, ériodictyol, genkwanine, sacuranétine, sidéritoflavone, Thymonine et Thymusine) accompagnés d'hétéroïdes flavonique plus courant comme l'apigénine-7-glucoside, la lutéoline-7-glucoside et la vicénine-2.

- Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (principe amers des lamiacées) : environ 4% avec notamment l'acide rosmarinique (environ 0.8 à 2.6%).

- Dérivés de l'acétophénone : 4-hydroxyacétophénone et des hétéroïdes estérifiés avec des dérivés de l'acide benzoïque. (**Teuscher et al.,2005**).

- **Triterpènes** : représente surtout acide usolique (1.9%), acide oléanolique (0.6%) (**Teuscher et al.,2005**).

11. Utilisation :

11.1. Le Thym en médecine :

Le Thym était couramment cultivé en Angleterre dès le XVI^e siècle mais était avant tout concéder comme une plante médicinale traitant les affections respiratoires, et non comme aromate .De nos jours, il est certes mieux connu dans les cuisines mais bénéfices d'un regain d'intérêt pour ses qualité médicinales .usage thérapeutique du Thym est autorisé en Allemagne où il est agréé pour traiter «les symptômes de bronchite de toux sèche et de catarrhe des voies aérienne supérieure». L'infusion est préparée en jetant une cuillère à soupe de feuilles sèches dans de l'eau frémissant.

Le principal constituant de son huile essentielle est le Thymol qui est un antiseptique puissant, largement utilisé avant l'essor des antibiotiques, dont l'odeur et la saveur sont connues de tous : c'est un ingrédient usuel des bains de bouches médicaux.

Le Thymol-toilette était un désinfectant à base de Thym, fabriqué en France au XIX^e siècle (**Delachaux et Niestlé, 2008 ; Delachaux et Nestlé, 2013**).

11.2. Pharmacologie évaluation clinique :

L'huile essentielle de Thym, riche en phénols, est douée de propriétés antibactériennes et antifongiques facilement mise en évidence in vitro. Tous les chimio types sont actifs mais l'activité bactéricide est plus marquée pour les types à Thymol et carvacrol. Des propriétés antivirales (influenza A) ont été détecté pour l'extrait fluide et l'extrait aqueux qui inhibe in vitro, la croissance d'*helicobacter pylori* (**Bruneton ,2009**).

L'activité spasmolytique du Thym est le plus souvent attribuée aux phénols d'huile essentielle .En fait, Lemli et van den broucke ont montré que si les phénols s'opposent effectivement aux contractions provoquées sur l'iléon et la trachée du cobaye par l'histamine, l'acétylcholine ou d'autre réactifs, leurs concentration dans les préparations aqueuses de Thym est insuffisante pour justifier à elle seul leur activité. Ces auteurs ont montré que l'activité spasmolytique de ces préparations est aussi liée à la présence des polyméthoxyflavones. Le Thym doit ses propriétés anti oxydantes aux flavones et à un constituant biphénylique beaucoup plus efficace que le BHT (butylhydroxytoluène) : à une concentration de 1 µg, il inhibe la peroxydation lipidique induit in vitro au niveau des mitochondries et des microsomes ; il inhibe également partiellement la production de l'anion super-oxyde. Chez le Rat, l'administration d'huiles essentielle s'oppose à la perte de pouvoir antioxydant lié au vieillissement (**Bruneton ,2009**).

PARTIE 02

Méthodologie

3. Extraction des composés bioactifs :

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

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

L'extraction des composés bioactifs de la plante a été réalisée par usage de 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 sera mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v). L'extraction par macération à froid de chaque mélange a été laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction favorise ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et permet une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs.

Les extraits hydro alcooliques obtenus sont filtrés en utilisant un papier filtre Whatman ayant une porosité de 0,2µm et débarrassés des solvants par évaporation sous vide à 45 °C.

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

4.1. Protocole expérimental :

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

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

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

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



Figure 04. Broyage

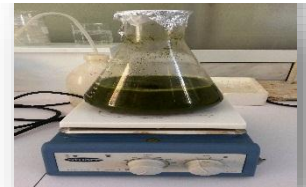


Figure 05. Agitation pendant 6h



Figure 06. Filtration



Figure 07. Évaporation

3.2 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 », puis subira une pasteurisation durant 2 minutes à 100°C, et un refroidissement à 45°C.

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

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

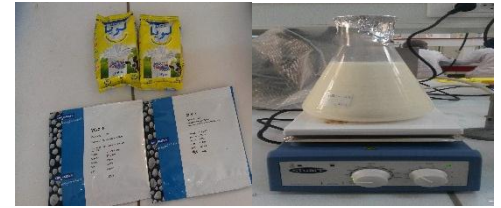


Figure 08. Activation des Souches

3.3 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 sera 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 seront additionnés chaque extrait au Méthanol de *Thymus vulgaris* à raison de 0, 2, 4, 6 et 8%, respectivement. Les échantillons seront enfin ensemencés chacun a 3% avec un levain lactique renfermant un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* de 2S/1L. Les pots des différentes préparations seront par la suite sertis avec 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 seront conservés au froid positif à 4°C dans un réfrigérateur pendant une période de conservation de 21 jours.

4. Mesures et contrôles :

Les différentes mesures et contrôles seront réalisées en triples essais, dans chaque pot de lait fermenté expérimentale pendant la période de fermentation (à 0 heure, 2 heure et 3 heure) et la période de poste acidification de conservation des échantillons expérimentaux au froid positif de 4°C (au 1^{er} jour, 7^{ème} jour, 15^{ème} jour et 21^{ème} jour).

4.1 Paramètres physicochimiques :

4.1.1 Mesure du pH :

Après étalonnage dans des solutions tampons (pH 7 et PH 4,01), l'électrode du pH-mètre est plongée dans le yaourt contenu dans un bécher. La valeur du pH est obtenue par simple lecture sur l'écran du pH-mètre.

4.1.2 Détermination de l'acidité °Dornic :

Principe :

L'acidité du lait est exprimée conventionnellement en degré DORNIC. Un degré Dornic équivaut à une teneur de 0,1 g d'acide lactique par litre de lait.

L'acidité d'un lait frais normal après la traite varie de 15 à 17 °Dornic ; une augmentation de cette valeur montre une acidification du lait provenant de l'action de ferments lactiques produisant de l'acide lactique à partir du lactose.

Protocole :

- Placer la solution de NaOH au $1/9^{\text{ème}}$ mol.L⁻¹ dans la micro burette
- Ajuster la burette à zéro
- Dans l'eren contenant 10 mL de yaourt en cours de fabrication, ajouter :
 - 3 gouttes de phénolphtaléine (à 5 %)
- Mettre sous agitation magnétique
- Verser doucement la solution de NaOH jusqu'à apparition d'une coloration rose persistant plus de 30s

Relever le volume versé (noté V en mL)

Calculer la valeur de l'acidité en °Dornic selon la formule suivante :

$$\text{°D} = 10 \times$$



Figure 09. Titrage acidobasique pour déterminer l'acidité °Dornic

5. 1.3 Viscosité :

La viscosité a été mesurée par l'utilisation d'un tube en verre de diamètre égale à 0.5 cm et de 12.5 cm de longueur, équipé d'un chronomètre et d'une bille connu.

Le yaourt est défini comme un fluide viscoélastique. Il possède donc à la fois la propriété élastique d'un solide .Le comportement rhéologique du yaourt est de type non newtonien, dans ce sens ou la viscosité du produit dépend de la vitesse cisaillement ou de la contrainte exercée. La viscosité est déterminée comme suit :

5. 1.3 .1.Appareillages :

- Bille de 5.75g masse, de 10 mm de diamètre et de masse volumique égale 7784,09 Kg.m⁻³
- tube cylindrique de 12,5 mm de longueur
- Chronomètre servant à mesurer le temps de de chute de bille.

5.1.3.2. Mode opératoire :

Introduire la bille de 5.75 g dans le tube cylindrique rempli avec le produit à analyser par une chute libre sur une distance constante de 12,5, tout en mesurant le temps par le biais d'un chronomètre.

5.1.3.3. Expressions des résultats :

$$\mu = K. (\xi \text{ bille} - \xi \text{ yaourt}) . t$$

Et

$$K = 2.r^2g/9.x$$

Donc :

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

μ : viscosité dynamique ($\text{kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$)

K : constant, tel que ($K= 8,175.10^{-4} \text{ m}^{-2}$)

r : rayon de la bille tel que, ($r=D/2=5 \text{ mm}$)

x : La distance d'écoulement de la bille, ($x=12.5$)

g : La force de pasteur, tel que ($g=8.81 \text{ m/s}^2$)

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

ϵ_{yaourt} : temps parcouru pour la bille entre deux points A et B.

4.2 Analyses microbiologiques :

Pour dénombrer les bactéries lactiques nous avons utilisés les milieux gélosé **MRS** et **M17**.

- **Préparation de milieu culture M17 :**

Avec un milieu déshydraté : 53,3 g de poudre déshydraté de M17 a été dissoute dans un litre d'eau distillée ou déminéralisée, porté peu à peu à ébullition en agitant constamment jusqu'à dissolution totale (**figure10**). Verser dans des flacons, et stériliser à l'autoclave, 121 °C pendant 20 minutes.

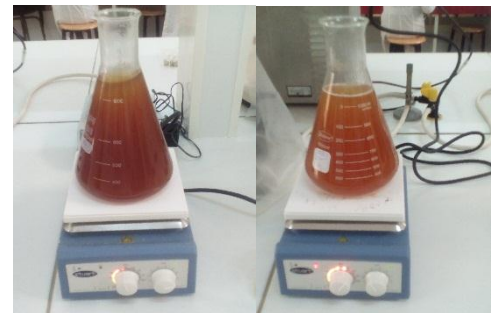


Figure 10. milieux M17 et MRS

- **Préparation de milieu culture M.R.S :**

67,30 g de poudre déshydraté de MRS a été dissoute dans un litre d'eau distillée ou déminéralisée, porté peu à peu à ébullition en agitant constamment jusqu'à dissolution totale (**figure10**). Verser dans des flacons, et stériliser à l'autoclave, 121 °C pendant 20 minutes.

- **Préparation d'eau physiologique :**

9 g de NaCl a été dissoute dans un litre d'eau distillée ou déminéralisée, porté peu à peu à ébullition en agitant constamment jusqu'à dissolution totale. Puis on Verser dans des flacons, et stériliser à l'autoclave, 121 °C pendant 20 minutes.

- **Dénombrement et isolement de bactérie lactique de yaourt :**

Des séries des dilutions décimales des échantillons du yaourt ont été effectuées dans de l'eau physiologique stérile. Les milieux de cultures de dénombrement et d'isolement ont été ensemencés à partir de dilution 10^{-4} .

Préparation de l'échantillon et des dilutions Pour les analyses microbiologiques, la solution mère est préparée en Introduisant 1ml du yaourt dans un 90ml de l'eau physiologique stérile. Ensuite des dilutions

Partie 02 : Méthodologie

(10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) les dilutions sont limitées à 10^{-4} . Les couques lactiques est mis en évidence en masse (ensemencement en profond) de milieu M17 gélosé, et le lactobacille de milieu M.R.S gélosé, dont le ph a été ajusté 6,8. Une boîte de pétrie pour chaque pot.

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

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

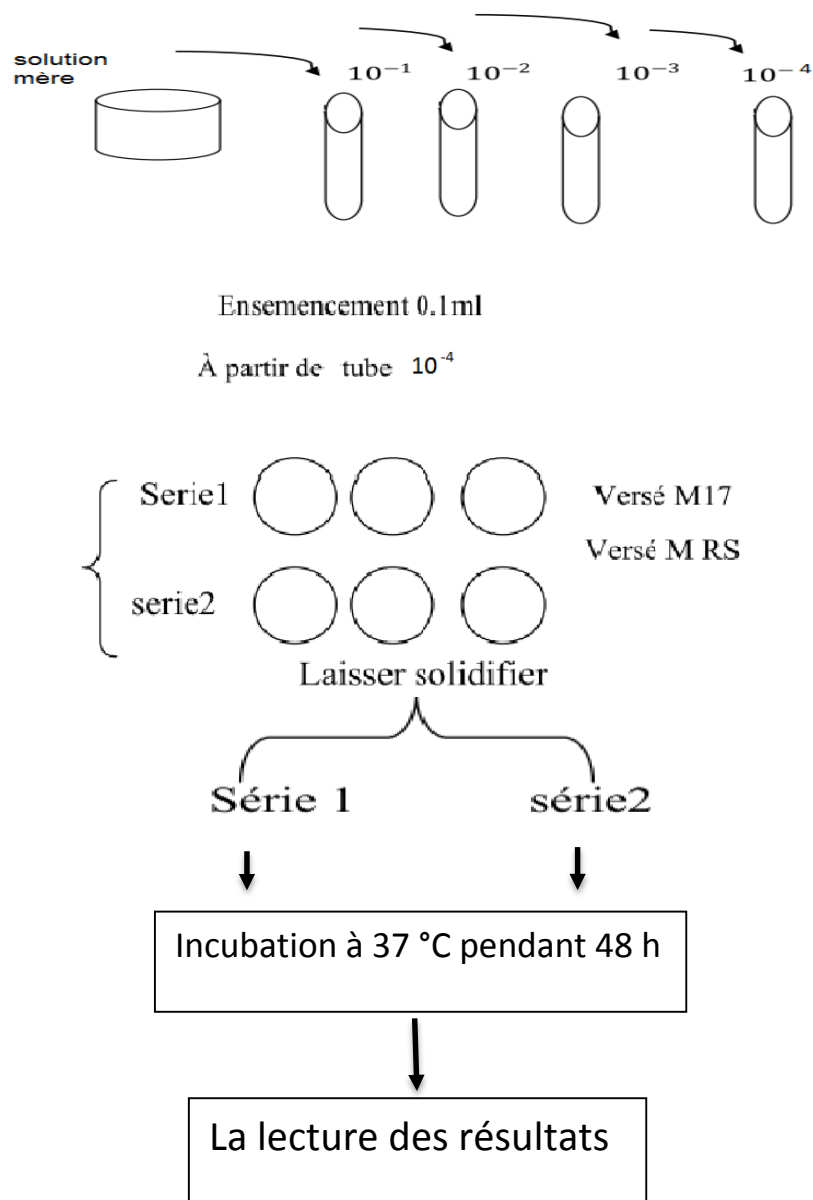


Figure 11. Techniques d'isolement des bactéries lactiques à partir des échantillons yaourts

4.3 Test organoleptique :

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

-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.

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

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

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

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

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

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

5. Traitement statistique :

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

PARTIE 03

Résultats & discussion

Partie 3 : *RESULTATS & DISCUSSION*

1. Résultats :

1.1. Analyses physico-chimiques :

1.1.1. PH

En général durant toute la période de la fermentation et de post acidification, les valeurs de PH marquent une évolution décroissante de 6,49 à 4,45 en moyenne (**Figure 12**).

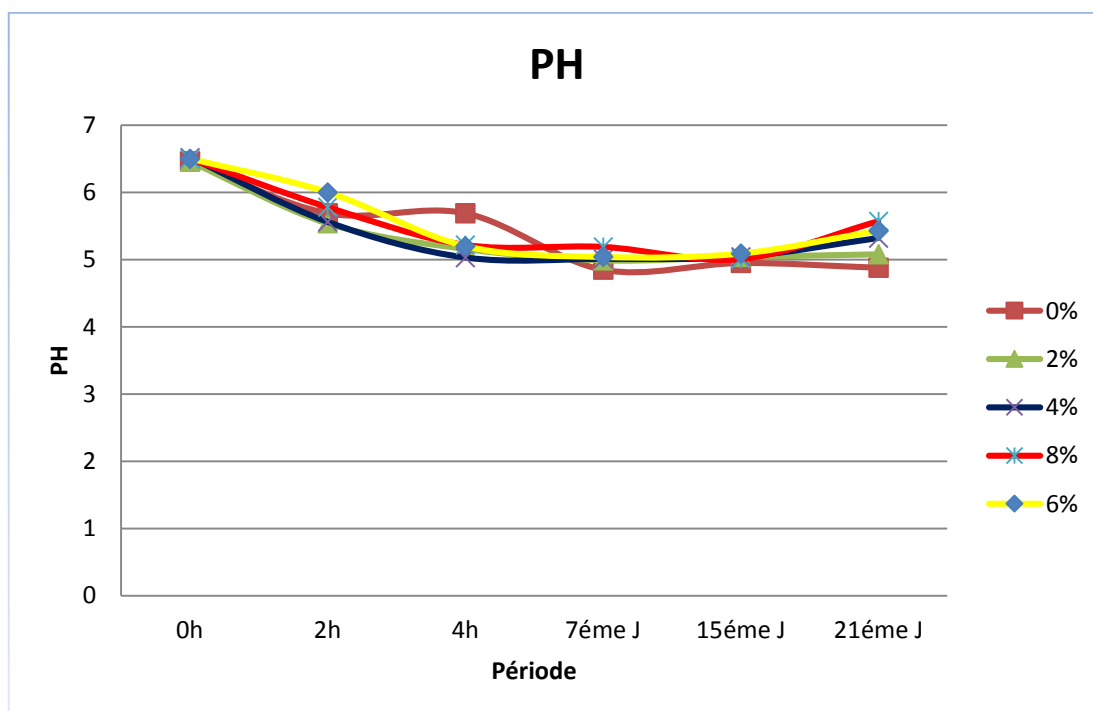


Figure 12. Evolution du pH des laits fermentés additionnés d'extraits au méthanol de thym.

Les valeurs moyennes de pH des produits en fonction des doses 0, 2, 4, 6, et 8% incorporés d'extrait au méthanol de thym variant légèrement de 4,87 à 4,83 à 4,88 à 5,18 et à 5,01, en moyenne respectivement dans les produits.

L'analyse de variance montre l'effet doses d'incorporation d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris* sur les variations de PH dans les laits fermentés durant la période de fermentation et la 1^{er} jusque la 3^{ème} semaine de la période de post acidification.

Aussi, le PH des produits double nettement ($p < 0.01$) augmenter durant ces périodes avec l'augmentation d'extrait au méthanol de Thym dans les produits (**Tableau 1**).

Tableau 1. Evolution du PH des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.

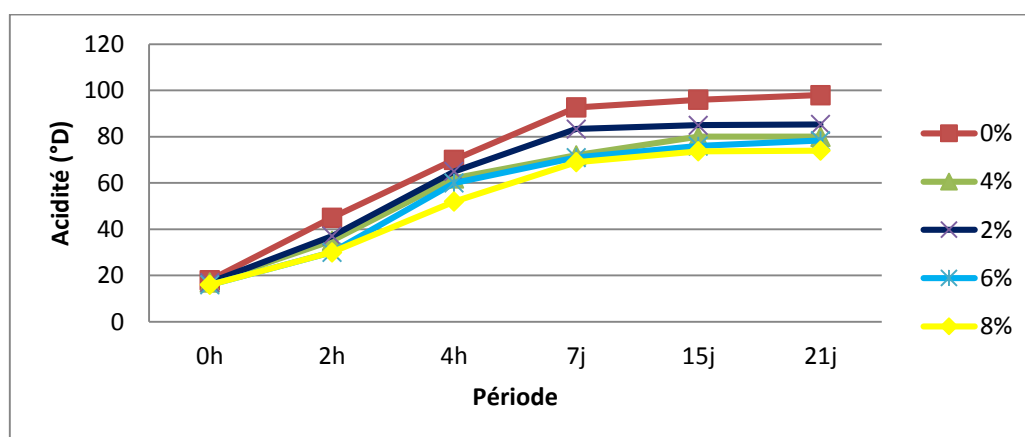
Facteur étudiés		Doses d'Extrait au Méthanol de thym incorporées						Effets d'Extrait au Méthanol de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%	Moyenne des moyennes	
Période								
Fermentation	0h	6,46 ^c ± 0,001	6,46 ^c ± 0,001	6,52 ^a ± 0,001	6,50 ^b ± 0,001	6,50 ^b ± 0	6,49	HS (p<0.01)
	2h	5,69 ^c ± 0,001	5,54 ^e ± 0,001	5,56 ^d ± 0,001	6,00 ^a ± 0,001	5,78 ^b ± 0,001	5,71	HS (p<0.01)
	4h	4,89 ^a ± 0,001	4,36 ^d ± 0,001	4,23 ^e ± 0,001	4,4 ^c ± 0,001	4,42 ^b ± 0,001	4,46	HS (p<0.01)
Post acidification (4°C)	7 ^{ème} J	4,05 ^c ± 0,035	4,09 ^b ± 0,015	4,21 ^b ± 0,015	4,24 ^b ± 0,046	4,39 ^a ± 0,026	4,20	HS (p<0.01)
	15 ^{ème} J	4,15 ± 0,047	4,24 ± 0,104	4,24 ± 0,012	5,29 ± 0,032	4,21 ± 0,023	4,43	NS (p>0.05)
	21 ^{ème} J	4,08 ^d ± 0,045	4,28 ^c ± 0,081	4,52 ^b ± 0,078	4,63 ^{a,b} ± 0,115	4,77 ^a ± 0,082	4,45	HS (p<0.01)
	Moyennes	4,87	4,83	4,88	5,18	5,01		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, HS : Effet hautement significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, h : heures, J : Jours, a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls

1.1.2. L'acidité Dornic :

Au cours de la phase de fermentation, l'évolution de l'acidité des laits fermentés est caractérisée par une augmentation croissante de 16,80 °D en moyenne à 0h à 61,8 °D au 1^{er} jour.

Au cours de la phase de la post acidification, l'évolution de l'acidité des laits fermentés est caractérisée par une augmentation à 77,61 °D en moyenne au 7^{ème} jour, à 82,13 °D au 15^{ème} jour, puis à 83,13 °D au 21^{ème} jour de la période de conservation. (**Figure 13**).


Figure 13. Evolution de l'acidité Dornic des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.

Egalement, ces valeurs s'avèrent diminuer avec les doses de thym incorporées lors de la préparation des produits. Soit des valeurs qui diminuent de 89,17 à 79,66 à 73,5 à 71,33 et à 67,17 °D en moyenne pour les doses de thym variant de 0, 2, 4,6, 8%, respectivement dans les laits fermentés.

L'analyse de la variance montre l'effet hautement significatif des taux de thym incorporés sur la variation de la moyenne de l'acidité des laits fermentés au 1^{er}, 7^{ème}, 15^{ème} et 21^{ème} jour de la période de fermentation et de post acidification. (Tableau 2).

Tableau 2. Evolution de l'acidité Dornic des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.

Facteur étudiés		Doses d'Extrait au Méthanol de thym incorporées					Moyenne des moyennes	Effets d'Extrait au Méthanol de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Période								
Fermentation	0h	18,02 ^a ± 0,01	17,00 ^b ± 0,001	17,00 ^b ± 0,001	16,00 ^c ± 0,001	16,00 ^c ± 0,002	16,80	HS (p<0.01)
	2h	45,00 ^a ± 0,001	37,00 ^b ± 0,002	35,00 ^c ± 0,001	30,00 ^d ± 0,001	30,00 ^d ± 0,001	35,4	HS (p<0.01)
	4h	70,00 ^a ± 0,001	65,00 ^b ± 0,002	62,00 ^c ± 0,001	60,00 ^d ± 0,001	52,00 ^e ± 0,001	61,8	HS (p<0.01)
Post acidification (4°c)	7 ^{ème} J	92,67 ^a ± 2,517	83,33 ^b ± 1,528	72 ^c ± 1	71 ^c ± 1	69 ^c ± 1	77,6	HS (p<0.01)
	15 ^{ème} J	96 ^a ± 2	85 ^{a, b} ± 13,454	80 ^b ± 6	76 ^b ± 2	73,67 ^b ± 1,528	82,13	S (p<0.05)
	21 ^{ème} J	98 ^a ± 2	85,33 ^b ± 2,517	80 ^c ± 2	78,33 ^c ± 2,082	74 ^d ± 1	83,13	HS (p<0.01)
	Moyennes 4h à 21 ^{ème} j	89,17	79,67	73,5	71,33	67,17		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, S : Effet significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris* HS : Effet hautement significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, h : heurs J: Jours, a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

1.1.3. Viscosité :

Durant les deux périodes de fermentation et de post acidification, les valeurs moyennes de la viscosité des yaourts expérimentaux ont tendance à augmenter de 372,86 p/s à 415,38 kg.m⁻¹.s⁻¹ de 1^{er} jour ; puis a diminué jusqu'à 375,47 kg.m⁻¹.s⁻¹ au 21^{ème} jours de la période de conservation (Figure14).

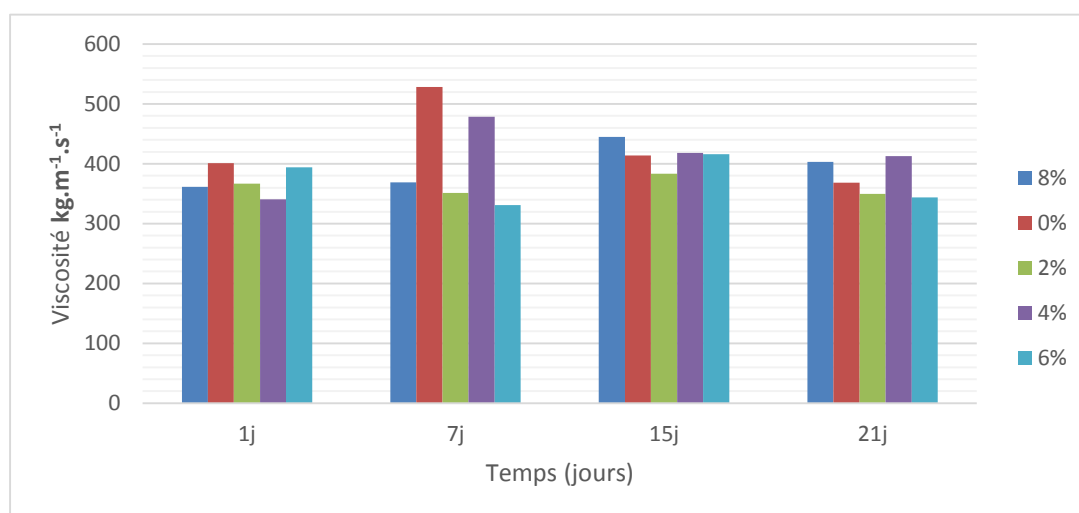


Figure14. Evolution de la viscosité ($\text{kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$) des laits fermentés additionnées d’extraits de thym au méthanol.

En outre il est observé une relation inversement proportionnelle ($p>0.05$) des valeurs de la viscosité avec l’augmentation des taux d’incorporation de Thym de 0, à 2, à 4, à 6, et à 8%, lors de la préparation des produits ; les moyennes ont varié de 427,86 à 362,88, à 412,58, à 371,23 et à 394,43 $\text{kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$, successivement (**Tableau 3**).

Tableau 3. Variation de la viscosité des laits fermentés additionnées d’extraits au méthanol de thym.

Facteur étudiés		Doses d’Extrait au Méthanol de thym incorporées						Effets d’Extrait au Méthanol de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%	Moyenne des moyennes	
Post acidification (4°C)	1 ^{er} J	401,26 ± 217,599	366,99 ± 218,805	340,69 ± 106,77	394,14 ± 352	361,21 ± 263,31	372,86	NS ($p>0.05$)
	7 ^{ème} J	528,17 ± 333,912	351,21 ± 184,862	478,46 ± 347,064	330,85 ± 246,734	368,69 ± 291,211	406,076	NS ($p>0.05$)
	15 ^{ème} J	413,82 ± 231,848	383,62 ± 202,321	418,40 ± 215,02	416,19 ± 253,817	444,87 ± 233,088	415,38	NS ($p>0.05$)
	21 ^{ème} J	368,18 ± 184,977	349,68 ± 94,415	412,78 ± 156,964	343,75 ± 236,25	402,96 ± 190,49	375,47	NS ($p>0.05$)
	Moyennes	427,86	362,88	412,58	371,23	394,43		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, NS : Effet non significatif du facteur étudié taux d’extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, J: Jours, a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

1.2. Analyses microbiologiques :

1.2.1. *Streptococcus thermophilus* :

Au cours des deux périodes de fermentation et de post acidification le nombre des germes *Streptococcus thermophilus* connaît une augmentation de 24.10^4 à 177.10^4 UFC/ml en moyenne de 0h jusqu' au 15^{ème} jour, puis diminue à 81.10^4 UFC/ml au 21 jours de la période de conservation (**Figure 15**).

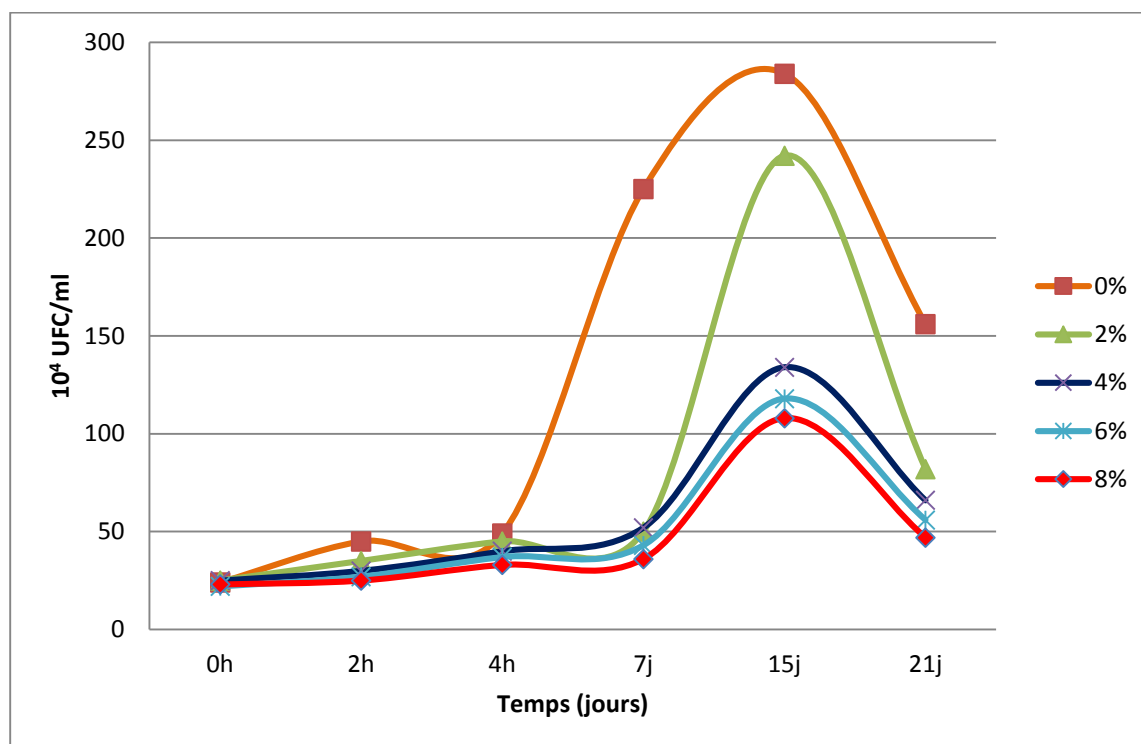


Figure 15. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extraits au méthanol de thym.

Durant toute l'expérimentation, le nombre de *Streptococcus thermophilus* s'avère diminuer de 131.10^4 à 80.10^4 à 59.10^4 , à 51.10^4 et à 45.10^4 avec des variations de 0, 2, 4, 6 et 8% d'extrait de Thym administré dans les essais expérimentaux.

L'analyse de variance sur l'évolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* au cours des périodes de fermentation et de post acidification montre un effet hautement significatif ($p < 0.01$) des taux d'incorporation d'extrait de Thym dans les laits fermentés (**Tableau4**).

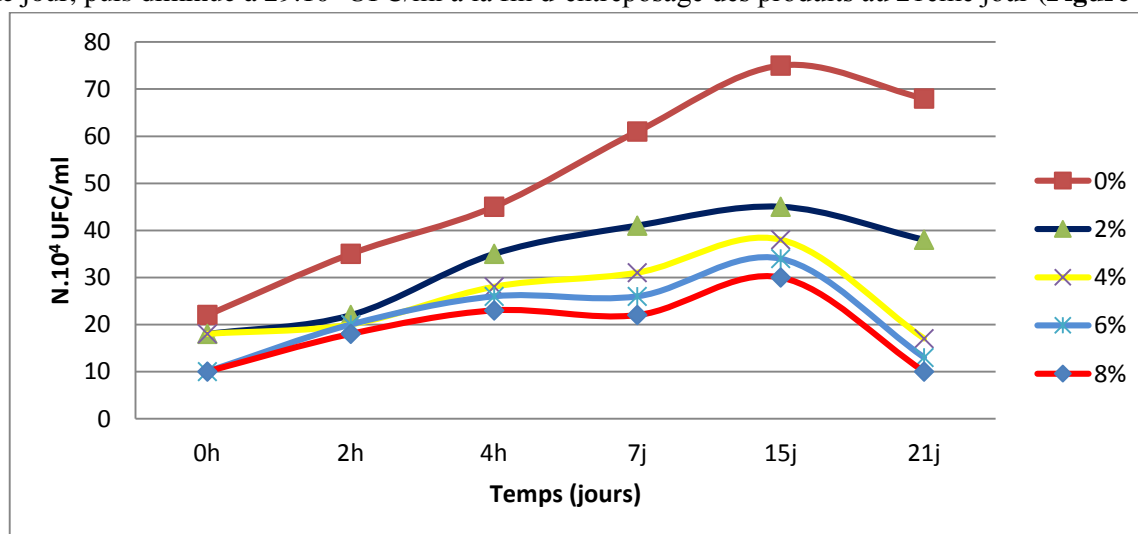
Tableau 4. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.

Facteur étudiés		Doses d'Extrait au Méthanol de thym incorporées						Effets d'Extrait au Méthanol de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%	Moyenne des moyennes	
Fermentation	0h	24 ^{a, b}	25 ^a	25 ^a	22 ^c	23 ^b	24	S ($p < 0.05$)
	2h	45 ^a	35 ^b	30 ^c	27 ^d	25 ^e	32	HS ($p < 0.01$)
	4h	49 ^a	45 ^b	40 ^c	37 ^d	33 ^e	41	HS ($p < 0.01$)
Post acidification (4°c)	7 ^{ème} J	225 ^a	50 ^b	52 ^b	43 ^c	36 ^c	81	HS ($p < 0.01$)
	15 ^{ème} J	284 ^a	242 ^b	134 ^c	118 ^d	108 ^e	177	HS ($p < 0.01$)
	21 ^{ème} J	156 ^a	82 ^b	66 ^c	56 ^d	47 ^e	81	HS ($p < 0.01$)
	Moyennes	131	80	59	51	45		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, HS : Effet hautement significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, S: Effet significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, UFC: unité formant colonie, h: heurs, J: Jours, a,b,c,d,e: Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

1.2.2. *Lactobacillus bulgaricus* :

Le nombre des germes *Lactobacillus bulgaricus* évolue de 16.10^4 UFC/ml à 0h jusqu' à 44.10^4 UFC/ml en moyenne au 15^{ème} jour, puis diminue à 29.10^4 UFC/ml à la fin d'entreposage des produits au 21^{ème} jour (**Figure 16**).

**Figure 16.** Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.

Durant l'expérimentation, le nombre de *Lactobacillus bulgaricus* s'avère diminuer de 51.10⁴ UFC/ml à 33.10⁴ UFC/ml, à 25.10⁴ UFC/ml, à 22.10⁴ UFC/ml et à 19.10⁴ UFC/ml avec des variations de 0, 2, 4, 6 et 8% d'extrait de Thym administré au cours de l'infusion dans les produits expérimentaux.

L'analyse de variance sur l'évolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* dans les produits montre un effet hautement significatif des taux d'incorporation d'extrait de Thym au cours de deux périodes de l'étude (de fermentation et de post acidification) (**Tableau5**).

Tableau 5. Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* (N.10⁴ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extraits au méthanol de thym.

Facteur étudiés		Doses d'Extrait au Méthanol de thym incorporées						Effets d'Extrait au Méthanol de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%	Moyenne des moyennes	
Périodes								
Fermentation	0h	22 ^a	18 ^b	18 ^b	10 ^c	10 ^c	16	HS (p<0.01)
	2h	35 ^a	22 ^b	20 ^c	20 ^c	18 ^d	23	HS (p<0.01)
	4h	45 ^a	35 ^b	28 ^c	26 ^d	23 ^e	31	HS (p<0.01)
Post acidification (4°C)	7 ^{ème} J	61 ^a	41 ^b	31 ^c	26 ^d	22 ^e	36	HS (p<0.01)
	15 ^{ème} J	75 ^a	45 ^b	38 ^c	34 ^d	30 ^e	44	HS (p<0.01)
	21 ^{ème} J	68 ^a	38 ^b	17 ^c	13 ^d	10 ^e	29	HS (p<0.01)
	Moyennes	51	33	25	22	19		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, HS : Effet hautement significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, UFC: Unité formant colonie, h: heures, J : Jours, a,b,c,d,e: Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

1.3. Tests organoleptiques :

1.3.1. Goût acide :

Durant les 15 jours de la période de post acidification, les panelistes n'ont pas trouvé de différence de goût dans l'acidité des produits sans et avec extrait de Thym (p>0.05) ; 32,5 à 24,9 moyenne des somme des rangs.

Toutefois, au 21^{ème} jour de conservation, les échantillons préparés à 6 et 8% d'extrait de Thym s'avèrent meilleurs que le témoin ($p < 0.01$) ; 14 et 12 somme des rangs entre 37,5 pour le yaourt sans additif. (Figure 17) (Tableau 6).

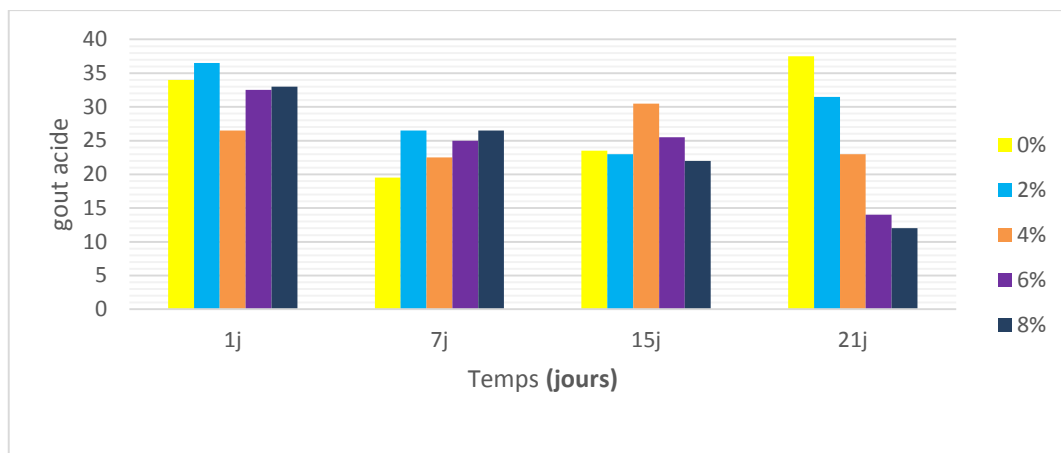


Figure 17. Variation sensorielle du gout acide (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Tableau 6. Variation sensorielle du gout acide (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Facteurs étudiés		Doses d'Extrait au Méthanol de thym incorporées					Effets d'Extrait au Méthanol de Thym	
		0%	2%	4%	6%	8%		Moyenne des moyennes
Post acidification (4°C)	1 ^{er} J	34	36,50	26,50	32,50	33	32,5	NS (p>0.05)
	7 ^{ème} J	19,50	26,50	22,50	25	26,50	24	NS (p>0.05)
	15 ^{ème} J	23,50	23	30,50	25,50	22	24.9	NS (p>0.05)
	21 ^{ème} J	37,50 ^a	31,50 ^b	23 ^b	14 ^c	12 ^c	23,6	HS (p<0.01)
	Moyennes	34	36,50	26,50	32,50	33		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, HS : Effet hautement significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, NS : Effet non significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris* h : heure J: Jours, a,b,c : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

1.3.2. Cohésivité :

Au 1^{er}, comme au 7^{ème}, 15^{ème} et 21^{ème} jour de post acidification la cohésivité des laits fermentés semble diminué en fonction des différents doses d'extrait au méthanol de Thym incorporé dans la préparation ($p < 0.01$), soit une baisse des sommes des rang en moyenne, de 10,38, à 16,38, à 24,63, à 32 et à 35,88 en

fonction des doses d'extraits de Thym variable (de 0, à 2, à 4, à 6, et à 8%) respectivement dans les produits (Figure 18) (Tableau 7).

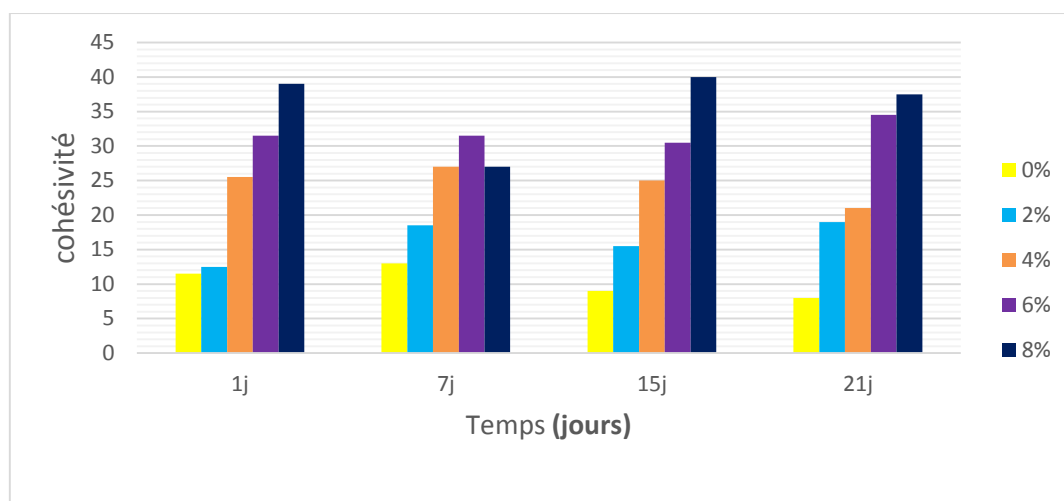


Figure 18. Variation de la cohésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Tableau 7. Variation de la cohésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Facteur étudiés		Doses d'Extrait au Méthanol de thym incorporées					Effets d'Extrait au Méthanol de Thym	
		0%	2%	4%	6%	8%		Moyenne des moyennes
Périodes	1 ^{er} J	11,50 ^d	12,50 ^d	25,50 ^c	31,50 ^b	39 ^a	24	HS (p<0.01)
	7 ^{ème} J	13 ^c	18,50 ^{b,c}	27 ^{a,b}	31,50 ^a	27 ^{a,b}	23,4	HS (p<0.01)
	15 ^{ème} J	9 ^e	15,50 ^d	25 ^c	30,50 ^b	40 ^a	24	HS (p<0.01)
	21 ^{ème} J	8 ^c	19 ^b	21 ^b	34,50 ^a	37,50 ^a	24	HS (p<0.01)
	Moyennes	10,38	16,38	24,63	32	35,88		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, HS : Effet hautement significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, h : heures, J : Jours, a,b,c,d: Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

1.3.3. Adhésivité :

Au premier jour de la conservation les dégustateurs ont qualifié l'adhésivité du témoin de meilleur ; avec des moyennes des sommes des rangs de 9 pour le témoin, contre 16,5 et 25 et 31 et 39,5 pour les doses incorporées d'extrait au méthanol de Thym de 2, 4, 6 et 8% respectivement.

Au 7^{ème} et 15^{ème} jour les dégustateurs ont aussi qualifié l'adhésivité du témoin de meilleur ; alors qu'au 7^{ème} jour, les panelistes n'ont trouvé aucune distinction entre les échantillons testés (Figure 19).

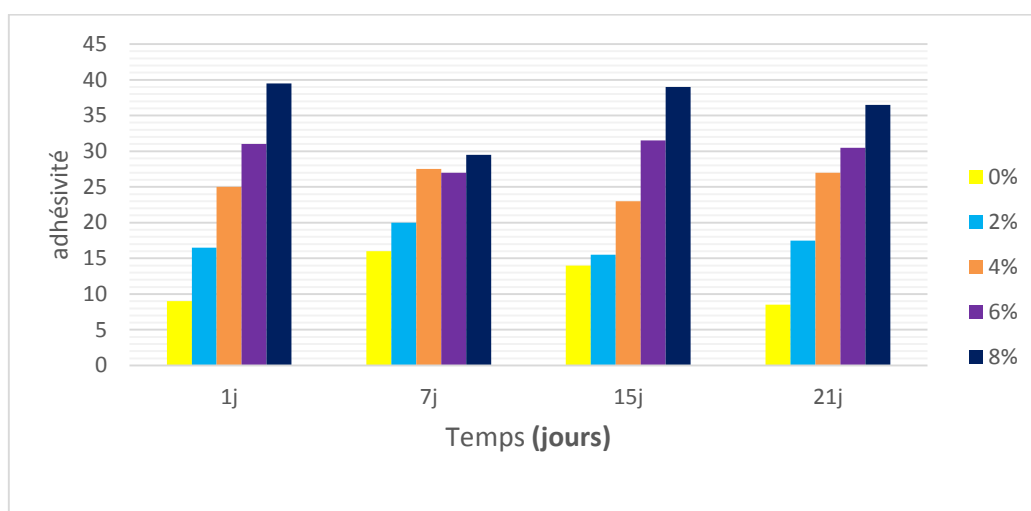


Figure 19. Variation de l'adhésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnés d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Pendant toutes la période de post acidification, l'adhésivité à tendance à diminuer avec l'augmentation de la dose d'extrait de Thym dans les produits ($p < 0.01$) ; soit des moyennes des sommes des rangs qui varient en moyenne respectivement de 11,88, à 17,38, à 25,63, à 30 et à 36,13 pour les doses incorporées d'extrait au méthanol de Thym de 2, 4, 6 et 8%.

L'analyse de variance sur l'évolution de l'adhésivité des produits additionnés d'extrait au méthanol de Thym démontre toutefois un effet hautement signification seulement au cours de 1^{er}, 15^{ème}, et 21^{ème} jour de la période expérimentale (**Tableau 8**).

Tableau 8. Variation de l'adhésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnés d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Facteur étudiés		Doses d'Extrait au Méthanol de thym incorporées					Effets d'Extrait au Méthanol de Thym	
		0%	2%	4%	6%	8%		Moyenne des moyennes
Périodes	1 ^{er} J	9 ^e	16,50 ^d	25 ^c	31 ^b	39,50 ^a	24,2	HS (p<0.01)
	7 ^{ème} J	16	20	27,50	27	29,50	24	NS (p>0.05)
	15 ^{ème} J	14 ^d	15,50 ^d	23 ^c	31,50 ^b	39 ^a	24.6	HS (p<0.01)
	21 ^{ème} J	8,50 ^d	17,50 ^c	27 ^b	30,50 ^b	36,50 ^a	24	HS (p<0.01)
	Moyennes	11,88	17,38	25,63	30	36,13		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, HS : Effet hautement significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, NS : Effet non significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, h : heures, J : Jours, a,b,c,d,e: Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

1.3.4. Arrière-goût :

Durant les 4 périodes de la phase de post acidification le yaourt témoin a été nettement mieux apprécié au plan de l'arrière-goût par les panelistes que les laits fermentés additionnées d'extraits de Thym (**Figure 20**).

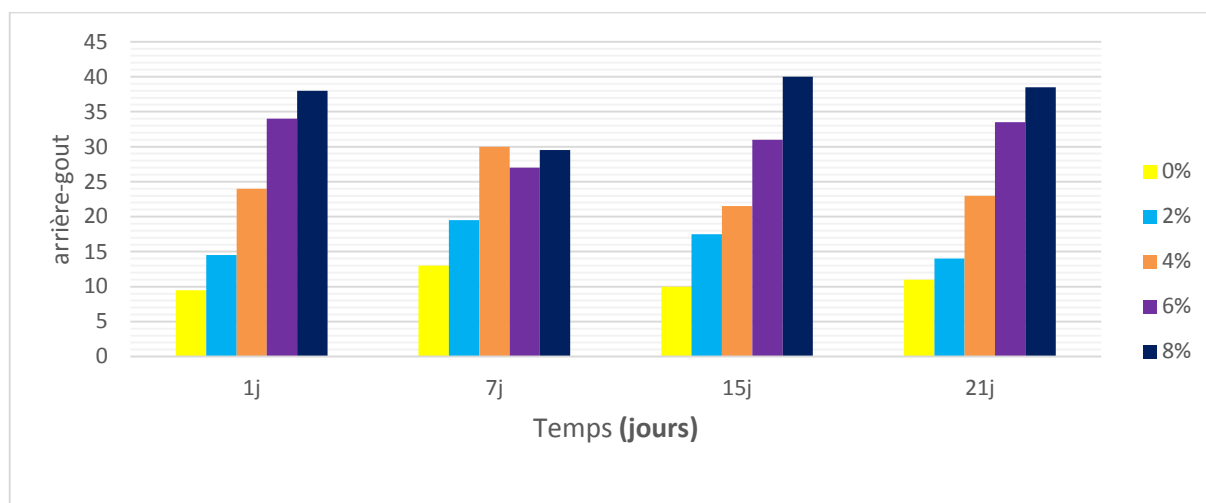


Figure 20. Variation de l'arrière-goût (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Apparemment, la sensation d'arrière-goût est d'autant plus développée que le niveau d'ajout d'extrait est fort dans les produits ($p < 0.01$), en effet, durant toute la période expérimentale, du 1^{er} au 21 jour, la moyenne des sommes des rangs ont nettement augmenté de 10,88, à 16,38, à 24,63, à 31,38, et à 36,5 pour les taux variables (de 0, 2, 4, 6, et 8%) d'extrait de Thym dans les échantillons expérimentaux (**Tableau 9**).

Tableau 9. Variation de l'arrière-goût (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Facteur étudiés		Doses d'Extrait au Méthanol de thym incorporées						Effets d'Extrait au Méthanol de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%	Moyenne des moyennes	
Périodes	1 ^{er} J	9,50 ^e	14,50 ^d	24 ^c	34 ^b	38 ^a	24	HS ($p < 0.01$)
	7 ^{ème} J	13 ^b	19,50 ^{a,b}	30 ^a	27 ^a	29,50 ^a	23,8	S ($p < 0.05$)
	15 ^{ème} J	10 ^e	17,50 ^d	21,50 ^c	31 ^b	40 ^a	24	HS ($p < 0.01$)
	21 ^{ème} J	11 ^d	14 ^d	23 ^c	33,50 ^b	38,50 ^a	24	HS ($p < 0.01$)
	Moyennes	10,88	16,38	24,63	31,38	36,5		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, HS : Effet hautement significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, S : Effet significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, h : heures, J : Jours, a,b,c,d,e: Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

1.3.5. Couleur :

La couleur des laits fermentés ayant fait l’objet de cette étude expérimentale n’a pas grandement changée ($p>0.05$) durant les différentes périodes de l’étude ; elle été comparable au yaourt standard (témoin sans extrait de Thym) (**Figure 21**) (**Tableau 10**).

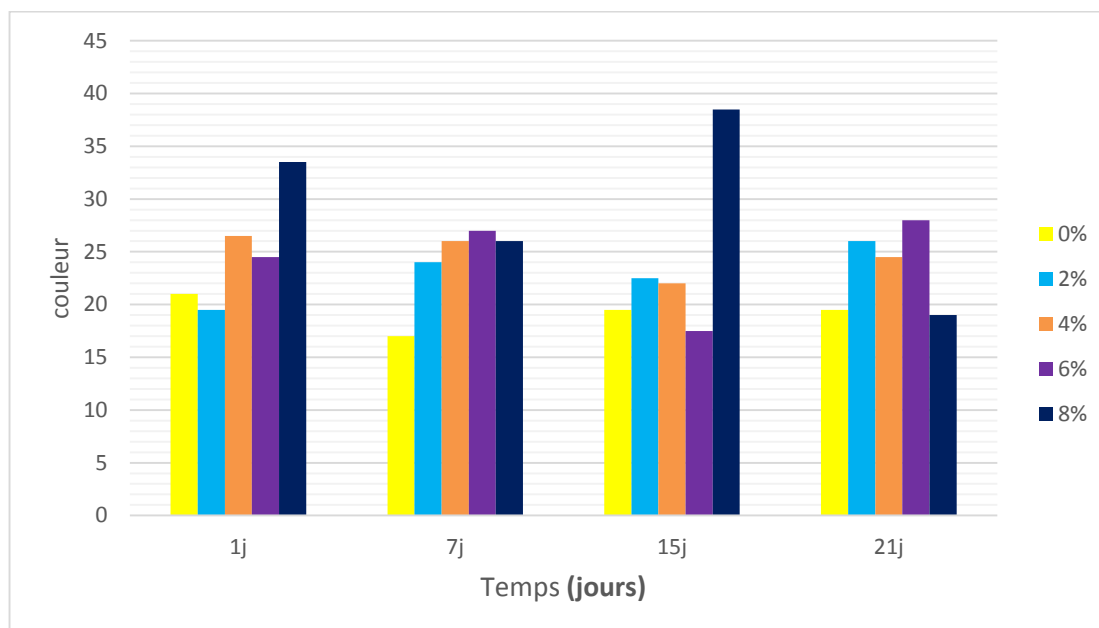


Figure 21. Variation de la couleur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d’extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Tableau 10. Variation de la couleur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d’extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Facteur étudiés		Doses d’Extrait au Méthanol de thym incorporées						Effets d’Extrait au Méthanol de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%	Moyenne des moyennes	
Périodes		0%	2%	4%	6%	8%	Moyenne des moyennes	
Post acidification (4°C)	1 ^{er} J	21	19,50	26,50	24,50	33,50	20,10	NS (p>0.05)
	7 ^{ème} J	17	24	26	27	26	24	NS (p>0.05)
	15 ^{ème} J	19,50 ^b	22,50 ^b	22 ^b	17,50 ^b	38,50 ^a	24	HS (p<0.01)
	21 ^{ème} J	19,50	26	24,50	28	19	23,4	NS (p>0.05)
	Moyennes	19,25	23	24,75	24,25	29,25		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, HS : Effet hautement significatif du facteur étudié taux d’extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, NS : Effet significatif du facteur étudié taux d’extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, h : heures, J : Jours, a,b: Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

1.3.6. Goût de fraîcheur :

Du 1^{er} au 7^{ème} jour de la conservation, la sensation de fraîcheur semble être altérée ($p < 0.01$) chez les panelistes avec l'augmentation de 0 à 8% de l'extrait de Thym dans les produits surtout à la fin de la période de post acidification au 15^{ème} et 21 jour ; soit une augmentation de la somme des rangs de 11,38, à 36,63, en moyenne durant toute la période de l'étude (**Figure 22, Tableau 11**).

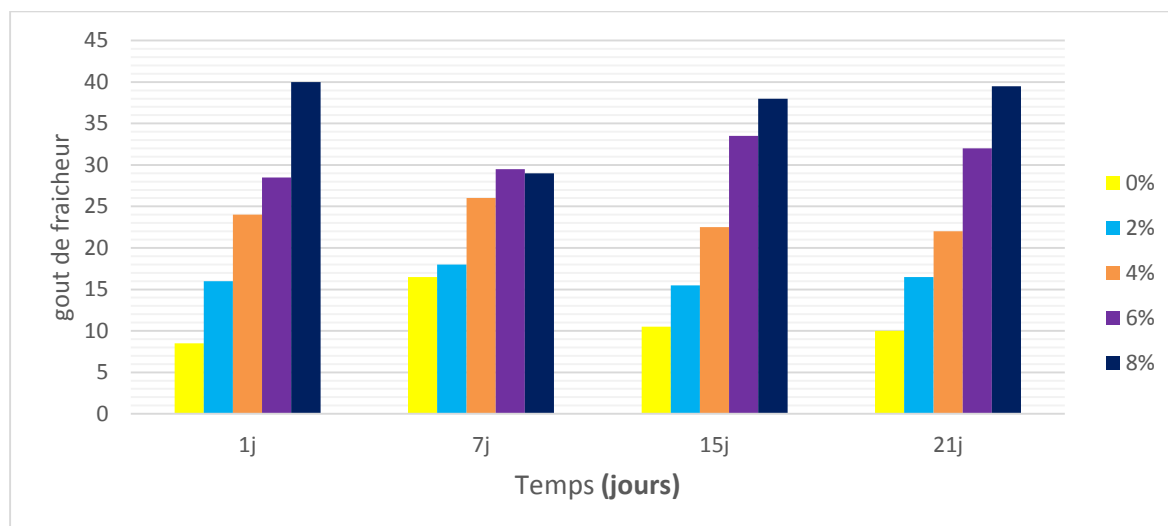


Figure 22. Variation de goût de fraîcheur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Tableau 11. Variation de goût de fraîcheur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*

Facteur étudiés		Doses d'Extrait au Méthanol de thym incorporées					Effets d'Extrait au Méthanol de Thym	
		0%	2%	4%	6%	8%		Moyenne des moyennes
Périodes		0%	2%	4%	6%	8%	Moyenne des moyennes	
Post acidification (4°c)	1 ^{er} J	8,50 ^e	16 ^d	24 ^c	28,50 ^b	40 ^a	23,4	HS (p<0.01)
	7 ^{ème} J	16,50	18	26	29,50	29	23,8	NS (p>0.05)
	15 ^{ème} J	10,50 ^e	15,50 ^d	22,50 ^c	33,50 ^b	38 ^a	24	HS (p<0.01)
	21 ^{ème} J	10 ^e	16,50 ^d	22 ^c	32 ^b	39,50 ^a	24	HS (p<0.01)
	Moyennes	11,38	16,5	23,63	30,88	36,63		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, HS: Effet hautement significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, NS: Effet non significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, h: heurs, J: Jours, a,b,c,d,e: Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

1.3.7. Odeur :

L'odorat du témoin reste meilleur que celle des autres produits expérimentaux surtout au 15^{ème} jour de la période de post acidification (**Figure 12**).

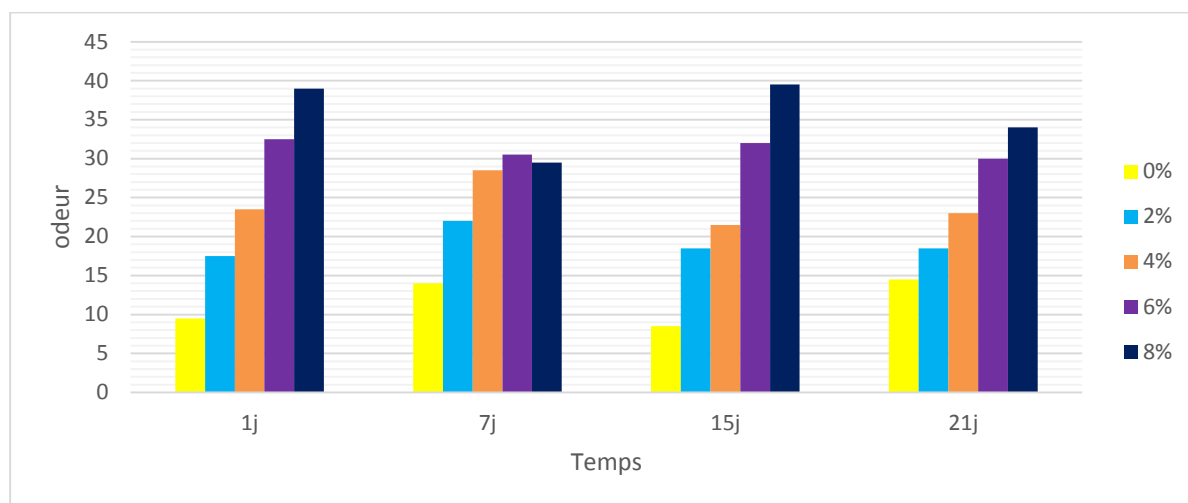


Figure 25. Variation de l'odeur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

L'incorporation d'extrait de Thym (de 0, 2, 4, 6, et 8%) semble détruire d'une manière proportionnelle l'odorat des produits ; soit des élévations des sommes des rangs de 11,63, à 19,13, à 24,13, à 31,25 et à 35,5, en moyenne, durant la phase de post acidification (**Tableau 12**).

Tableau12. Variation de l'odeur (somme des rangs) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Facteur étudiés		Doses d'Extrait au Méthanol de thym incorporées						Effets d'Extrait au Méthanol de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%	Moyenne des moyennes	
Périodes		0%	2%	4%	6%	8%	Moyenne des moyennes	
Post acidification (4°c)	1 ^{er} J	9,50 ^e	17,50 ^d	23,50 ^c	32,50 ^b	39 ^a	24,4	HS (p<0.01)
	7 ^{ème} J	14 ^b	22 ^{a,b}	28,50 ^a	30,50 ^a	29,50 ^a	24,9	S p<0.05
	15 ^{ème} J	8,50 ^d	18,50 ^c	21,50 ^c	32 ^b	39,50 ^a	24	HS (p<0.01)
	21 ^{ème} J	14,50 ^c	18,50 ^{b,c}	23 ^{a,b,c}	30 ^{a,b}	34 ^a	24	HS (p<0.01)
	Moyennes	11,63	19,13	24,13	31,25	35,5		

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes suivies des écarts types respectives, HS : Effet hautement significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, S : Effet significatif du facteur étudié taux d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*, h : heures, J : Jours, a,b,c,d,e: Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Neweuman et Keuls.

2. Discussion :

D'une façon globale, durant les périodes expérimentales, les laits fermentés sont caractérisés par une nette diminution du pH de 6,49 à 4,45 en moyenne accompagné ; d'une légère augmentation d'acidité Dornic en moyenne de 16,80 à 83,13. Cette réduction du pH est la conséquence d'une fermentation du lactose du lait en acide lactique effectuée par les souches spécifiques du yaourt (**Cachon et al., 1998**).

Durant les 21 jours de la période de post acidification, il est remarqué que l'acidité diminuée notablement avec les doses d'extrait au méthanol de Thym incorporées. Ce qui s'est traduit par une augmentation des valeurs de pH des produits conservés. Ceci suppose que les principaux composés antimicrobiens contenus dans le Thym dont (huile essentielle, flavonoïdes, dérivés de l'acétophénone et triterpènes) (**Theusher, 2005**). Ont réduit l'activité fermentaire des souches spécifiques du yaourt incorporé à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Toutefois, durant l'expérimentation l'acidité des produits n'a pas dépassé les normes admises commercialement de 150°D. (**Loones, 1989**).

D'après (**Fozel ; 1997**), la production des composés glucidiques nommées exo-polysaccharides par les souches spécifiquesensemencées à savoir plus particulièrement les *Streptococcus thermophilus* sont à l'origine de variation de la viscosité du yaourt. En effet, ces exo-polysaccharides sont capables de se lier aux caséines du laits tout en améliorant la qualité rhéologique des laits fermentés (**Lorient et al., 1985**).

Il apparait que plus le taux d'incorporation d'extrait de thym est élevé moins est la viscosité des laits fermentés expérimentaux. Ces réponses sont certainement dues à l'effet inhibiteur des principes actifs contenus dans la plante (**Teusher, 2005**) et qui s'avèrent capables de freiner la production par les germes spécifiques du yaourtensemencés d'exo-polysaccharides responsables de la viscosités des produits (**Biliaderis et al., 1992, 1994**).

Ainsi, il apparait bien que plus le taux d'incorporation d'extrait de thym est élevé plus le nombre moyen des germes spécifiques est diminué. Ces réponses peuvent être liées certainement à l'effet inhibiteur des

extraits de thym sur les germes spécifiques ensemencés. En effet, l'augmentation d'extrait de Thym a réduit remarquablement de 63 à 67% le nombre des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* dans les essais expérimentaux. Ceci justifie bien l'existence de substances bioactives dans la plante objet de l'étude ayant un pouvoir inhibiteur certain contre la croissance des germes spécifiques du yaourt.

Toutefois, le nombre de ces germes (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) dans les laits fermentés expérimentaux préparés surtout à et 4% d'extrait au méthanol de Thym semble répondre à la normale de 10^7 UFC/ml admise pour un yaourt ferme étuvé (**Libnor, 1999**).

Pendant toute la période de l'étude, le jury de dégustation a qualifié les meilleurs critères sensoriels (adhésivité, adhésivité, goût de fraîcheur, odeur) dans le yaourt non additionnés d'extrait au méthanol de thym par comparaison aux autres produits additionnés de Thym. Par contre, les panelistes ont très bien accepté les lais fermentés additionnés surtout à 2% et 4% d'extraits au méthanol de Thym qu'ils ont même caractérisé de meilleur au plan goût que le yaourt témoin.

Conclusion

Au terme de cette étude et à la lumière des résultats trouvés il apparaît bien que les extraits au méthanol de *thymus vulgaris* récolté dans la région de SETEF contient l'essentiels des composés bioactifs capables d'améliorer la stabilité et la durée de conservation des laits fermentés type yaourt ferme.

Le PH à l'inverse de l'acidité a connu une augmentation en fonction de l'augmentation des taux d'extrait de Thym variable de 0 à 8% dans les laits fermentés.

Par ailleurs la croissance des deux souches spécifiques du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) semble être freinée avec la dose d'extrait de la plante. Ces réponses sont à l'origine des baisses de la viscosité des produits constatées surtout à des taux sévères d'extraits de la plante de 6 et 8%.

Au plan gustatif, les laits fermentés préparés à 2 et 4% d'extrait au méthanol de Thym ont été appréciés de la même manière que le témoin standard. Les critères mesurés à savoir (goût, cohésivité, adhésivité, fraîcheur, couleur et odeur) n'ont pas été détériorés.

En perspective il serait fort intéressant de suivre l'influence d'extraits d'autres plantes (la Menthe, le Gingembre, le Romarin...etc.) autochtones récoltés localement en Algérie sur la qualité et la stabilité des yaourts (étuves ou brassés) durant la conservation.

Références Bibliographiques

- Almas, K., 2001.** The Antimicrobial effects of seven different types of asian chewing sticks. *Odonto-Stomatologie Tropicale.*, 96: 17-20.
- 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.
- Anonyme. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO: Alimentation et nutrition, 28.
- 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.
- (Bruneton, 2009).** Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie- photochimie, plantes médicinales, 3^{em} édition. Ed. Tec et Doc Lavoisier. Paris.
- Campbell L.B. and Pavlasek S.J. (1987).** Dairy products as ingredients in chocolate and confections. *Food Technology*, 41 (10), 78-85.
- (Catier et Roux, 2007). Roux., (2008).** Conseil en aromathérapie ., 2^{ème} Edition, pro-officia., p187. Their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*. 128 : p 151-153.
- Delachaux, Niestlé. 2013.** 500 plantes comestibles "Histoire botanique alimentation" P : 272.
- Doleyres Y. (2003).** Production en conteneur du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse Doctorat. Université de Laval. Quebec. 167 pages.
- Lamoureux L. (2000).** Exploitation de l'activité β - galactosidase de culture de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. Mémoire de maîtrise, Université de Laval, Canada.
- Leory F., Degeest B. and DE VUYST L. (2002).** A novel area of predictive modeling: describing the functionality of beneficial micro-organisms in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 251-259.

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

Loones A. 1889. Modification de la composition du lait durant la fermentation du yaourt, lait fermenté. Paris.

(Majinda et al. 2001). Majinda R. R. T., Abegaz B. M. & Bezabih. (2001). Recent results from naturel production research at the University of Botswana. Pure. Appl. chem. 73(7): 1197-1208.

Marty –Teyssset C. de laTorre F. and Garel J-R. (2000). Increased production of hydrogen peroxide by lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus upon aeration: involvement. Applied and Environmental Microbiology, 66(1), 262-267.

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

Noznick P.P. (1982). Dairy Ingredients in food. Bulletin de la Fédération Internationale de Laiterie, 142, 60-66.

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

Schmidt T J.L., TOURNEUR C. et LENOIR J. (1994). Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in « bactéries lactiques ». Vol II. DE ROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, paris. 37-46.

Singh Sudheer K., Ahmed Syed U. and Ashok P. (2006). Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge : woodhead Publishing.

Sultana, B., F. Anwar and M. Ashraf, 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules., 14: 2167-2180.

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

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

ANNEXES

Annexe 1. Evolution du PH des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.

Doses	Echantillons	PH-0h	PH-2h	PH-4h	PH-7j	PH-15j	PH-21j
0%	1	6,461	5,691	5,691	4,85	4,97	4,92
	2	5,692	5,692	4,89	4,9	4,88	5,692
	3	5,693	5,693	4,82	4,99	4,83	5,693
2%	4	5,54	5,16	4,97	4,92	5,04	5,54
	5	5,541	5,161	4,99	5,11	5,02	5,541
	6	5,542	5,162	5	5,09	5,17	5,542
4%	7	5,56	5,03	4,99	5,03	5,34	5,56
	8	5,561	5,031	5,02	5,05	5,23	5,561
	9	5,562	5,032	5,01	5,05	5,38	5,562
6%	10	6,001	5,2	4,99	5,13	5,34	6,001
	11	6,002	5,201	5,08	5,07	5,56	6,002
	12	6,002	5,202	5,05	5,08	5,39	6,002
8%	13	5,78	5,22	5,18	5	5,5	5,78
	14	5,781	5,221	5,17	5,04	5,55	5,781
	15	6,5	5,78	5,22	5,22	5	5,66

Annexe 2. Evolution de l'acidité Dornic des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.

Doses	Echantillons	AC-0h	AC-2h	AC-4h	AC-7j	AC-15j	AC-21j
0%	1	18,02	45,001	70	93	98	98
	2	18,03	45,002	70,001	90	96	96
	3	18,01	45,003	70,002	95	94	100
2%	4	17,001	37,004	65	83	96	88
	5	17,002	37,002	65,001	82	89	85
	6	17,003	37,001	65,003	85	70	83
4%	7	17,003	35,004	62,002	73	86	80
	8	17,004	35,003	62,003	72	74	78
	9	17,005	35,002	62,003	71	80	82
6%	10	16,001	30,001	60,001	72	76	79
	11	16,002	30	60,002	71	78	80
	12	16,003	30,002	60,001	70	74	76
8%	13	16,004	30,004	52,002	69	75	75
	14	16	30,004	52,003	70	74	73
	15	16,001	30,003	52,004	68	72	74

Annexe 3. Variation de la viscosité des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.

Doses	Echantillons	visco-1j	visco-7j	visco-15j	visco-21j
0%	1	493,73	682,06	595,53	493,73
	2	557,355	757,392	493,221	455,046
	3	152,7	145,065	152,7	155,754
2%	4	613,854	558,882	604,692	458,1
	5	290,13	290,13	338,485	305,4
	6	196,983	204,618	207,672	285,549
4%	7	458,1	878,025	610,8	592,476
	8	314,562	305,4	458,1	343,575
	9	249,41	251,955	186,294	302,346
6%	10	798,621	610,8	707,001	613,854
	11	226,505	236,685	239,23	241,775
	12	157,281	145,065	302,346	175,605
8%	13	648,975	699,875	671,88	603,165
	14	302,346	253,482	456,573	381,75
	15	132,32	152,7	206,145	223,96

Annexe 4. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.

Doses	Echantillons	strp-0h	strp-2h	strp-4h	strp-7j	strp-15j	strp-21j
0%	1	24000	45000	49000	220000	280000	155000
	2	25000	44000	48000	225000	285000	153000
	3	23000	45000	49000	230000	288000	160000
2%	4	24000	35000	45000	45000	240000	85000
	5	25000	34000	44000	50000	245000	80000
	6	25000	35000	45000	55000	242000	82000
4%	7	25000	30000	40000	50000	135000	66000
	8	24000	31000	41000	55000	133000	65000
	9	25000	30000	40000	52000	134000	68000
6%	10	21000	27000	37000	45000	120000	55000
	11	22000	26000	38000	43000	118000	58000
	12	23000	27000	37000	41000	116000	56000
8%	13	23000	25000	33000	38000	108000	44000
	14	22000	24000	32000	37000	110000	50000
	15	23000	25000	33000	35000	105000	48000

Annexe 5. Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* ($N.10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnées d'extraits au méthanol de thym.

Doses	Echantillons	LACT-0h	LACT-2h	LACT-4h	LACT-7j	LACT-15j	LACT-21j
0%	1	22000	35000	45000	63000	75000	70000
	2	21000	36000	46000	61000	77000	68000
	3	22000	35000	45000	60000	74000	67000
2%	4	18000	22000	35000	40000	44000	40000
	5	17000	23000	34000	42000	45000	37000
	6	18000	22000	35000	43000	46000	38000
4%	7	18000	20000	28000	33000	39000	19000
	8	17000	21000	27000	31000	38000	17000
	9	18000	20000	28000	30000	37000	16000
6%	10	10000	20000	26000	28000	34000	14000
	11	11000	21000	25000	25000	35000	12000
	12	10000	20000	26000	26000	33000	13000
8%	13	10000	18000	23000	22000	30000	11000
	14	11000	17000	22000	24000	29000	10000
	15	10000	18000	23000	20000	32000	9000

Annexe 6. Variation des tests organoleptiques des laits fermentés additionnés d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Doses	Panelistes	GOUT AC 1J	GOUT AC 7J	GOUT AC 15J	GOUT AC 21J	cohés-1j	cohés-7j	cohés-15j	cohés-21j
0%	1	1	1,5	1,5	5	1	3,5	1	1
	2	4	1,5	3	4	1	1,5	1	1
	3	5,5	4	4,5	4	2	3	1	1
	4	2,5	2	1	5	1,5	1	1	1
	5	2	4	4,5	4,5	1,5	1	1,5	1
	6	6	2,5	2,5	5	1,5	1	1	1
	7	8	3	4,5	5	1	1	1,5	1
	8	5	1	2	5	2	1	1	1
2%	1	2	1,5	1,5	4	2	1,5	2	2,5
	2	3	3,5	2	5	2	1,5	2	2
	3	3	5	4,5	3	1	3	2	2,5
	4	3	1	2	4	1,5	2	2,5	2,5
	5	4,5	4	5	4,5	1,5	2	1,5	2,5
	6	6	4,5	2,5	4	1,5	4,5	2	2
	7	7	5	4,5	4	2	2	1,5	2
	8	8	2	1	3	1	2	2	3
4%	1	3	3,5	4,5	3	3	3,5	3	2,5
	2	3	1,5	4,5	2	3	3	3,5	3
	3	1,5	1,5	2	2,5	3	3	3	2,5
	4	2,5	3	4,5	2,5	3	3,5	2,5	2,5
	5	2	1,5	4,5	3	4	3,5	3,5	2,5
	6	1,5	4,5	2,5	3	3	4,5	3,5	3
	7	7	3	3	3	3	3	3	3
	8	6	4	5	4	3,5	3	3	2
6%	1	3	5	3	1,5	4,5	5	4	4
	2	3	3,5	4,5	2	4	4	3,5	4,5
	3	5,5	1,5	2	2,5	4	3	4	4
	4	2,5	4	4,5	1	4	5	4	5
	5	2	1,5	4,5	2	3	5	3,5	4
	6	1,5	2,5	2,5	2	4	2,5	3,5	4
	7	7	3	1	1	4,5	3	4	5
	8	8	4	3,5	2	3,5	4	4	4
8%	1	3	3,5	4,5	1,5	4,5	1,5	5	5
	2	1	5	1	2	5	5	5	4,5
	3	1,5	3	2	1	5	3	5	5
	4	1	5	3	2,5	5	3,5	5	4
	5	4,5	4	1	1	5	3,5	5	5
	6	7	1	5	1	5	2,5	5	5
	7	8	1	2	2	4,5	3	5	4
	8	7	4	3,5	1	5	5	5	5

Annexe 6. Variation des tests organoleptiques des laits fermentés additionnés d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Doses	Panelistes	Adhési- 1j	Adhési- 7j	Adhési- 15j	Adhési- 21j	Arrière gou-1j	Arrière gou-7j	Arrière gou-15j	Arrière gou-21j
0%	1	1	1,5	3,5	1	1	1	1,5	1
	2	1,5	1	1	1	1	1	1	1
	3	1	4,5	1	1	1	5	1	2,5
	4	1	1,5	1	1	2	1,5	1	1,5
	5	1	1	1	1,5	1	1	1	1
	6	1	1	3	1	1	1	2	1,5
	7	1,5	1	2	1	1	1,5	1	1,5
	8	1	4,5	1,5	1	1,5	1	1,5	1
2%	1	2	4	1,5	2,5	2	2	1,5	2
	2	1,5	2	2	2	2	2	2	2
	3	2	4,5	2	2,5	2	2	3,5	1
	4	3,5	1,5	2	2	1	1,5	2	1,5
	5	2	2	2,5	1,5	2	3	2,5	2,5
	6	2	2,5	3	2	2	2,5	2	1,5
	7	1,5	2	1	2	2	4	2,5	1,5
	8	2	1,5	1,5	3	1,5	2,5	1,5	2
4%	1	3	5	1,5	2,5	3	4,5	3	3
	2	3	4	3,5	3,5	3	4,5	3	3
	3	3,5	3	3	2,5	3	2	2	2,5
	4	3,5	3	3	4	3	3	3,5	3
	5	3	3,5	2,5	4	3	4	2,5	2,5
	6	3	4	3	3	3	4,5	2	3
	7	3	3,5	3,5	3,5	3	5	2,5	3
	8	3	1,5	3	4	3	2,5	3	3
6%	1	3	3	3,5	4,5	4,5	3	4	4
	2	4	5	3,5	3,5	4	4,5	4	4
	3	3,5	1,5	4,5	4,5	4,5	2	3,5	4
	4	4	5	4	4	4	4	3,5	4
	5	4	3,5	4	3	4	4	4	4
	6	4	2,5	4	4	4	4,5	4	4,5
	7	4	3,5	3,5	5	4	1	4	4,5
	8	4,5	3	4,5	2	5	4	4	4,5
8%	1	5	1,5	5	4,5	4,5	4,5	5	5
	2	5	3	5	5	5	3	5	5
	3	5	1,5	4,5	4,5	4,5	4	5	5
	4	5	4	5	4	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5	4	5	5
	6	5	5	5	5	5	2,5	5	4,5
	7	5	5	5	3,5	5	1,5	5	4,5
	8	4,5	4,5	4,5	5	4	5	5	4,5

Annexe 6. Variation des tests organoleptiques des laits fermentés additionnés d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Doses	Panelistes	couleur- 1j	couleur- 7j	couleur- 15j	couleur- 21j	g fraîche- 1j	g fraîche- 7j	g fraîche- 15j	g fraîche- 21j
0%	1	5	1	1,5	4,5	1	1	2,5	1
	2	1,5	1	4	1,5	1	1	1,5	1,5
	3	4	4,5	3,5	1	1	1	1	1
	4	2,5	2	3	3	1	4	1	1,5
	5	2	4	2,5	1,5	1	4	1,5	1
	6	2,5	1	1,5	5	1	1	1	1
	7	2,5	2	2,5	2	1,5	3,5	1	1,5
	8	1	1,5	1	1	1	1	1	1,5
2%	1	4	2	1,5	4,5	2	2	1	2
	2	1,5	2,5	2,5	1,5	2	2,5	1,5	3
	3	2,5	2,5	3,5	3,5	2	3,5	2	2,5
	4	5	2	3	3	2	1	2,5	1,5
	5	2	5	4	3,5	2	2,5	1,5	2,5
	6	1	3,5	3,5	3	2	2,5	2,5	2
	7	1	5	1	3	1,5	1,5	2,5	1,5
	8	2,5	1,5	3,5	4	2,5	2,5	2	1,5
4%	1	3	3,5	3	3	3	3,5	2,5	3
	2	3	4	2,5	3,5	3,5	2,5	3	1,5
	3	1	1	1,5	3,5	3	3,5	3	2,5
	4	6	5	3	3	3,5	3	2,5	3
	5	2	2,5	2,5	3,5	3,5	2,5	3,5	2,5
	6	4,5	3,5	3,5	3	3	5	2,5	3,5
	7	4,5	3,5	2,5	1	2	3,5	2,5	3
	8	2,5	3	3,5	4	2,5	2,5	3	3
6%	1	1,5	3,5	4	1	4	3,5	4,5	4
	2	4	5	1	3,5	3,5	3	4	4
	3	2,5	2,5	1,5	3,5	4	5	4	4
	4	2,5	4	1	5	3,5	5	4	4,5
	5	5	2,5	1	5	3,5	1	3,5	4
	6	2,5	2	1,5	3	4	2,5	4,5	3,5
	7	2,5	3,5	4	3	3	5	4,5	4
	8	4	4	3,5	4	3	4,5	4,5	4
8%	1	1,5	5	5	2	5	4	4,5	5
	2	5	2,5	5	5	5	4	5	5
	3	5	4,5	5	3,5	5	4	5	5
	4	4	2	5	1	5	2	5	4,5
	5	4	1	5	1,5	5	5	5	5
	6	4,5	5	5	1	5	4	4,5	5
	7	4,5	1	5	3	5	1,5	4,5	5
	8	5	5	3,5	2	5	4,5	4,5	5

Annexe 6. Variation des tests organoleptiques des laits fermentés additionnés d'extraits au méthanol de *Thymus vulgaris*.

Doses	Panelistes	odeur-1j	odeur- 7j	odeur-15j
0%	1	1	1	1
	2	1	1	1
	3	1	5	1
	4	1	2,5	1
	5	1	1	1,5
	6	1	1	1
	7	2,5	1,5	1
	8	1	1	1
2%	1	2	4,5	2,5
	2	2	2	2,5
	3	2	4	2
	4	3,5	1	3
	5	2,5	2	1,5
	6	2	4,5	2,5
	7	1	1,5	2,5
	8	2,5	2,5	2
4%	1	3	4,5	2,5
	2	3	3,5	2,5
	3	3	2	3
	4	3,5	4,5	2
	5	2,5	4	3
	6	3,5	4,5	2,5
	7	2,5	3	2,5
	8	2,5	2,5	3,5
6%	1	4	4,5	4
	2	4	5	4
	3	4	2	4
	4	4	4,5	4
	5	4,5	4	4
	6	3,5	2,5	4
	7	4,5	4	4,5
	8	4	4	3,5
8%	1	5	5	5
	2	5	3,5	5
	3	5	2	5
	4	5	2,5	5
	5	4,5	4	5
	6	5	2,5	5
	7	4,5	5	4,5
	8	5	5	5