



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mlle BOUALEM Sarah

Pour obtention du diplôme de

**MASTER EN AGRONOMIE**

Spécialité : CONTRÔLE DE QUALITÉ DES ALIMENTS

**THÈME :**

**Aptitude à l'amélioration de la qualité physicochimique et microbiologique d'un lait fermenté (yaourt étuvé) par l'ajout de l'extrait hydrométhanolique de *Mentha x piperita L.***

Soutenu publiquement le : ...../...../..2020.

Devant le Jury :

Président	M. BEKADA A.M.A	Professeur	C.U. Tissemsilt
Encadreur	M. AIT SAADA. D	MCA	U. Mostaganem
Co-Encadreur	Mme AIT CHABANE .O	MCB	U. Mostaganem
Examineur	Mme. BENMAHDI Faiza	MCB	U. Mostaganem
Invité	Mme GUEMIDI .C	Doctorante	U. Mostaganem

*Thème réalisé au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition Université- Mostaganem.*

Année universitaire : 2019 /2020.

## **Remerciements :**

*Au terme de ce mémoire de fin d'étude, mes remerciements vont tout d'abord à Dieu le tout puissant, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à **M. AIT SAADA. D** Maitre de Conférences Classe A à l'Université de Mostaganem, pour m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.*

*Mes plus vifs remerciements s'adressent surtout au Co-encadreur **Mme AIT CHABANE .O.** Maitre de Conférences Classe B à l'Université de Mostaganem ainsi qu'à Mme **GUEMIDI .C.** Doctorante à l'Université de Mostaganem, pour leurs disponibilités, générosités, conseils précieux et pour toutes les orientations qui nous ont apporté durant la réalisation de ce projet.*

*Je remercie également **M. BEKADA A.M.A** professeur au centre universitaire de Tissemsilt d'avoir voulu présider le jury d'évaluation de mon mémoire de master et Madame **BENMAHDI Faiza** Maitre de Conférences Classe B à l'Université de Mostaganem d'avoir accepté d'examiner ce présent travail.*

*Dans l'impossibilité de citer tous les noms, mes sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.*

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

## **Résumé :**

L'objectif assigné à travers cette étude est de suivre l'effet d'incorporation de l'extrait hydrométhanolique riche en poly phénols de *Mentha piperita* L. sur la qualité d'un yaourt étuvé. La menthe poivrée (*Mentha piperita* L) a été récoltée dans la wilaya de Ouargla-Algérie. L'extraction des composés phénoliques de la menthe poivrée a été réalisée par macération à froid dans méthanol aqueux. Le solvant du filtrat a été ensuite concentré et l'extrait récupéré a été enfin incorporé dans un lait fermenté type yaourt étuvé à raison de 0, 2 et 4%, respectivement. Les mesures et contrôles effectuées en triple essais sur l'extrait hydrométhanolique de la menthe et les laits fermentés expérimentaux au 1<sup>er</sup> jour de la période de fermentation et après 21 jours de conservation ont concerné : dosage des polyphénols totaux, dosage des flavonoïdes, acidité, pH , viscosité, dénombrement des *Streptococcus thermophilus*, dénombrement des *Lactobacillus bulgaricus*, adhésivité, cohésivité et fraîcheur. Les résultats paramétriques ont subi une analyse de variance monofactorielle et une comparaison des moyennes selon le test de Newman et Keuls ; alors que les données organoleptiques ont été traitées statistiquement par le test de Friedman.

L'extrait de la menthe poivrée (*Mentha piperita* L) riche en composés phénoliques semblent exercer à de fortes doses de 4% dans le lait fermenté une baisse remarquable de la croissance des germes lactiques spécifiques du yaourt ; *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Cet effet antimicrobien s'est traduit par une perte de la qualité rhéologique du produit (viscosité, adhésivité et cohésivité) particulièrement au cours de 21 jours du stockage à 4°C.

Toutefois, il apparaît possible d'incorporer l'extrait de la menthe à un taux de 2% sans altérer la qualité du yaourt.

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

**Abstract:**

The objective of this study is to monitor the effect of incorporating Polyphenol-rich Hydromethanolic extract of *Mentha piperita* L. on the quality of a parboiled yogurt. The Peppermint (*Mentha piperita* L) was collected in the wilaya of Ouargla-Algeria. The extraction of phenolic compounds from peppermint was carried out by cold maceration in aqueous methanol. The solvent of the filtrate was then concentrated and the recovered extract was finally incorporated into a fermented milk (yogurt) at the rate of 0, 2 and 4%, respectively. The measurements and controls carried out in triplicate on the hydromethanolic extract of mint and the experimental fermented milks on the 1st day of the fermentation period and after 21 days of preservation in interest of: dosage of total polyphenols, dosage of flavonoids, acidity, pH, viscosity, enumeration of *Streptococcus thermophilus*, enumeration of *Lactobacillus bulgaricus*, adhesiveness, cohesiveness and freshness. The parametric results were subjected to a monofactor analysis of variance and a comparison of means according to the Newman and Keuls test; while the organoleptic data were treated statistically by Friedman's test.

Peppermint extract (*Mentha piperita* L) rich in phenolic compounds seems to exert at high doses of 4% in fermented milk a remarkable decrease in the growth of specific lactic acid bacteria in yoghurt; *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. This antimicrobial effect resulted in a loss of the rheological quality of the product (viscosity, adhesiveness and cohesiveness), particularly during 21 days of storage at 4 ° C.

However, the results show that incorporating the mint extract at a rate of 2% does not affect the quality of yogurt.

**Key words:** Phenolic compounds, extract, yogurt, fermented milk, quality, preservation, *Mentha piperita*, peppermint.

## ملخص:

الهدف الذي خصصته هذه الدراسة هو تتبع تأثير دمج مستخلص الهيدروميتانولي الغني بالبولىفينيول من (*Mentha piperita L*) على جودة الحليب المخمر نوع ياغورت . تم حصاد النعناع (*Mentha piperita L*) في ولاية ورقلة - الجزائر. تم استخراج المركبات الفينولية من النعناع عن طريق الهلام البارد في الميثانول المائي. ثم تركز المذيب من مرشح والمستخرج المستردة تم دمجها في نهاية المطاف مع الحليب المخمر بمعدل 0 و 2 و 4% على التوالي. القياسات والضوابط التي أجريت في الاختبارات الثلاثية على مستخلص الهيدروميتانول من النعناع والحليب المخمر التجريبي في اليوم الأول من فترة التخمر وبعد 21 يوما من الحفاظ على المعنية: جرعة من البولىفينول الكلي، جرعة الفلافونويد، الحموضة، الأسى، اللزوجة، نمو بكتيريا (*Streptococcus thermophilus*، *Lactobacillus bulgaricus*)، لاصقة، تماسك ونضارة. وخضعت النتائج البارامترية لتحليل فرق وحيد العامل ومقارنة متوسطي اختبار Newman et Keuls؛ تمت معالجة البيانات العضوية إحصائيا من قبل اختبار Friedman .

في الختام ، تشير النتائج أن مستخلص النعناع غني بالمركبات الفينولية و حينما تمارس في جرعات عالية من 4% في الحليب المخمر تقلل في نمو جراثيم الزبادي اللبنى (*Streptococcus thermophilus* ، *Lactobacillus bulgaricus*)، وقد أدى هذا التأثير المضاد للميكروبات إلى فقدان الجودة الريولوجية للمنتج (اللزوجة واللصق والتماسك) خاصة خلال 21 يوماً من التخزين عند 4°C.

ومع ذلك، يبدو من الممكن دمج مستخلص النعناع بمعدل 2% دون تغيير نوعية الزبادي.

**الكلمات الرئيسية:** مركبات الفينولية، استخراج، الزبادي، الحليب المخمر، الجودة، المواد الحافظة ، *Mentha piperita L* ،

## Liste des tableaux :

### Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Critères microbiologiques du yaourt ( <i>J.O.R.A, 1998</i> ).	18
<b>Tableau 2.</b> Teneurs en principaux composés phénolique et flavonoïdes de l'extrait hydrométhanolique, ainsi que de la matière végétale de <i>Mentha piperita L</i>	28
<b>Tableau 3.</b> Effet d'ajout de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha piperita L</i> sur la qualité du yaourt étuvé au cours de la conservation	30

### Liste des figures :

<b>Figure 01.</b> La menthe.	02
<b>Figure 02.</b> Feuilles de <i>Mentha piperita</i> .	03
<b>Figure 03.</b> La menthe poivrée.	04
<b>Figure 04.</b> Profil chromatographique de l'essence de l'hydrolat de la Menthe poivrée .	05
<b>Figure 05.</b> La structure des tannins condensés.	08
<b>Figure 06.</b> Aspect microscopique des bactéries lactiques du yaourt	12
<b>Figure 07.</b> Diagramme des principales étapes de fabrication du yaourt.	16
<b>Figure 08.</b> Etape d'extraction des composés phénoliques de <i>Mentha piperita L</i> .	

## Liste des abréviations :

**°D** : Degré Dornic.

**AFNOR**: Association française de normalisation.

**B L**: Bactéries Lactiques.

**°C** : Degré Celsius.

**CNIEL**: Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière.

**CPG**: Chromatographie en Phase Gazeuse.

**DM**: Dilution mère.

**EAG** : Equivalent d'acide gallique.

**EMP**: Embden-Meyerhof-Parnas.

**EPS**: Exopolysaccharides.

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.

**EST**: Extrait sec total.

**F.I.L** : Fédération Internationale du lait.

**FAO**: Food and Agriculture Organization.

**HE**: Huile Essentielle.

**J.O.R.A** : Journal Officiel de la République Algérienne.

**J1**: premier jour.

**L** : litre.

**Lb**: *Lactobacillus*.

**MG**: matière grasse.

**MRS**: Man, Rogosa, Sharpe.

**MS**: Matière sèche.

**PAM**: plantes aromatiques et médicinales.

**PCA**: Plate Count Agar.

**SM**: Spectrométrie de Masse.

**Sp.** : Espèce non précisée.

**Ssp.** : Sous espèce.

**St** : *Streptococcus*.

**T** : Témoin.

**UFC /ml** : Unité formant colonie par millilitre.

## Tables des matières

Remerciement

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....	1
Patrie 01 : Synthèse bibliographique.....	3
Chapitre I : Généralité sur les espèces de la Menthe poivrée .....	3
<u>1</u> . Généralités :.....	3
2. Définition : .....	3
3. Avantages de la phytothérapie : .....	3
4. Les Menthes .....	4
4.1. Origines historiques .....	4
4.2. La menthe poivrée .....	4
4.2.1. Classification .....	5
4.3. Caractéristiques .....	5
4.3.1. Description .....	5
4.3.2 .Pays d'origines .....	6
4 .3.3 .Principaux pays producteurs .....	6
4.3.4. Culture.....	6
4 .3.5.Récolte .....	7
4.4.5 Conservation.....	7
4.4.6 Composition .....	7
5. Propriétés et emplois.....	8
5.1. Propriétés.....	8
5.2. Toxicologie.....	8
5.3. Emploi comme épice .....	9

6- Usages.....	9
6.1 Usages internes .....	9
6.2. Usage externe .....	9
7. 1. Huiles essentielles.....	9
7.2. Composés phénoliques.....	10
7.3. Caroténoïdes de la menthe .....	10
7.4. Flavonoïdes .....	10
Chapitre II : Généralités sur le yaourt .....	11
<i>II. Présentation du yaourt.....</i>	<i>11</i>
1 Historique.....	11
2. Définition et réglementation du yaourt.....	12
3. Matières utilisées pour la production du yaourt .....	13
3.1. Lait frais .....	13
3.2. La poudre de lait .....	13
3.3. L'eau .....	14
3.4. Les additifs .....	14
4. Bactéries caractéristiques du yaourt .....	14
4.1. Streptococcus thermophilus .....	14
4.2. Lactobacillus bulgaricus .....	14
4.3. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt.....	15
4.3.1. Production d'acide lactique.....	15
4.3.2. Activité protéolytique .....	16
4.3.3. Activité aromatique.....	16
4.3.4. Activité texturant .....	16
4.3.5. Comportement associatifs des deux souches.....	16
5. Les différents types de yaourt .....	17
6. Technologie du yaourt .....	17
Réception du lait.....	17
a) Standardisation du mélange.....	17
Traitement thermique .....	18
7. Qualités du yaourt.....	20
7-1 Aspects physico-chimiques.....	20
7-1-1. PH et taux d'acide lactique .....	20

7-1-2. Taux de matière grasse (MG) .....	21
7-2. Paramètres microbiologiques .....	21
7.3. Qualité organoleptique .....	21
7.3.1. Gélification acide .....	21
7.3.2. Comportement rhéologique .....	22
8. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques .....	22
8.1. Intérêts nutritionnels .....	22
Partie 02 : Partie expérimentale .....	24
Chapitre III : Matériels et méthodes .....	24
1-Objectifs .....	24
2. Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal .....	25
3. Extraction des composés bioactifs par usage du méthanol .....	25
4- Préparation des différentes solutions expérimentales .....	26
5. Dosage des flavonoïdes .....	26
6. Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi de polyphénols .....	26
6.1 Protocole expérimental .....	26
6.2 Préparation des levains .....	27
6.3 Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux .....	27
7. Mesures et contrôles sur les laits fermentés .....	27
7.1 Paramètres physicochimiques .....	27
7.1.1 Acidité .....	28
7.1.2 PH .....	28
7.1.3 Viscosité .....	28
5.2.1 Streptococcus thermophilus .....	29
5.2.2 Lactobacillus bulgaricus .....	29
5.3 Test organoleptique .....	29
- Gout acide .....	29
- Gout de fraîcheur .....	29
- Cohésivité .....	29
- Adhésivité .....	29
6. Traitement statistique .....	29
Chapitre IV : Résultats et discussion .....	30
1-Résultats .....	30

Composés phénoliques et flavonoïdes.....	30
1-2 Qualité des laits fermentés type yaourt étuvé additionnés de poly-phénols de Menthe poivrée	
.....	30
1-2-1 Qualité physicochimique .....	30
1-2-1-1 Ph .....	31
1-2-1-2 Acidité .....	31
1-2-1-3 Viscosité .....	32
1-2-2 Dénombrement des germes spécifiques du yaourt.....	32
1-2-2-1 Streptococcus thermophilus.....	32
1-2-2-2 Lactobacillus bulgaricus.....	32
1-2-3 Qualité organoleptique .....	33
1-2-3-1 Critères gustatifs .....	33
1-2-3-2 Adhésivité et Cohésivité.....	33
2- Discussion.....	34
Conclusion .....	37
Références bibliographiques .....	38

### Introduction :

Les laits fermentés ont constitué une partie essentielle de l'alimentation humaine dans de nombreuses régions du monde depuis des temps immémoriaux. Environ 400 noms génériques sont appliqués aux produits laitiers traditionnels et industriels fabriqués à travers le monde. Ils sont principalement liés au type de lait utilisé, aux microorganismes impliqués et à la technologie appliquée.

Le yaourt peut être considéré comme une alimentation fonctionnelle (**Kim, 2013**) et des vertus santé ont été associées à sa consommation (**Donovan et Shamir, 2014**). Avec les progrès technologiques réalisés, le yaourt apparaît comme un produit laitier très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture. C'est un produit, consommé la plupart du temps comme dessert, très prisé par le monde, car il convient à toutes les tranches d'âge et même chez les sujets intolérants au lait.

La perception négative des consommateurs pour les additifs synthétiques a suscité un intérêt croissant pour trouver des alternatives naturelles. L'utilisation des substances d'origine naturelle comme bio conservateur est de plus en plus appréciée par les consommateurs comme alternative aux produits chimiques hautement dangereux pour la santé humaine (**Viveket al. 2012**).

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

Beaucoup d'études ont été réalisées montrent que les plantes aromatiques et médicinales ont été traditionnellement utilisées comme arômes ainsi que pour prolonger la vie utile des aliments. Bien qu'elles soient peu utilisées commercialement comme conservateurs alimentaires, un grand nombre d'études ont été effectuées sur les extraits poly phénoliques de la menthe dans des matrices alimentaires afin qu'elles puissent être appliquées comme alternatives potentielles aux conservateurs synthétiques.

L'utilisation d'extrait riche en composés bioactifs de *Mentha piperita* L., ou d'autres plantes médicinales dans ce sens peut être une idée originale et efficace pour améliorer la

qualité diététique et prolonger la durée de conservation de certains aliments transformés dont le lait et dérivés et les produits carnés. Ceci permettra sans doute de mettre sur le marché de nouveaux produits tout en diversifiant l'offre, déjà existant.

La *Mentha piperita L.* est une plante aromatique et médicinale appartenant à la famille des Lamiaceae renfermant le plus grand nombre des plantes à propriétés aromatiques et médicinales. Leur activité antimicrobienne a été largement démontrée.

La présente étude consiste en un essai de fabrication d'un yaourt étuvé à base d'extrait hydrométhanolique de poly phénols extraite d'une plante connue pour ses vertus thérapeutiques qui est la Menthe poivrée dont le nom taxonomique est *Mentha piperita L.*

L'objectif de cet essai est de voir la possibilité d'utiliser l'extrait de la Menthe principalement comme conservateur naturel en déterminant son effet sur la stabilité des paramètres physicochimiques et organoleptiques d'un yaourt ferme préparé à l'échelle du laboratoire aussi sur la viabilité de ses ferments.

Le manuscrit objet de l'étude comporte trois parties :

- Une première partie bibliographique attrait sur le yaourt, les poly-phénols et la Menthe poivrée.
- Une seconde partie faisant la description du matériel et des méthodes appliquées dans l'approche expérimentale.
- Enfin, une dernière partie a été consacrée à la critique et à la discussion des résultats obtenus au terme du travail expérimental entrepris au laboratoire ; ainsi qu'aux perspectives recherche développement à entreprendre dans un future proche.

## **Chapitre I : Généralités sur l'espèce *Mentha x piperita* L.**

## Chapitre I : Généralités sur l'espèce *Mentha x piperita* L.

### 1. Généralités :

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

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

### 2. Définition :

Les plantes médicinales sont définies dans la pharmacopée comme des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Plus précisément, une partie de la plante entière est explicitement désignée comme pouvant être utilisée en thérapeutique et est appelée « drogue végétale » ; peut aussi être un exsudat de plantes ou un champignon. Les plantes médicinales sont dénommées de manière précise afin d'éviter les confusions ; on les désigne par leur nom français et par le nom scientifique complet (nom latin du genre, de l'espèce, suivis de l'abréviation du nom du botaniste descripteur, complétés si nécessaire par le nom de la variété ou du chimio type). Cette nomenclature est employée dans ce chapitre, les termes « sp » ; « spp » ; « ssp » signifiant respectivement : espèce indéterminée d'un genre, plusieurs espèces d'un genre, sous espèce.

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

### 3. Avantages de la phytothérapie :

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages, n'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cents dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'ils s'agissent de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuse tels que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan car l'efficacité des médicaments

tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistance de plus en plus (Iserin et al., 2001).

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, et souvent associée au traitement classique. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (Iserin et al., 2001).

#### 4. Les Menthes :

Les menthes étaient utilisées dans des buts thérapeutiques au 16<sup>ème</sup> et 17<sup>ème</sup> siècle, actuellement elles sont utilisées en cuisine, pour préparer des infusions ou comme plante médicinale. Le genre *Mentha* comporte environ 25 espèces, mais au moins 2000 variétés ont été obtenues par hybridation (Delachaux et Niéslés, 2013).



**Figure 01.** La menthe (François, 2012)

##### 4.1. Origines historiques :

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

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

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

- Mentha piperita* L. n.piperita; la menthe poivrée
- Mentha spicata* L. emend L. var *crispa* BENTH ; la menthe criquée
- Mentha pulegium* L.; la menthe pouliot
- Mentha citrata* EHRH.; la menthe bergamote
- *Mentha suaveolens* EHRH. ; la menthe à feuilles rondes.

## 4.2. La menthe poivrée :

Il est distingué deux espèces de Menthe poivrée :

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

-Menthe *piperita aetheroleum*, dont les huiles essentielles de menthe poivrée, renfermes 33 à 55 % de menthol, 13 à 32 % de menthone, 2,8 à 10% d'acétate de menthyl, 3,4 à 14% de cinéole, 1 à 9% de menthofurane, 1 à 5% de limonène et 1,5 à 10% d'isomenthone (François, 2012)



**Figure 02.** Les feuilles de *Mentha piperita* (François, 2012)

### 4.2.1. Classification :

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

Selon leur habitat, on différencie :

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

- *Mentha x piperita* L. var ; *piperita*f.*palescens*; menthe poivrée vert clair (White mint) (François, 2012).

La Menthe poivrée peut être classée comme suit :

**Règne :** Plantae

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiaceae / labiatae (lamiacées)

**Genre :** *Mentha*

**Espèce :** *Mentha x piperita* L. nm *Piperita*

**Autre nom :** Mitchan, menthe anglaise, Peppermint et en Algérie

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

### 4.3. Caractéristiques :

#### 4.3.1. Description :

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

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

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

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



**Figure 03. La menthe poivrée (François, 2012).****4.3.2 . Pays d'origines :**

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

**4 .3.3 . Principaux pays producteurs :**

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

**4.3.4. Culture :**

La menthe poivrée *Mentha piperita* se rencontre sur tous les continents et s'adapte a tous les climats hormis les plus extrêmes. Elle aime les terrains frais , argileux et calcaires (Zyback 2000).

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

La multiplication se fait uniquement par voie végétative ; par division des souches ou des dragons, ces derniers sont récolés naturellement à l'automne, découpés en fragments longs de 15 à20 cm, placés dans un sillon profond de 10cm puis recouverts de terre et humidifiés. On peut également déterrer les souches à l'automne ou au printemps, les divisées puis les replantées dans le jardin, il faut éviter que les stolons l'envahissent trop le terrain en cultivant les plants dans les pots sans fond, enfouis en terre en minimum à 30cm de profondeur.

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

**4 .3.5.Récolte :**

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

Une deuxième coupe, voir éventuellement une troisième, sont possible au plus tard a la mis- septembre. Le produit de la récolte est grossièrement hachée, puis les feuilles sont séparé des tiges par ventilation ou tamisage. Dans les cultures a échelle familiales, les feuilles et les tiges feuillées portant 3 paires de feuilles supérieurs sont cueillies manuellement, elle sont

séchées a des température maximale de 42°C dans des tunnels de séchage et pour une consommation personnel, les feuilles fraîches sont récoltées juste avant leur emploi.

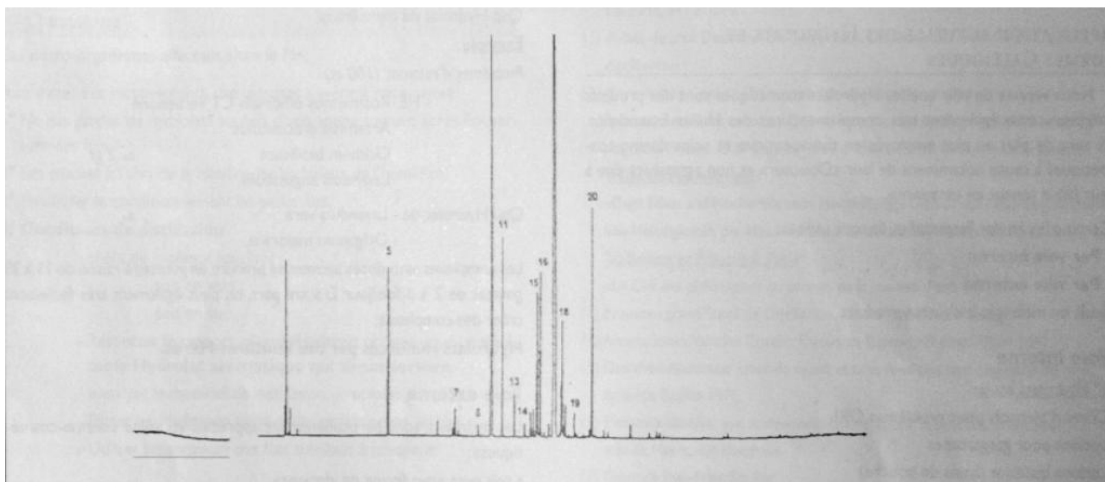
#### 4.4.5 Conservation :

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

#### 4.4.6 Composition :

Le constituant principal est rapporté dans l'huile volatile de menthe dont les proncipaux composants sont habituellement le (-) menthol, ainsi que les stéréoisomères du menthol, tels que (+) néomenthol et (+) isomenthol. D'autres monoterpènes sont aussi retrouvés à de fortes concentrations dans le plante dont le menthone (10-40%), l'acétate de menthyle (1-10%) et de menthofurane (1-10%), le cinéol (eucalyptol, 2-13%) ainsi que le limonène (0,2-6%). Plusieurs autres monoterpènes comme pinène, le terpinène, le myrcène, le  $\beta$ -caryophyllène, piperitone, piperitenone, oxyde de piperitone, pulegone, eugénol, menthone, isomenthone, carvone, cadinene, dipentène, linalool,  $\alpha$ -felandreno, ocimene, sabinene, terpinolène,  $\gamma$ -terpinène, fenchrome , p-menthane et le  $\beta$ -thujon sont également présents en petites quantités (Baslas, 1977; Baslas et Saxena, 1984).

Le classement par groupes chimiques de l'huile essentielle de *Mentha* fait apparaitre une prédominance : de monoterpènes, de cétones et d'Oxydes monoterpéniques.



**Figure 04.** Profil chromatographique de l'essence de l'hydrolat de la Menthe poivrée (Patrick, 1992)

Cette composition est considérablement influencée par des facteurs environnementaux tels que la température, la photopériode, la nutrition, la salinité, le stress hydrique, l'âge de la plante, la récolte et le temps de plantation (**Charles et al., 1990**). Des flavonoïdes comme lutéoline et 7-glucoside (cynaroside), menthoside, iso rhoifoline et autres, y compris un certain nombre de flavones hautement oxygénés ont été rapportés (**Oraniet al. 1991; Rastogi et al. 1990**).

Les tri-terpènes en petites quantités, y compris du squalène,  $\alpha$ -amyrine, l'acide urosolic et le sitostérol ainsi que l'azulène et minéraux ont été également retrouvés dans la menthe poivrée (**Lucida et Wallace, 1998**).

L'huile de menthe poivrée possède un plus grand effet anti-hydrolytique que l'agent de conservation du commerce tel que le butyl-hydroxyle-toluène (BHT) (**Singh et al., 1998**).

## **5. Propriétés et emplois :**

### **5.1. Propriétés :**

La saveur aromatique de la menthe poivrée provoque une stimulation réflexe des sécrétions salivaire, gastrique et biliaire d'où ces propriétés apéritives et digestives. Des extraits hydro-alcooliques et les huiles essentielles inhibent les spasmes induits par l'acétylcholine, l'histamine la sérotonine et la substance P, de façon similaire à l'atropine (modèle d'intestin isolé de cobaye) (**Eberhard et al., 2005**).

### **5.2. Toxicologie :**

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

### **5.3. Emploi comme épice :**

La menthe poivrée peut servir à aromatiser les salades de fruits, les potages froids, les yaourts et les produits laitiers, il est d'excellent condiment que ce soit tel quelle, crus, hachée dans des salades ou dans divers plats ou bien sous forme de sauce à la menthe (**François,**

2009). Les huiles essentielles de menthe poivrée est employé en confiserie : bonbon à la menthe, chewing-gums et d'autres sucreries (Eberhard et al., 2005).

## 6. Usages :

### 6.1 Usages internes :

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

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

### 6.2. Usage externe :

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

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

## 7. Constituants chimiques de *Mentha piperita* L :

La menthe poivrée renferme un grand nombre d'éléments qui se concentrent principalement dans les feuilles et les sommités fleuries dont l'huiles essentielles, les composés phénoliques, les triterpènes et les flavonoïdes (Iserin, 2001), ainsi que les caroténoïdes (Bruneton, 2009). La menthe reforme également des carvone, cinéole, limonène, pinène, thymol, trace d'aldéhydes et acides acétique et valérique, mais aussi les substances amères, comme les tanins (Schmidt, 2010).

### 7. 1. Huiles essentielles :

Les huiles de la menthe poivrée est responsable de l'odeur puissante, les feuilles destinées à un usage pharmaceutique contiennent plus de 9 ml d'huile essentielle par kg de feuilles sèches (**Modif, 2009**).

Selon **Raynaud (2007)**, la préparation des huiles essentielles à partir de la menthe poivrée se fait par plusieurs techniques d'extractions qui sont : l'hydodistillation simple, l'hydrodiffusion, l'expression à froid et l'extraction par les solvants.

**Selon Vidal (2007)**, l'huile essentielle de la menthe poivrée est un liquide de couleur jaune verdâtre, elle contient le menthol qui est le constituant majoritaire avec une proportion de 30 à 50%, ainsi que le menthone 15 à 25%, l'acétate de menthyle jusque à 10%, ainsi que le dénomenthol, l'isomenthol, le pépirithone, le carbure et le pégone.

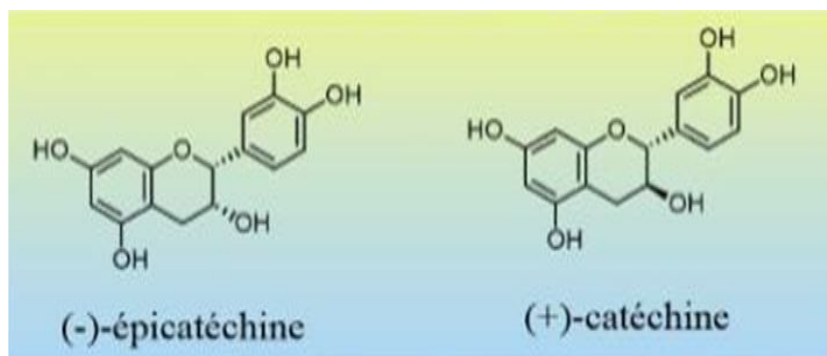
## 7.2. Composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux (**Lugasi et al., 2003**).

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les herbivores, ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV ; dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant. D'autre part leurs actions antibactériennes et antifongiques, participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (**Lebham, 2005**).

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques retrouvés dans un certain nombre des plantes agricoles et médicinales. Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxylephénolique.

Les tanins sont également des composés phénoliques obtenus à partir de la condensation des phénols simple. Leurs propriétés importantes résident dans la combinaison de leurs nombreux hydroxyles, avec les fonctions amides des protéines (**Makkar, 2003 in Alileche et Brik, 2011**). Les tanins sont divisés en deux groupes ; les tanins hydrolysables et les tanins condensés largement répandus dans l'alimentation humaine (**Guingard, 1996**).



**Figure 05.** Structure des tannins condensés (*Hagerman, 2002*).

### 7.3. Caroténoïdes de la menthe :

Les caroténoïdes sont avec la chlorophylle et les anthocyanes, les pigments les plus répandus dans la nature. Plus de 600 caroténoïdes ont été identifiés, mais seule une quarantaine est retrouvée régulièrement dans l'alimentation humaine. Une trentaine de caroténoïdes et de leurs métabolites ont été identifiées dans le plasma et les tissus humains mais six sont majoritaires ; le  $\beta$ -carotène, le lycopène, la lutéine, la  $\beta$ -cryptoxanthine, le  $\alpha$ -carotène et le zéaxanthine. Le plus important et le plus connu des caroténoïdes est le  $\beta$ -carotène ; il est connu pour son activité de provitamine A (**Rock, 2003**).

### 7.4. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal, ils font partie de la classe des polyphénols. Principaux métabolites secondaire des plantes, les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles (**Bruneton, 1999**). Les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anticancéreuses (**Meddleton et Kardasnani, 1993**). Les familles des flavonoïdes peuvent se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques : flavonoïdes, flavones, flavonoles, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (**MedicSanic et al., 2004**).

### 7.5. Terpènes :

Les terpènes sont des composés aromatiques très volatils. A des mono terpènes en C10 et des sesquiterpènes en C15, ils sont classés selon le nombre de cycles et selon la nature de la fonction qu'ils portent (cétone, esters, éther oxydes) (**Bruneton, 2002**).

## **Chapitre II : Généralités sur le yaourt**

## Chapitre II : Généralités sur le yaourt

### 1. Historique :

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

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

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

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

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

### 2. Définition et réglementation du yaourt :

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* (*Lb. bulgaricus*) et de *Streptococcus salivarius*, sous-espèce *thermophilus* (*St. thermophilus*) à partir du lait frais ainsi que du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition de substances (lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines lactosériques concentrées ou non, la caséine alimentaire ...etc.). Les microorganismes du produit final doivent être viables et abondants. Les bactéries lactiques doivent êtreensemencées simultanément et trouvées vivantes dans le produit à raison d'au moins  $10^7$  bactéries/g.

La législation de nombreux pays exige que les bactéries du yaourt soient vivantes dans le produit mis en vente. Certains pays néanmoins admettent qu'à la suite d'un traitement

thermique destiné à améliorer la durée de conservation, le produit ne contienne plus de bactéries vivantes. Cette pratique n'est toutefois pas recommandable, car elle modifie les propriétés du yaourt (*Anonyme, 1995*).

Lors de la mise en consommation, la quantité d'acide lactique libre contenue dans le yaourt ne doit pas être inférieure à 0,8g pour 100g de produit (*Mahaut et al., 2000*).

Les critères pris en compte par le *codex alimentarius* et la F.I.L dans la réglementation du yaourt sont les suivants:

- **Dénomination du produit:** elle varie selon les langues, mais les termes les plus utilisés sont « youghurt », « yoghurt » ou « yaourt ».
- **Le type de produit:** il est défini souvent en fonction de teneur en matière grasse ou de l'adjonction éventuelle d'ingrédients (yoghourt partiellement écrémé ou maigre, yoghurt écrémé, le yoghurt sucré et le yoghurt nature).
- **Le type de ferment utilisé:** La dénomination « yaourt » nécessite l'utilisation obligatoire et exclusive des deux ferments caractéristiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* (*Luquet et Carrieu, 2005*).
- **La quantité de ferment contenue dans le produit fini :** la FIL fixe la quantité de ferments vivants, égale à  $10^7$  bactéries par gramme apportés à la partie lactée jusqu'à la date limite de consommation.
- **La viabilité de la flore lactique:** flore viable pendant toute la durée de vie.
- **Ingrédients laitiers:** lait pasteurisé, congelé, écrémé, concentré, en poudre, crème et caséines...etc.
- **Ingrédients non laitiers:** une multitude d'ingrédients peut être incorporée dans le yaourt. Il peut s'agir par exemple de fruits sous différentes formes (purée, jus, pulpe, sirop...etc), de céréales, de légumes ou de sucre. La quantité d'ingrédients non laitiers est fixée par le *codex alimentarius*, la *FIL* et la plupart des pays à moins de 30% en poids du produit fini.
- **pH :** La FIL préconise une teneur de 0,7% d'acide lactique. Cette valeur est respectée dans certains pays avec une variabilité de 0,6% à 15%. Certaines normes imposent un pH inférieur à 4,5 ou 4,6.

- **Taux de matière grasse:** Il doit être minimum, inférieur à 3% dans le cas des yaourts (nature sucre ou aromatisé) compris entre 0,5 et 3% dans le cas des yaourts partiellement écrémé et 0,5% dans les yaourts écrémés.
- **Teneur en protéines:** elle est égale à 2,8% dans le produit fini (*Luquet et Carrieu, 2005*).

En fonction de la technologie de fabrication, les yaourts sont divisés en deux groupes:

**-Yaourts fermes:** dont la fermentation a lieu en pots. Ce sont généralement des yaourts natures ou aromatisés.

**-Yaourts brassés:** dont la fermentation a lieu en cuves avant le conditionnement. Ce sont généralement des yaourts brassés natures ou aux fruits (*Luquet et Carrieu, 2005*).

### 3. Matières utilisées pour la production du yaourt :

#### 3.1. Lait frais :

La principale matière pour la fabrication des yaourts est le lait de vache. Il est constitué, d'environ 88% d'eau et de 12% de matière sèche contenant des glucides, des protéines, des lipides, et des minéraux (*Amellal-Chibane, 2008*).

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, personne âgées) qui le consomment tel quel à l'état liquide (lait frais) ou sous forme de produits dérivés (fromage, yaourt, 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'autre sels minéraux (notamment phosphore et magnésium) et en vitamines du groupe B(B1, B2, B5 et B12) et en vitamine A.

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

#### 3.2. Poudre de lait :

L'industrie laitière en Algérie fonctionne essentiellement sur la base de matières premières importées, c'est-à-dire de la poudre de lait et de la matière grasse laitière anhydre. Sur le plan technologique, elle est fondamentalement un «processus de recombinaison»

consistant en la réhydratation de poudre de lait à laquelle est associée de la matière grasse (*Amellal, 2000*).

La poudre de lait est constituée essentiellement de matière sèche du lait et d'une très faible quantité d'eau (de 2 à 5%). Elle 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 crème 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. Le degré de dénaturation est exprimé par l'indice d'azote protéique en milligrammes de protéines sériques non dénaturées par gramme de poudre considérée.

Les poudres ayant été préparées avec un traitement thermique bas (low heat, 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*).

### **3.3. Eau :**

L'eau est l'une des matières premières de tous les types des produits laitiers reconstitués et recombinaisonnés. Elle doit être potable, de bonne qualité, dépourvue de microorganismes et d'un niveau de dureté acceptable (*Gosta, 1995*).

### **3.4. Additifs :**

Plusieurs additifs sont rajoutés au mélange au lait lors de la préparation afin d'améliorer les caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles ainsi que la consistance du produit fini. Ces composés comportent le saccharose, les arômes, les épaississants...etc. (*Gosta, 1995*).

Dans le cas des yaourts brassés sans matière grasse, des agents de texture (épaississants ou gélifiants) sont souvent ajoutés. Ils améliorent l'apparence, la viscosité et la consistance des yaourts. Les additifs les plus fréquemment utilisés sont : la gélatine, les alginates, les celluloses, les amidons, et les pectines (*Amellal-Chibane, 2008*).

Les fruits dans les yaourts sont apportés sous forme de préparations de fruits avec ou sans sucres ajoutés. Les agents de texture, incorporés dans la préparation de fruits, participent

également à l'amélioration de la texture des yaourts. Les fruits les plus consommés sont les fruits rouges et les fruits exotiques (*Vignola, 2002*).

#### 4. Bactéries caractéristiques du yaourt :

Les deux bactéries utilisées dans la préparation de yaourt, ont pour rôle principale d'abaisser le pH du lait au point isoélectrique de la caséine (pH 4,6) de façon à former un gel. Outre le goût acidulé qu'elles donnent au gel, elles assurent une saveur caractéristique due à la production des composés aromatiques et à la production d'exopolysaccharides (*Sodini et Beal, 2012*).

##### 4.1. *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 sa texture dans les laits fermentés ; elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (*Bergamairer, 2002*).

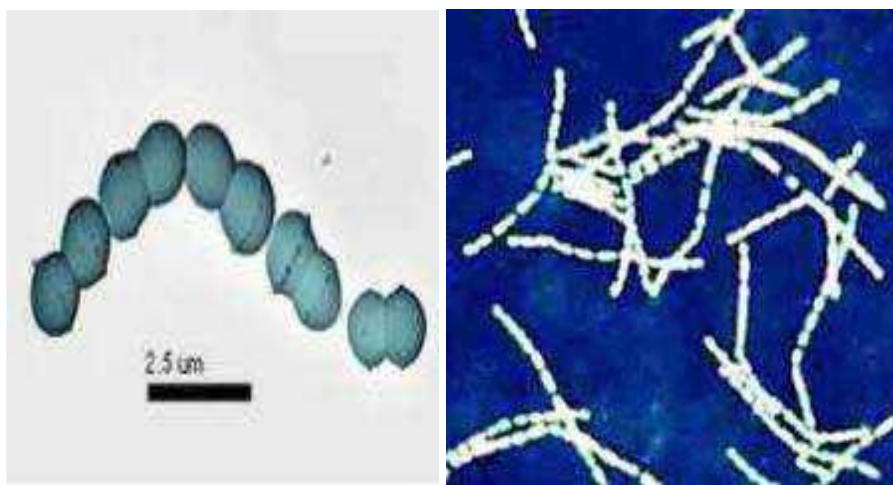
##### 4.2. *Lactobacillus bulgaricus* :

*Lactobacillus bulgaricus* est un bacille gram +, immobile, sporulé, micro aérophile (*Doleyres, 2003*) et thermophile. Cette bactérie possède un mécanisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique à partir des hexoses. Sa température optimale de croissance est approximativement 42°C. Elle a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptique et hygiénique du yaourt (*Marty-Teyssset et Garel, 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-Teyssset et al., 2000*).

Ces deux bactéries lactiques tolèrent de petites quantités d'oxygène. Ceci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le système le plus efficace pour éliminer le peroxyde d'hydrogène est l'utilisation d'une enzyme, la catalase, dont les bactéries lactiques sont déficientes. Ces dernières possèdent plutôt une peroxydase qui est moins efficace que la catalase. Comme les bactéries lactiques n'éliminent pas facilement le peroxyde, elles sont dites micro aérophiles (*Doleyres, 2003*).



**Figure 06.** Aspect microscopique des bactéries lactiques du yaourt

### 4.3. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt :

#### 4.3.1. Production d'acide lactique :

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

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

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

- ✓ Il aide à déstabiliser les micelles de caséines, ce qui conduit à la formation du gel.
- ✓ Il donne au yaourt son goût distinct et caractéristique, comme il contribue à la saveur et l'aromatisation du yaourt (*Tamime et Robinson, 1999 ; Singh et al., 2006*)

Il intervient comme inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes indésirables (*Leory et al., 2002*).

#### 4.3.2. Activité protéolytique :

Pour satisfaire leurs besoins en acides aminés, les bactéries du yaourt doivent dégrader la fraction protéique du lait constituée de caséine et 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 considéré comme ayant une faible activité endopeptidasique. Elle dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique en acides aminés libres (*Schmid et al., 1994*).

#### 4.3.3. Activité aromatique :

Divers composés volatiles et aromatiques interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt. C'est principalement le lactose qui intervient dans la formation de ces composés dans une fermentation de type hétérofermentaire. Parmi ceux-ci l'acide lactique confère au yaourt son goût acidulé. L'acétaldéhyde, qui provient en grande partie de la thréonine, joue un rôle essentiel dans ces caractéristiques organoleptiques recherchées. Sa production, due principalement au lactobacille, est augmentée lorsque ce dernier est en association avec le streptocoque qui en élabore de faibles quantités.

Le diacétyl contribue à donner un goût délicat qui est dû à la transformation de l'acide citrique et, secondairement, le 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*).

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

#### 4.3.4. 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.

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

#### **4.3.5. Comportement associatifs des deux souches :**

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

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

#### **5. Types de yaourt :**

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

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

#### **6. Technologie du yaourt :**

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

Les étapes de fabrication 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 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 :

#### **a) Réception du lait :**

Le lait destiné à la production de yaourt doit être d'une qualité bactériologique très élevée. Il doit avoir une faible teneur en bactéries et substances susceptibles d'empêcher le développement du levain du yaourt. Le lait ne doit pas contenir des antibiotiques et des bactériophages (*Sodini et Béal, 2012*).

Il est primordial de mettre en place dès la réception du lait ou toutes autres matières premières, des méthodes et des procédures rapides et simples permettant de détecter les anomalies et les pertes possibles de contrôle (*Amellal-Chibane, 2008*).

#### **b) Standardisation du mélange :**

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 la taille des globules gras et empêche la séparation entre le gras et le reste du mélange évitant ainsi la remontée de la crème à la surface durant la fermentation (*Lamontagne, 2002*).

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.

Enfin, l'homogénéisation confère un aspect plus blanc au produit fini (*Pernoud et al., 2005*). Pour des raisons hygiéniques et pour éviter une décontamination du lait, l'étape

d'homogénéisation est généralement positionnée avant le traitement thermique du mix ou au cours de sa montée en température vers 64°-70°C (*Lamontagne, 2002; Sodini et Béal, 2012*).

**c) Traitement thermique :** Une fois la préparation du lait terminée, celui-ci est soumise à un traitement thermique de pasteurisation (90°C à 95°C pendant 3 à 5min). Ce traitement permet de créer des conditions favorables au développement des bactéries lactiques, détruire les bactéries pathogènes et indésirables, et inactiver les inhibiteurs de croissance (*Paci kora, 2004 ; Jeantet et al., 2008*).

Le traitement thermique a également un effet sur la conformation tridimensionnelle des protéines, induisant la modification de leurs propriétés fonctionnelles. Il dénature la majorité des protéines du lactosérum (85%) qui se fixent ainsi sur les molécules de caséines. En fin, il modifie les équilibres salins, en entraînant une augmentation de la taille des micelles de caséines, de leur stabilité et de la qualité de l'eau liée (*Mahaut et al., 2000*).

**d) 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 estensemencée à raison de 2%. Une bonne agitation est nécessaire pour rendre parfaitement homogène le mélange lait/ferment.

**e) Réchauffage :**

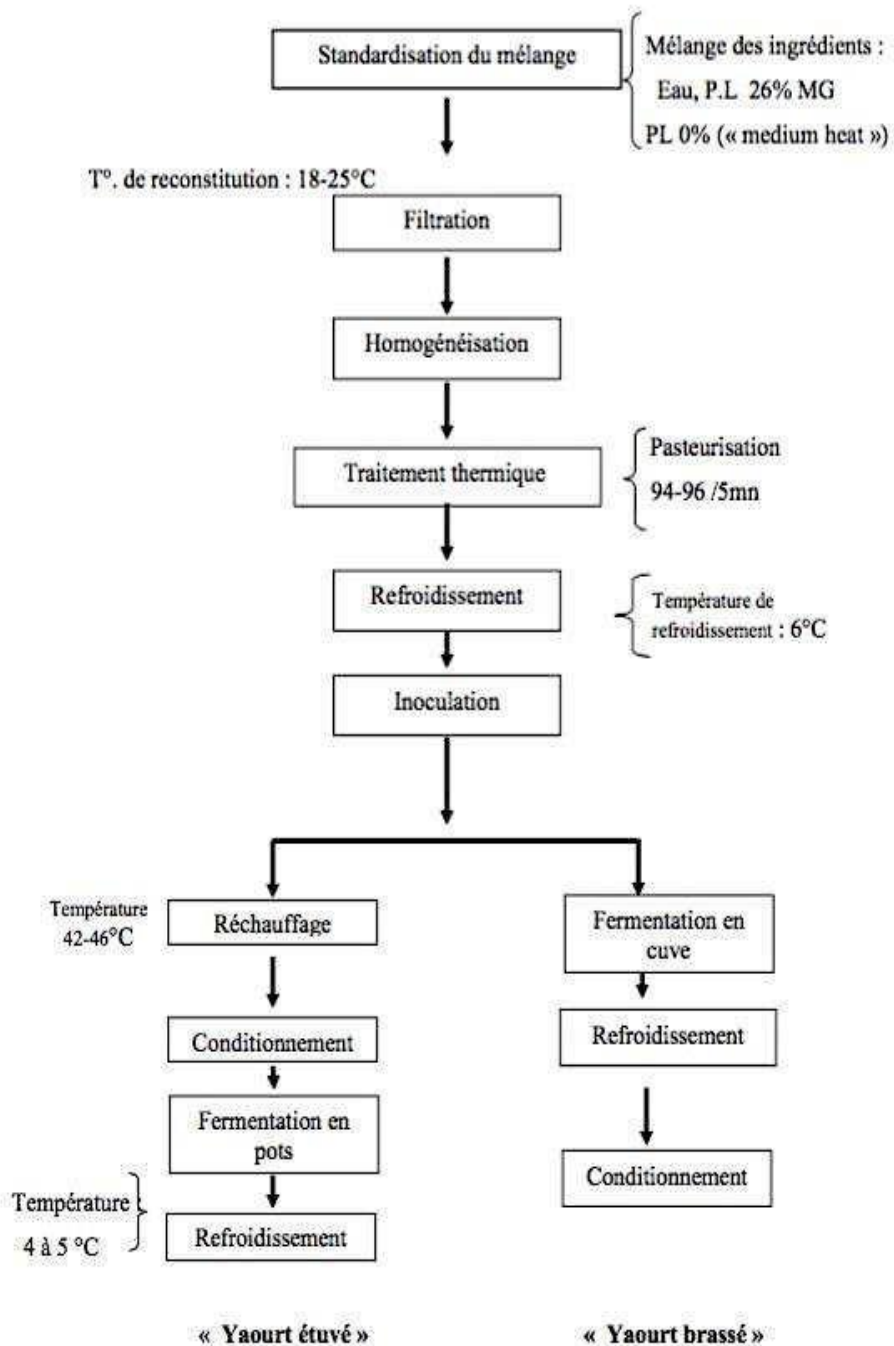
Le lait reconstitué ainsiensemencé est amené à une température généralement voisine de 45 °C par passage à travers des réchauffeurs à plaques. La température optimale de développement du Streptocoque est de 42- 45°C ; celle du Lactobacille de 47 -50°C. Selon les régions, les consommateurs préfèrent des yaourts plus ou moins acides et plus ou moins aromatiques. Les caractères recherchés dépendent des souches utilisées et de la température d'incubation. En abaissant celle-ci de 1 à 3°C (42-44°C), on favorise le développement du streptocoque et donc la production d'arôme. Si en l'augmentant légèrement (45-46 °C), on favorise le lactobacille et donc la production d'acide.

**f) 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 a une fermentation en cuve (dans le cas d'un yaourt brassé).

**f-1 Phase d'incubation (étuvage) :**

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



**Figure7.** Diagramme des principales étapes de fabrication du yaourt.

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

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

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

#### **f -2Brassage :**

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 l'obtention de l'acidité voulue. On procède par la suite au découpage et au brassage du caillé pour le rendre onctueux. Ce traitement, qui doit se faire avec précaution pour ne pas induire des transformations indésirables, a pour but de rendre le caillé onctueux. Il doit être réalisé avec précaution en optant par l'un des procédés suivants :

- Agitation mécanique à l'aide d'un brasseur à turbine ou à hélice ;
- Passage du gel à travers un tamis ;
- Homogénéisation a basse pression.

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

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

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

#### **g) Conservation des yaourts :**

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

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

## **7. Qualités du yaourt :**

### **7-1 Aspects physico-chimiques :**

#### **7-1-1. pH et taux d'acide lactique :**

La Fédération Internationale du lait (F.I.L), préconise une teneur de 0,7% d'acide lactique. Cette valeur est respectée dans certains pays avec une variabilité allant de 0,6 à 1,5%. Certaines normes imposent un pH inférieur à 4,5 ou 4,6 (*Luquet et Carrieu, 2005*).

#### **7-1-2. Taux de matière grasse (MG) :**

Il doit être au minimum inférieur à 3% dans le cas des yaourts (nature, sucré ou aromatisé), compris entre 0,5 et 3% dans le cas des yaourts partiellement écrémés et 0,5% dans les yaourts écrémés (*Ozer et al., 1998*).

#### **7-1-3. Extrait sec totale (EST) :**

La matière sèche est la fraction massique des substances restantes après dessiccation complète de l'échantillon. Elle est exprimée en pourcentage ou en g/l et doit être de l'ordre de 120g/l dans le yaourt (*Nongonierma et al., 2006*).

## **7-2. Paramètres microbiologiques :**

Selon la norme nationale de 1998, n°35 parue au journal officiel, les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène.

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

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

Les critères microbiologiques sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 01.** Critères microbiologiques du yaourt (*J.O.R.A, 1998*).

Yaourt	N	C	M
Coliformes totaux	5	2	10
Coliformes fécaux	5	2	1
<i>St.aureus</i>	5	2	10
Levures	5	2	≤102
Moisissures	5	2	Absence
<i>Salmonella</i>	5	0	Absence

N: Nombre d'unités composant l'échantillon. C: Nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre m et M. m: Le seuil au dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante. M: Seuil limite d'acceptabilité au delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique.

### 7.3. Qualité organoleptique :

#### 7.3.1. Gélification acide :

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

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

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

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

### 7.3.2. Comportement rhéologique :

La transformation du lait en yaourt s'accompagne aussi d'un changement des propriétés rhéologiques en passant d'un liquide à un gel à destruction non réversible. Les additifs ajoutés et les étapes technologiques adoptées lors du procédé de fabrication exercent une influence considérable sur ce comportement (**Paci Kora, 2004**).

## 8. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques :

Les produits laitiers fermentés sont largement consommés et présentent des caractéristiques nutritionnelles et probiotiques bien spécifiques (**Serra et al. 2009 ; Sodini et Béal, 2012**).

### 8.1. Intérêts nutritionnels :

Un pot de yaourt nature possède la même valeur nutritive qu'un verre de lait (**Jeantet et al., 2008**).

Au cours de la fermentation, la composition du lait subit un certain nombre de modification, dont certaines font que le produit soit de meilleure valeur nutritionnelle et thérapeutique (**Serra et al., 2009 ; Sodini et Beal, 2012**) à savoir:

- **Amélioration de l'absorption du lactose :** La présence des bactéries vivantes dans le yaourt permet une meilleure assimilation du lactose chez les personnes déficientes en lactase (**Jeantet et al., 2008**).

- **Amélioration de la digestibilité de la matière grasse :** Bien que l'activité lipolytique soit faible, une augmentation significative en acides gras libres dans un yaourt est constatée (*Jeantet et al., 2008*).
- **Amélioration de la digestibilité des protéines :** Le yaourt est deux fois plus digeste que le lait et contient deux fois plus d'acides aminés libres. Cette propriété résulte du traitement thermique et de l'activité protéolytique des bactéries (*Jeantet et al., 2008*).

## 8.2. Effets thérapeutiques :

- **Activité antimicrobienne :**

Le yaourt joue un rôle important dans la prévention contre les infections gastro-intestinales. Son intérêt dans le traitement contre les diarrhées infantiles, à été démontré par (*Lucas et al., 2004*). Les bactéries du yaourt produisent des substances antimicrobiennes et des probiotiques (*Jeantet et al., 2008*). Leur pouvoir antagoniste résulte aussi de la production du peroxyde d'hydrogène et de bactériocines, limitant la croissance de certains germes pathogène (*Tabak et Bensoltane, 2011*).

- **Activité anti-cholestérolémies :** La consommation de yaourt permet de prévenir les maladies coronariennes et serait plus efficace que le lait, pour maintenir une cholestérolémie basse (*Jeantet et al., 2008*).
- **Stimulation de système immunitaire :** Le yaourt a un effet immunitaire régulateur, qui permet d'augmenter la production d'interférons et d'immunoglobulines et d'exciter l'activité des lymphocytes B. Cet effet est attribué à *Lactobacillus bulgaricus* (*Jeantet et al., 2008*).
- **Action sur les vitamines :** Certaines vitamines sont utilisées par les bactéries (vitamine B12) et d'autres en sont produites (acide folique) (*Martin, 2004*).

## **Partie 2 : Matériels et méthodes**

## Partie 2 : Matériels et méthodes

### 1-Objectifs :

Beaucoup d'intérêt a été attribué aux extraits de plantes médicinales, caractérisées par leurs multiples effets thérapeutiques et antimicrobiens, liées essentiellement à leur composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques.

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

Pour cela, nous nous sommes proposé d'essayer de fabriquer un lait fermenté enrichi d'extrait hydro-méthanolique de l'une des plantes largement cultivée depuis longtemps sous palmeraie à Ouargla- Algérie et très utilisée en médecine traditionnelle par la population à savoir la Menthe verte (*Mentha piperita L*), en vue de connaître le comportement des bactéries spécifiques du yaourt vis-à-vis de certains inhibiteurs de croissance tels les polyphénols, les flavonoïdes et bien d'autres composés bioactifs contenues dans l'extrait, ainsi que l'évolution de la qualité physicochimique et organoleptique du produit alicament élaboré en au cours d'un stockage à 4°C .

D'une façon générale les objectifs escomptés à travers cette étude expérimentale s'articulent autour de 2 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. Des essais d'incorporation d'extrait de (*Mentha piperita L*) dans la fabrication d'un yaourt étuvé seront ensuite entrepris et ce en vue de suivre son effet sur la stabilité et la qualité des produits transformés (laits fermentés) durant 21 jours de conservation au froid à 4 °C.

### 2. Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal

Le matériel végétal objet de l'étude la Menthe poivrée (*Mentha piperita L*) a été prélevé durant les mois de septembre dans la région de Ouargla- Algérie ou elle est cultivée sous palmeraie.

Un échantillon de 1 à 1.25 kg pris uniquement sur la partie aérienne de l'espèce étudiée a été récolté aléatoirement dans une station d'étude propre à la région expérimentale et relevant de l'Institut Technique de Développement de l'Agronomie Saharienne (ITIDAS-Hassi Ben Abdallah) où elle est cultivée traditionnellement sous palmeraie (La région se trouve à 134m d'altitude et possède comme coordonnées géographiques 31°57'N de latitude et 5°9'E de longitude)

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

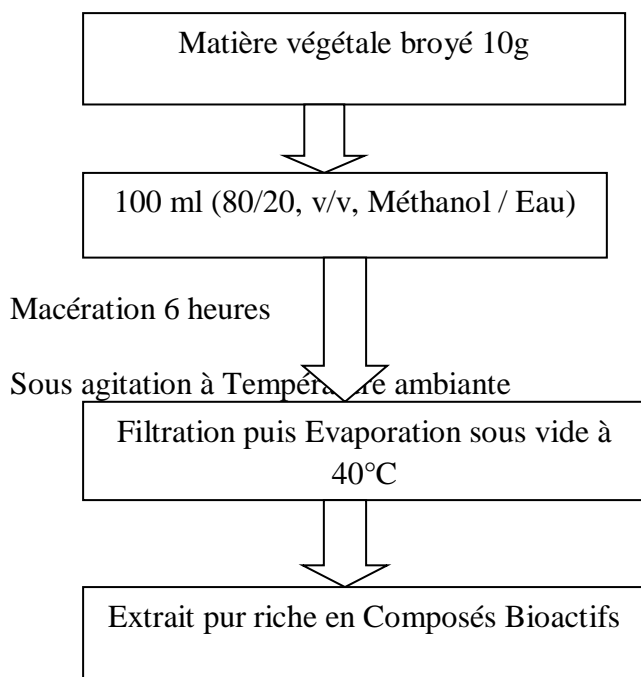
### **3. Extraction des composés bioactifs par usage du méthanol :**

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 (*Salvadorapersica*) d'Arabie Saoudite.

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les poly phénols contenus dans la *Menthe poivrée (Mentha piperita L)* 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 du méthanol comme solvant d'extraction. Elle a été effectuée sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale a été 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 favorisera 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-méthanoliques obtenus ont été filtrés en utilisant un papier filtre Whatman N°3 ayant une porosité de 0,3µm et le filtrat a été débarrassé du solvant par évaporation sous vide à 45°C.



**Figure 08.** Etape d'extraction des composés phénoliques de *Mentha piperita* L (Sultana et al. 2009).

#### 4- Préparation des différentes solutions expérimentales :

A partir de l'extrait pur de la menthe poivrée obtenu comme préalablement des solutions diluées à l'eau distillée à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% ont été préparées ; ils représentent les solutions de travail riche en composés phénoliques de Menthe poivrée.

#### 5. Dosage des poly-phénols totaux :

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits de Menthe verte (*Mentha piperita* L) a été évaluée à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu. Les extraits phénoliques récupérés en solution sont évaporés dans un lyophilisateur pour ne pas endommager les principaux composés bioactifs, on mélange ensuite les extraits bruts récupérés (50 mg) avec du réactif Folin-Ciocalteu (0,5 ml) et de l'eau distillée (7,5 ml). Le mélange a été maintenu à la température ambiante pendant 10 minutes puis on a ajouté 1,5 ml du carbonate de sodium à 20%. Le mélange a été chauffé ensuite dans un bain marie à 40 ° C pendant 20 minutes et puis

refroidi dans un bain de glace. La teneur en CPT de Menthe verte (*Mentha piperita* L) a été calculée enfin suite au dosage du mélange après refroidissement au spectrophotomètre réglé à une absorbance de 730 nm et ce en se référant à une courbe d'étalonnage qui a été réalisée avec de l'acide gallique. Tous les échantillons ont été analysés en trois répétitions et les résultats ont été exprimés en mg Equivalents d'Acide Gallique (EAG) / g de Matière Sèche (MS) de l'espèce végétale étudiée [mg EAG / g MS] ou en mg Equivalents d'Acide Gallique (EAG) / 1 ml d'Extrait hydro-alcoolique (EHA) [mg EGA / 100 ml EHA] (**Chaovanalikit et Wrolstad, 2014**).

## 6. Dosage des flavonoïdes :

La méthode du trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (**Kosalec et al. 2004**) légèrement modifiée a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits de *Mentha piperita* L.

### Mode opératoire:

1 ml de la solution d'extrait (préparés dans l'éthanol) est ajouté à 1 ml d' $AlCl_3$  à 2% dans le méthanol, le mélange est vigoureusement agité, puis l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance a été lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la quercétine.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent quercétine par gramme ou de poids sec de la plante (mg EQ/g Ps) ou en milligramme équivalent quercétine par ml d'extrait ((mg EQ/ml extrait).

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

### 7.1 Protocole expérimental :

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

L'extrait pur au méthanol aqueux de la plante (*Mentha piperita* L) récoltée dans la région de Ouargla -Algérie a été incorporé 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, et 6%, respectivement.

Les échantillons de lait enrichis d'extrait de Menthe poivrée (*Mentha piperita* L) ont été par la suiteensemencés avec les souches spécifiques du yaourt à un taux de levains de 3% et à

un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* (St) sur *Lactobacillus bulgaricus* (Lb) de 2St/1Lb (V/V). Aucun additif pouvant masquer les caractéristiques organoleptiques et rhéologiques n'a été ajouté aux produits transformés (ni saccharose, ni arôme, ni autre additifs).

Chaque concentration d'extrait étudié a été représenté par un nombre de répétitions de trois pots d'une capacité de 100ml de produit finis; soit un nombre total de 12 échantillons expérimentaux.

### 7.2 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 « écrémée », puis subi une pasteurisation durant 2 minutes à 100°C, et un refroidissement à 45°C.

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

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

### 7.3 Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux :

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

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

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

## 7. Mesures et contrôles sur les laits fermentés:

Les mesures et contrôles ont été réalisés sur chaque pot de lait fermenté expérimental à la fin de la période de fermentation au 1<sup>er</sup> jour de fabrication des laits fermentés et à la fin de la période de post acidification (après 21 jours de stockage des produits finis à 4°C).

### 7.1 Paramètres physicochimiques :

#### 7.1.1 Acidité :

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

#### 7.1.2 pH :

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

#### 7.1.3 Viscosité :

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

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

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

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

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

Mais si le liquide s'écoule en régime stationnaire, la perte de charge horizontale vaut  $(\Delta\rho/L)= \rho_{liq} g$  où  $\rho_{liq}$  est la masse volumique du liquide.

Le débit volumique devient :

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

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

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

On obtient la relation donnant la viscosité du liquide :

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

On peut déduire la viscosité cinématique :

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

## 5.2 Analyses microbiologiques :

Une prise d'essai de 5g du lait fermenté à analyser a été additionnée à 45ml d'eau physiologique. Cette solution constituera la première dilution ( $10^{-1}$ ). Des dilution décimales, allant jusqu'à  $10^{-5}$ , ont été ensuite effectuées à l'eau physiologique .

### 5.2.1 *Streptococcus thermophilus* :

Le dénombrement des germes a été réalisé par une culture en profondeur de 1ml d'une prise d'essai à partir de la dilution ( $10^{-5}$ ) sur un milieu de culture sélectif « M17 » après incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48h.

### 5.2.2 *Lactobacillus bulgaricus* :

Le dénombrement des germes a été effectué par une culture d'une prise d'essai à partir de dilution ( $10^{-5}$ ) sur un milieu de culture sélectif « MRS » incubé à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48h.

## 5.3 Test organoleptique :

A la fin des périodes de fermentation et de post acidification, la qualité des laits fermentés expérimentaux a été évaluée par un jury composé de 10 panelistes selon une échelle de notation variable de 1 à 10 en tenant compte les critères sensoriels 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 consommation du produit.
  
- **Cohésivité** : Consiste à déterminer la capacité maximale de déformation de l'échantillon avant de se rompre lorsqu'il est écrasé entre les doigts.
  
- **Adhésivité** : Exprime l'intensité des forces inter faciales développées entre la surface d'une cuillère et celle de l'échantillon lors d'une prise de produit.

## 6. Traitement statistique :

Les résultats paramétriques ont été traités statistiquement par une analyse de variance monofactorielle 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 ont été analysés statistiquement par le test non paramétrique de Friedman (**Stat Box 6.4**).

## **Partie 3 : Résultats et discussion**

## Partie 3 : Résultats et discussion

### 1. Résultats :

#### 1.1. Composés phénoliques et flavonoïdes :

Les teneurs en composés phénoliques ont été estimées à 14.53 mgEAG/ml d'extrait et à environ 145.30 mgEAG/g MS de *Mentha piperita*.L.

Quant aux flavonoïdes les taux trouvés sont relativement faible dans l'extrait hydro-méthanolique 0.43 mgEQ/ml d'extrait et la plante elle-même objet de l'étude 4.28 mgEQ/g MS (Tableau 2).

**Tableau 2** . Teneurs en principaux composés phénoliques et flavonoïdes de l'extrait hydro-méthanolique et de la matière végétale de *Mentha piperita*.L

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

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

#### 1.2. Qualité des laits fermentés type yaourt étuvé additionnés de poly-phénols de Menthe poivrée

Au premier jour, à la fin de la période de fermentation, en fonction des taux d'incorporation de 0, à 2 et à 4% d'extrait hydrométhanolique de *Mentha piperita*.L., le pH semble augmenter significativement ( $p < 0.01$ ) de 4.08, à 4.11 et à 4.14 ; alors que l'acidité à tendance à diminuer remarquablement ( $p < 0.01$ ) de 90.33 à 86 et à 82 °D, respectivement dans les laits fermentés expérimentaux.

Après 4 heures de fermentation, le nombre de *Streptococcus thermophilus* est bien supérieur à celui des *Lactobacillus bulgaticus* dans les produits finis expérimentaux ;  $271 \cdot 10^5$

vs  $256 \cdot 10^5$  UFC/ml. Par ailleurs la prolifération de ces germes s'avère décroître respectivement de  $292 \cdot 10^5$ , à  $288 \cdot 10^5$  et à  $234 \cdot 10^5$  UFC/ml et de  $286 \cdot 10^5$ , à  $264 \cdot 10^5$  et à  $220 \cdot 10^5$  UFC/ml avec la hausse de (0, à 2 et à 4%) de la quantité d'extrait bioactif de menthe ajoutée dans le yaourt.

Par ailleurs durant cette phase, les critères de viscosité, d'adhésivité et de cohésivité ont été notablement ( $p < 0.01$ ) altérés avec l'augmentation des concentrations de 0 à 4% d'extrait de menthe dans les produits ; soit des variations de  $34.28$  à  $22.47 \text{ m}^2/\text{s}$ , de  $15.5$  à  $26.5$  et de  $15$  à  $28$  somme des rangs, successivement.

Aussi, durant la fermentation, comparativement au yaourt témoin, la fraîcheur des laits fermentés a été nettement détériorée avec l'ajout d'extrait de la plante notamment à un taux sévère de 4% ;  $14.5$  vs  $26.5$ , somme des rangs.

Pendant la période de post acidification, au 21<sup>ème</sup> jour de conservation au froid à  $4^\circ\text{C}$ , il apparaît que l'acidité des essais expérimentaux est inversement proportionnelle ( $p < 0.01$ ) avec l'augmentation du taux d'extrait de 0 à 4% de la plante ; soit une chute des valeurs de  $104.66$  à  $81.6$ .

En outre, au cours de cette dernière période, en fonction des taux d'extrait de menthe incorporés, le nombre de germes *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaticus* a diminué significativement ( $p < 0.01$ ) de  $200 \cdot 10^5$  à  $84 \cdot 10^5$  UFC/ml et de  $311 \cdot 10^5$  à  $74 \cdot 10^5$  UFC/ml dans les laits fermentés expérimentaux. Toutefois, le nombre de *Lactobacillus bulgaticus* semble relativement faible à celui des *Streptococcus thermophilus* dans les produits.

Apparemment, durant le stockage, au 21<sup>ème</sup> jour, comparativement au yaourt témoin sans additif, la qualité rhéologique des laits fermentés est nettement altérée lors d'ajout d'extrait de menthe particulièrement à un taux élevé de 4% ;  $68.11$  vs  $10.22 \text{ m}^2/\text{s}$  pour la

viscosité, 15.5 vs 28.5 somme des rangs pour l'adhésivité et 14.5 vs 29 somme des rangs pour la cohésivité.

Quant à la fraîcheur, les panelistes ont mieux apprécié le yaourt témoin (16 somme des rangs) ; alors que les essais expérimentaux préparés à 2 et 4% ont enregistré de médiocres résultats (18 vs 27 somme des rangs) (**Tableau 3**).

(**Tableau 3**) . Effet d'ajout de l'extrait hydro-méthanolique de *Mentha piperita*.L sur la qualité d'un yaourt étuvé au cours de la conservation.

Périodes	Mesures	Taux d'incorporation de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Mentha piperita</i> .L		
		0%	2%	4%
1 <sup>er</sup> jour (Fin de fermentation)	pH	4.08 <sup>c</sup>	4.11 <sup>b</sup>	4.14 <sup>bc</sup>
		±	±	±
	Acidité	0.025	0.006	0.01
		±	±	±
	<i>Streptococcus thermophilus</i> (N10 <sup>5</sup> UFC/ml)	90.33 <sup>a</sup>	86 <sup>ab</sup>	82 <sup>bc</sup>
		±	±	±
	<i>Lactobacillus bulgaticus</i> (N10 <sup>5</sup> UFC/ml)	1.13	1.5	0
		±	±	±
	Viscosité (m <sup>2</sup> /s)	292 <sup>a</sup>	288 <sup>a</sup>	234 <sup>a</sup>
		±	±	±
Adhésivité	34.28 <sup>a</sup>	29.95 <sup>b</sup>	22.467 <sup>b</sup>	
	±	±	±	
Cohésivité	0.571	1.713	0.787	
	±	±	±	
Fraicheur	15.5 <sup>d</sup>	20 <sup>c</sup>	26.5 <sup>b</sup>	
	±	±	±	
21 jour de conservation	pH	15 <sup>c</sup>	19 <sup>c</sup>	28 <sup>b</sup>
		±	±	±
	Acidité	14.5 <sup>d</sup>	20.5 <sup>c</sup>	26.5 <sup>b</sup>
		±	±	±
	<i>Streptococcus thermophilus</i> (N10 <sup>5</sup> UFC/ml)	4.55 <sup>a</sup>	4.38 <sup>b</sup>	4.58 <sup>a</sup>
		±	±	±
	<i>Lactobacillus bulgaticus</i> (N10 <sup>5</sup> UFC/ml)	0.124	0.032	0.029
		±	±	±
	Viscosité (m <sup>2</sup> /s)	104.66 <sup>a</sup>	94 <sup>b</sup>	81.6 <sup>c</sup>
		±	±	±
Adhésivité (Somme des rangs)	4.6	5.2	3.5	
	±	±	±	
Cohésivité (Somme des rangs)	200 <sup>a</sup>	104 <sup>b</sup>	84 <sup>b</sup>	
	±	±	±	
Fraicheur (Somme des rangs)	311 <sup>a</sup>	294 <sup>a</sup>	74 <sup>b</sup>	
	±	±	±	
Adhésivité (Somme des rangs)	68,107 <sup>a</sup>	64,339 <sup>a</sup>	10,221 <sup>b</sup>	
	±	±	±	
Cohésivité (Somme des rangs)	13,565	22,666	2,195	
	±	±	±	
Fraicheur (Somme des rangs)	15.5 <sup>c</sup>	17 <sup>c</sup>	28.5 <sup>b</sup>	
	±	±	±	
Cohésivité (Somme des rangs)	14.5 <sup>c</sup>	18 <sup>c</sup>	29 <sup>b</sup>	
	±	±	±	
Fraicheur (Somme des rangs)	16 <sup>c</sup>	18 <sup>c</sup>	27 <sup>b</sup>	
	±	±	±	

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondants ou bien en somme des rangs, avec un nombre de répétitions n égal à 03 ; N : nombre de colonies ; UFC : Unité formant colonie ; °D : degré Dornic ; a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

## 2- Discussion :

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

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

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

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

La Menthe poivrée (*Mentha piperita L*) peut être donc une source de plusieurs composés phénoliques bioactifs, très intéressants pour la santé humaine et constitués surtout de flavonoïdes dont : hétéroside d'apégénine, diosmétine, lutéoline, éridictiol, flavone polyméthoxilé...etc. (**François, 2012**).

Néanmoins, l'acidité, la viscosité, la croissance des germes des produits supplémentés de poly-phénols de *Mentha piperita L* semblent être relativement ( $p < 0.01$ ) altérées comparativement au yaourt standard qui s'est démarqué avec de meilleurs résultats.

*St. thermophilus* *Lb. bulgaricus* se développent en association (dite protocoopération appelée autrefois symbiose) dans des cultures mixtes (**Mahaut et al., 2000**). Le rôle principal de *St. thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés, augmente aussi la

viscosité du lait par production de polysaccharides (EPS), composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de marmose (Schmidt *et al.*, 1994 ; Bergamaier, 2002). Il est couramment admis aussi que *Lb. bulgaricus* possède une aptitude à fermenté davantage le lactose lors de la conservation des yaourts au froid positif à 4 °C et à produire des EPS (exopolysaccharides) composés de galactose, glucose et de rhamnose a des rapports de 4/ 1/ 1, respectivement (Tamime, 1999).

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

Apparemment, l'acidité des laits fermentés préparés à l'extrait de menthe est nettement plus faible que le témoin. Cette diminution de l'acidité est certainement en relation avec la concentration en composées phénoliques a fort pouvoir antimicrobien dans l'extrait de menthe ajouté au yaourt ; ce qui a affecté sans doute l'activité fermentaire des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* responsables de la fermentation du lactose du milieu en acide lactique (Loones, 1989).

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

En effet les *Streptococcus thermophilus* ramenés à de fortes doses dans le lait peuvent au cours de leurs croissances sécréter dans le milieu d'avantage d'exo polysaccharides(EPS) ; sorte de fibres polysaccharidiques composés du galactose, glucose ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose capables d'augmenter la viscosité du milieu (Bergamaier, 2002). Ces exo polysaccharides produits a de faible quantités chez les *Lactobacillus bulgaricus* durant la période de poste-acidification sont des composés glucidiques constitués particulièrement de  $\beta$  glucane et de  $\beta$  fructane capables de se lier aux

caséines des laits avec comme conséquence un léger accroissement de la viscosité des yaourts (*Cerniver et al., 1986*).

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

Durant la conservation, la viscosité des produits notamment à des taux sévères d'extrait de 4% de menthe est toutefois diminuée relativement, Cette baisse de la viscosité constatée dans les échantillons expérimentaux par comparaison au témoin résulte assurément de l'action inhibitrice antimicrobienne qu'a exercé vis-à-vis des souches spécifiques du yaourt les composés phénoliques contenus dans l'extrait de *Mentha piperita* ajouté comme additif naturel à différentes concentrations dans les laits fermentés et qui ont provoqué à des doses surtout élevées de 4% d'incorporations une baisse de la production d'exopolysaccharides (EPS) et de la viscosité du milieu en conséquence d'une moindre activité microbienne des *Streptococcus thermophilus* et des *Lactobacillus bulgaricus*. Ceci a été bien confirmé par les panelistes lors des tests de dégustation effectués au cours de la période de post acidification qui ont bien noté que l'adhésivité et la cohésivité sont nettement ( $p < 0.01$ ) altérés en fonction de la quantité d'extrait de menthe poivrée ajouté aux laits fermentés expérimentaux .

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

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

La croissance des bactéries lactiques été aussi relativement faible dans le cas des yaourts additionnés de l'extrait hydrométhanolique de menthe. Cette sensibilité est due certainement à la concentration en composées phénoliques dans l'extrait ajouté aux produits surtout à une forte concentration de 4 % d'extrait de menthe. Les composés phénoliques, notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leurs toxicités et leur pouvoir antimicrobien vis-à-vis des microorganismes à Gram (+) (**Andamis ; 2001**)

Enfin, il s'avère possible d'incorporer l'extrait hydrométhanolique de *Mentha piperita L* riche en composés phénoliques surtout à de faibles taux de 2 et 4 % et produire un lait fermenté fonctionnel de type yaourt étuvé pouvant répondre au souhait du consommateur Algérien à la recherche sans cesse croissante de nouveaux produits naturels a vertus bénéfiques pour la santé.

## **Conclusion Générale :**

### Conclusion :

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

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

Cependant, il apparaît , au cours des deux périodes d'essais pratiques de fermentation et de post acidification que l'ajout de l'extrait pur même à de faibles doses de 0 , 2et 4 % affecte le nombre des germes spécifiques du yaourt qui a tendance à diminuer graduellement en fonctions des concentrations de la plant ajoutées sans toutefois dépasser la normale de 10<sup>7</sup> germes vivants /ml.

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

Néanmoins, il semble possible d'incorporer l'extrait de *Mentha pipéritala* jusqu'à un seuil de 2% sans que la qualité des produits fermentés ne soit affectée. L'échantillon préparé à 2% à été même très bien apprécié par les dégustateurs au plan de l'odeur par rapport au yaourt témoin.

Enfin, nos résultats montrent que l'extrait hydrométhanolique de *Mentha piperita L* étudié utilisée à une faible dose peut être considéré comme un agent conservateur naturel très promoteur pour la production d'un nouveau yaourt santé alicament riche en composés bioactifs bénéfiques pour la santé.

En perspective, il est important de procéder à un screening du profil des principaux composés bioactifs contenus dans les extraits de la menthe poivrée objet de l'étude tout en

essayant d'isoler les principales molécules bénéfiques pour la santé et n'exerçant aucun effet antimicrobiens vis-à-vis des germes spécifiques du yaourt.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques :

- 1) **Alilou H., Hassani L. M. I., Barka N., Bencharki B., (2014).** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolens* subsp. *odorus.*, Afrique Science Vol 10(3) 328,p.
- 2) **Almas, K. and N.H. Al-Bagieh., (1999).** ALMAS, Khalid et AL-BAGIEH, N. H. The antimicrobial effects of bark and pulp extracts of miswak, *Salvadora persica*. *Biomedical letters*, vol. 60, no 235, p. 71-75.
- 3) **Almas, K., (2001).** The Antimicrobial effects of seven different types of asian chewing sticks. *Odonto-Stomatologie Tropicale.*, 96: 17-20..
- 4) **Amellal, R, (2000).** La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. Institut National d'Agronomie El- Harrache. Option méditerranéenne. Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000 Sér.B N° 14.Pp. 230-232.
- 5) **Amellal-Chibane, H., (2008).** Aptitude technologiques de quelques variétés communes de dattes : formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse de doctorat en technologies alimentaires. Faculté des sciences de l'ingénieur. Université BOUMERDES. Pp. 164
- 6) **Andamis et al,(2001)** .OVONO, Armel Andami et ROUGIREL, A. Etude d'une équation de diffusion gouvernée par la portée des interactions non locales.
- 7) **ANONYME, (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : Alimentation et nutrition, 28.
- 8) **Bahorun, T , (1997).** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* (Vol. 83).
- 9) **Bergamaier, D, (2002).** Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *Lb. rhamnosus* rw 9595m d'un milieu à base de perméat de lactosérum. Thèse doctorat, université de Laval, Canada. Pp149.
- 10) **Bourgeois, C. M. and J.Y. Leveau ., (1980).** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Vol 3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier : Tech. Et Doc., pp : 331.
- 11) **Bruneton J, (2002)** . « phytothérapie- les données de l'évaluation » 432P. Ed. Tec et Doc.
- 12) **Bruneton J, (2009)** .Menthe in pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4<sup>ème</sup> ed, Tec &Doc, Paris, p278, 279.
- 13) **Bruneton J, (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier. Paris, 199-388.
- 14) **Chaovanalikit, A. and R.E. Wrolstad., (2014).** Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *J. Food Sci.*, 69: 67-72.
- 15) **Charles DJ, Jolly RJ and Simonj JE., (1990).** Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. *Phytochemistry*, 1990, vol. 29, no 9, p. 2837-2840.
- 16) **COURTIN P., MONNET M. and RUL F., (2002).** Cell- wall proteinases PrtS and Prt B have a different role in streptococcus thermophilus / *Lactobacillus bulgaricus* mixed cultures in milk. *Microbiology*, 148, 3413 -3421.

- 17) **DALGLEISH D. G., (1990).** Denaturation and aggregation of serum proteins and caseins in the heated milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1995-1999.
- 18) **Declachaux et Niestlé.,(2013).** 500 plantes comestibles « Histoire. Botanique. Alimentation ». 260-261. Donovan S. M., Shamir R. (2014). Introduction to the yogurt in nutrition initiative and
- 19) **DELLAGLIO F., DE ROSSART H., TORRIANIS S., CURK M. et JANSSENS D., (1994)** .Caractérisation générale des bactéries lactiques. Tec&Doc (Eds), Lorica, 1, 25-116.
- 20) **Denis, F., E. Bingen, C. Martin, M.C. Ploy and R. Quentin., (2011).** *Bacteriologie Médicale*. 2nd Edn., Elsevier Masson, Paris, ISBN: 9782294725944, Pages: 640.
- 21) **Dohou N., Tahrouch S., Hassani L. M. I., Badoc A., Gmira N., Yamni K., ( 2003).** Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaea lythroïdes*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 2003, vol. 142, no 1/4, p. 61-78.
- 22) **Doleyres, Y, (2003).** Production en continue du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse Doctorat. Université de Laval. Canada. Pp148.
- 23) **Donovan et Shamir., ( 2014)** .Introduction to the yogurt in nutrition initiative and the First Global Summit on the health effects of yogurt. *The American journal of clinical nutrition*, Vol.99(5)
- 24) **Eberhad A et Lobstien. , (2005).** Plantes aromatique ; épice, aromates, condiments et huile essentielles. Pp : 405.
- 25) **François C, (2012).** Les plantes et leurs noms « Histoire insolites ». 152
- 26) **George F.W. Haenlein,** pp. 338-356.
- 27) **Gosta, B, (1995).** Manuel de transformation du lait. Ed Etat pack processing systems AB. Sweden..
- 28) **Guignard, J. L, ( 2000).** Biochimie végétale. Dunod, Paris., pp: 274.
- 29) **Guignard J ,(1996)** .Biochimie végétale, édition ; la voisier, Paris. Pp : 175-192. human nutrition: production, composition and health. Editor(s): Young W. Park,
- 30) **Gurib-Fakim A., Gueho J., ( 1997).** The medicinal plants of Mauritius—part 1. *International journal of pharmacognosy*, 1997, vol. 35, no 4, p. 237-254.
- 31) **Guyot ,(1992 )** .Guyot, J. L. (1992). *Hydrogéochimie des fleuves de l'Amazonie bolivienne* (Doctoral dissertation, Bordeaux 1).
- 32) **HASSAN A.N., FRANK J.F., FARMER M.L., SCHMIDT K.A. and SHALABI S.A., (1995)** .Observation of encapsulated lactic acid bacteria using confocal scanning laser microscopy. *Journal of Dairy Science*, 78, 2624-2628
- 33) **Hagerman,( 2002).** Hagerman, A. E. (2002). Hydrolyzable tannin structural chemistry. *Tannin handbook*, 1-8.
- 34) **homogenization-treated milk.** *Food hydrocolloids*, 23: 82-91.
- 35) **Iserin P., Michel masson et jean –pierrestellini., ( 2007)** .La rousse des plantes médicinales, dition : Larousse. Pp : 7-72-116.
- 36) **J.O.R.A. N°86 du 18 Novembre,( 1998).** (Article 2 Page 22) Arrêté interministériel du 16 jourmadaethania 1419 correspondant au 7 octobre 1998 relatif aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leurs mises à la consommation.

- 37) **Jean –Christophe Tardivon&Chadouli Si-Mohamed., (2012).** Les plantes aromatiques et médicinales. 6-7 Kim SH, Oh S (2013). Fermented milk and yogurt. In milk and dairy products in
- 38) **Jeantet, R., Croguennes, T., Mahaut, M., Schuck, P., Brulé, G., (2008).** Les produits laitiers. Ed Techniques et Documentations. Lavoisier-Paris .Pp185.
- 39) **Jerez, M., M. Pinelo, J. Sineiro and M.J. Nunez.,(2006).** *Influence of extraction conditions on phenolic yields from pine bark: Assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis.* *Food Chem., 94: 406-414.*
- 40) **KESSLER H.G, (1998).** The structure of fermented milk products as influenced by technology and composition. Texture of fermented milk products and dairy dessert. Proceedings of the IDF .Symposium. Vicenza, Italy, 5-6 May 1997, 93-105
- 41) **Kra, A.K.M., (2001).** Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. *Thèse de doctorat 3ème cycle UFR Biosciences.* Univ. Abidjan., pp: 126. l'Ingénieur (F 6315). Paris- France :
- 42) **Kosalec et al.,( 2004).** Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., & Vladimir-Knezevic, S. A. N. D. A. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *ACTA PHARMACEUTICA-ZAGREB-*, Vol. 54(1), 65-72.
- 43) **Lamontagne, M,(2002).** *Produits laitiers fermentés.* In Science et technologie du lait
- 44) **LAMOUREUX L, (2000).** Exploitation de l'activité  $\beta$ - galactosidase de culture de
- 45) **LARPENT J.P, (1989).** Microbiologie alimentaire. Ed, techniques et documentation Lavoisier. Paris ,46, 1-117.
- 46) **Lebham, (2005).** Thèse au laboratoire d'Eco physique et de biotechnologie des halophytes et des algues au sien de l'institut Universitaire Européens de la Mer (IVEM), Universitaire de Bretagne Occidentale (UBO).
- 47) **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.*
- 48) **Loones , A,(1994).** Laites fermentés par les bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques. Vol2. De Roissart, H et Luquet, F.M(Ed) ; Lorica , Uriage, 135-154..
- 49) **Lucas et al.,( 2007).** Rouhani, H., Jalili, M., Araabi, B. N., Eppler, W., & Lucas, C. (2007). Brain emotional learning based intelligent controller applied to neurofuzzy model of micro-heat exchanger. *Expert Systems with Applications, 32(3), 911-918.*
- 50) **Lucida GM and Wallace JM., (1998).** *In: Herbal medicines, A Clinicians Guide,* Pharmaceutical Products Press, New York, London , 85-86.
- 51) **Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V ET Biro L., ( 2003).** The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acts; Biologic Szegedensis 1-4.* Pp: 119-125.
- 52) **Luhata P., Kanangila A. B., Kitawa E. K., Mulungulungu D., Lumbu J. B., Kalonda E., (2008).** Étude chimique de l'espèce *Jacobiniacarneae.*, Université de Lubumbashi.
- 53) **Luquet F.M et Corrieu G., (2005).** Bactéries lactiques et probiotiques. Coll. Science et

- 54) **Luquet, F. M., Carrieu, G., (2005).** Bactéries lactiques et probiotiques. Collection sciences et techniques agroalimentaires, Ed lavoisier tec et Doc, Paris, Pp 307.
- 55) **MAHAUT M., JEANTET R., SCHAK P. et BRUL G.,(2000).** Les produits industriels laitiers. Ed, techniques et documentation, Lavoisier, Paris. 26-40.
- 56) **Makkar H ,(2003):** Effects and of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies tannin-riche feeds, small ruminant research; 49. Pp: 241-256. *Mentha Piperita*.
- 57) **Martin, M, (2004).** Technologie des laits de consommation. Ed. Lait. Candia Direction développement technique. Pp135.
- 58) **MARTY-TEYSSET C. DE LA TORRE F. and GAREL J-R., (2000).** Increased production of hydrogen peroxide by lactobacillus delbruekiisspbulgaricus upon aeration: involvement. Applied and Environmental Microbiology, 66(1), 262-267.
- 59) **Meddleton E etKardasnamic JC., (1993).**The flavonoides Advances in research science 1986. JB Harborne Chapman and Hall, London. Pp: 617- 652.
- 60) **Medic Sanic M., Jasprica I., SmdcicBubalo A ET Mornar A., ( 2004).** Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenol acides, croatica chemical acta. Pp: 361- 366.
- 61) **Meilee et Chen.,( 2004).** Chen, J., Lee, S. M., & Mao, Y. (2004). Protective effect of exopolysaccharide colanic acid of Escherichia coli O157: H7 to osmotic and oxidative stress. *International journal of food microbiology*, Vol . 93(3), 281-286.
- 62) **Modif, (2009) :** Pharmacopée européenne, 6ème éd, 2008.
- 63) **Modler H.W.,. (1985).** Functional properties of nonfat dairy ingredients. A review. Modification of products containing casein. Journal of Dairy Science, 68, 2195-2205
- 64) **Moroh, J.L.A., C. Bahi, K. Dje, Y.G. Loukou and F. Guede-guina.,( 2008).** *Study of the antibacterial activity of Morindamorindoides(Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of Escherichia coli strains. Bulletin Societe Royale des Sciences Liege, 77: 44-61.*
- 65) **Ngounou et al,(2003).** Ngounou, C. J., Ndjouenkeu, R., Mbofung, C. M. F., & Noubi, L. (2003). Mise en evidence de la biodisponibilité du calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé de zébu. *Journal of food Engineering*, 57(3), 301-304.
- 66) **Nongonierma, A.B., Springett, M., Le Quéré, J.L., Cayot, P., et Voilley , (2006).** Flavour release at gas/matrix interfases of stirred yoghurt models. *International Dairy Journal*, 16,102-110.
- 67) **NOZNICK P.P,(1982).** Dairy Ingredients in food. Bulletin de la Fédération Internationale de Laiterie, 142, 60-66.
- 68) **Olivier G, ( 2007).** Caractéristique et mode d'action des antibiotiques
- 69) **Orani GP, Anderson JW, Sant'sAmbrogio G and Sant'sAmbrogio FB. ( 1991).** Upper airway cooling and l-menthol reduce ventilation in the guinea pig, *J ApplPhysiol*, 70, 2080-2086
- 70) **Ozer, B.H., Robinson, R.K., Grandison, A.S., Bell A.E, (1998).** Gelation properties of milk concentrated by different techniques. *International Dairy Journal*, 8, 793-799.
- 71) **Paci kora, E. (2004).** Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brasse aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception et de la texture et de la saveur .Thèse de doctorat présentée à l'Institut National Agronomique. Paris. Grignon.Pp205.
- 72) **Paci kora, E, (2004).** Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brasse aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception et de la texture et de la

flaveur .Thèse de doctorat présentée à l'Institut National Agronomique. Paris. Grignon.Pp205.

- 73) Patrick, (1992).** VARIABILITÉ DE LA COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELLES ET INTÉRÊT DE LA NOTION DE CHÉMOTYPE EN AROMATHÉRAPIE .thèse de doctorat EN PHARMACIE. Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie
- 74) Pernoud, S., Schneid, C., Breton, S, (2005).** Application des bactéries lactiques dans les produits frais et effet probiotiques. In bactéries lactiques et probiotiques .CoordLuquet F.M., Corrieug., Ed Tec et Doc, pp :235-260 .306p.
- 75) Prescott, L.M., J.P. Harley and D.A. Klein, (2003).** Microbiologie. De Boeck-Supérieur., pp: 1137. propriétés duringastorage of set and stirred yoghurts made from ultra-high pressure
- 76) Ranarivelo Y, (2004).** Les Grandes familles Chimiques de Produits Naturels, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.
- 77) Rizk A. M, ( 1982).** Constituants of plants growing in Qatar, *Fitoterapia*, 52 (2), p 35-42.
- 78) Rock E, (2003) .** Stress oxydant, micronutriments et sante, INRA. CRNH, Unité des maladies métaboliques et micronutriments, 6312 genéschampanelle.
- 79) ROUSSEAU M, (2005).** La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA. 9 pages.
- 80) Roussel et al,( 1994)** Roussel, M. F. (1994). Signal transduction by the macrophage-colony-stimulating factor receptor (CSF-1R). *Journal of Cell Science*, 1994(Supplement 18), 105-108.
- 81) Saksena, V. R., O'reilly, J., & Kokotovic, P. V.,(1984).** Singular perturbations and time-scale methods in control theory: survey 1976–1983. *Automatica*, 20(3), 273-293.
- 82) Saliba, Z., Butera, G., Bonnet, D., Bonhoeffer, P., Villain, E., Kachaner, J., ... & Iserin, L, (2001).** Quality of life and perceived health status in surviving adults with univentricular heart. *Heart*,86(1), 69-73.
- 83) SCHKODA A, STUMPH A. and KESSLER H.G, (1998).** Stability of texture of fermented milk products in relation to composition. Texture of fermented milk products and dairy dessert. Proceedings of the IDF Symposium. Vicenza, Italy, 5-6 May 1997, 115-121.
- 84) Schmid J, (2010).** use of the hirsuta with emphasis on hand papermaking, economic botany. 37, pp: 310-321.
- 85) SCHMIDT J.L., TOURNEUR C. et LENOIR J, (1994).** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in « bactéries lactiques ». Vol II. DE ROISSART H. et LUQUET F.M.Ed. Lorica, paris. 37- 46.
- 86) Serra, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., Ferragut, V, (2009).** Evaluation of physical
- 87) Singh G, Kapoor IPS and Pandey SK,( 1998).** Studies on essential oils, Part 14. Natural preservatives for butter, *J Med Arom Plant Sci*, 20, 735-739.
- 88) SINGH SUDHEER K., AHMED SYED U. and ASHOK P, (2006).** Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge :woodhead Publishing.
- 89) Sodini, I. et Beal, C, (2012).** Fabrication des yaourts et laits fermentés. Techniques de
- 90) 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.
- 91) Tabak, S., Bensoltane, A, (2011).** L'activité antagoniste des bactéries lactiques

- 92) TAMIME A.Y. and DEETH H.C, (1980).** Yogurt: technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, 43, 12, 939-977.
- 93) TAMIME A.Y. and ROBINSON R.K, (1999).** Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge : woodhead Publishing.-
- 94) Van marle et al,(1998)** Lamme, E. N., van Leeuwen, R. T., Jonker, A., van Marle, J., & Middelkoop, E. (1998). Living skin substitutes: survival and function of fibroblasts seeded in a dermal substitute in experimental wounds. *Journal of investigative dermatology*,111(6), 989-995.
- 95) Vignola, C.I, (2002).** Science et technologie du lait : transformation du lait. Ed Lavoisier, Paris, Pp600
- 96) Vivek, S. D., Beatty, S. E., & Morgan, R. M, (2012).** Customer engagement: Exploring customer relationships beyond purchase. *Journal of marketing theory and practice*, 20(2), 122-146.
- 97) Wei, T. T., Marthandan, G., Chong, A. Y. L., Ooi, K. B., & Arumugam, S, (2009).** What drives Malaysian m-commerce adoption? An empirical analysis. *Industrial management & data systems*.
- 98) Zrihi, G.N., A.K.M. Kra and D.T. Etien, ( 2007).** Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*. *Revue Méd. Pharm. Afr.*, 20: 9-17.
- 99) ZYBAK O, (2000).**FICHE TECHNIQUE Huile Essentielle menthe poivree

# **Annexes**

**Annexes :**

**Annexe 1 : Analyses physico-chimiques et microbiologiques.**

**1. Analyses physico-chimiques :**

**1.1. Mesure de l'acidité :**

**1.1.1. Réactifs et appareillages :**

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

**1.1.2. Mode opératoire :**

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

**1.1.3. Expression des résultats :**

$$\text{AciditéDornic} = V_{\text{NaOH}} - 10$$

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

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

**1.3. Mesure de la viscosité :**

**1.3.1. Appareillage :**

- Bille de 7g, de 2cm de diamètre et de masse volumique égale à 7784,09 kg.m<sup>-3</sup>
- Tube cylindrique de 18cm de longueur.
- Chronomètre servant à mesurer le temps de chute de la bille.

**1.3.2. Mode opératoire :**

- Introduire la bille de 7g dans le tube cylindrique rempli avec le produit à analyser par

- une chute libre sur une distance constante de 15cm, tout en mesurant le temps par le biais d'un chronomètre.

### 1.3.3. Expression des résultats :

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

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

Donc

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

$\mu$ : viscosité dynamique (kg/m/s)

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

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

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

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

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

$\epsilon_{\text{yaourt}}$ : la masse volumique de yaourt ( $\text{kg.m}^{-3}$ )

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

## Annexes 2 : Analyses microbiologiques :

### a- Composition des principaux milieux de culture :

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

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

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

- Tryptone .....	5,0 g
------------------	-------

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

**b- Dénombrement des *Streptococcus thermophilus* :**

- **Milieu de culture** : M<sub>17</sub>

- **Dilution** : 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>

- **Inoculation** : couler le flacon de M<sub>17</sub> fondu au préalable et refroidi à 45°C dans les boites de Pétri. Après solidification de milieu, prélever aseptiquement 0,25ml de dilution 10<sup>-1</sup> , .. 10<sup>-6</sup> à l'aide d'une micropipette et introduire dans la boite de pétri en le répartissant en surface à l'aide d'un râteau.

- **Incubation** : placer les boites de pétri dans l'incubateur à 37°C pendant 24 à 48 heures.

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

**c- Dénombrement des *Lactobacillus bulgaricus* :**

- **Milieu de culture** : MRS

- **Dilution** : 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>

- **Inoculation** : la même démarche précédente citée par les *Streptococcus thermophilus* est effectuée dans le dénombrement des *Lactobacillus bulgaricus*, mais le milieu sélectif adapté est le MRS « Man Rogasa et Sharpe ».

- **Incubation** : les boites de Pétri retournées sont placées dans l'incubateur à 37°C pendant 48 à 72 heures.

- **Lecture des résultats** : *Lactobacillus bulgaricus* forme des colonies lenticulaires, souvent polylobées de 3mm de diamètre suivant le nombre de colonie présente.