

République Algérienne démocratique et populaire

Université Abdelhamid Ben Badis
Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département d' agronomie

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{lle} BOUHARAOUA Amina et M^{lle} CHEIKH KHeira

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité CONTROLE DE QUALITÉ DES ALIMENTS

THÈME

Effets d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérита* L
(Menthe poivrée) sur la qualité d'un lait fermenté (type yaourt
étuvée.

Soutenue publiquement le .07. 2019

Devant le Jury :

Président	Mme. AIT CHABANE. O	: MCA	U. Mostaganem
Encadreur	M. AIT SAADA.D	: MCA	U. Mostaganem
Examineur	M.BEKADA A.M.A	: Professeur	U.Mostaganem
Invité	Mme. Guemid .C	: Doctorante	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition U. Mostaganem

Année universitaire 2018 / 2019

Remerciements

Nous remercions tout d'abord notre créateur Allah, le plus Grand, le plus Miséricordieux et le tout puissant pour le courage qu'il nous a donné pour mener à terme ce modeste travail.

Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à Monsieur le Dr. Ait SAADA Djamel, qui nous a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans l'encadrement de ce mémoire. Nous avons été très satisfaites de sa qualité exceptionnelle d'un bon enseignant ; merci de nous avoir guidé avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit, veuillez trouver ici toutes les expressions de notre profonde gratitude et nos sentiments de respect. Nous ne pouvons que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.

Nos remerciements sont adressés, également, aux membres de jury d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre profond respect à **Dr. AIT CHABANE OUIZA** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, un grand merci pour tout ce que nous avons appris grâce à vous au cours de nos années de graduation, vous trouverez ici toutes nos expressions respectueuses et notre profonde gratitude.

Nous remercions vivement aussi **M. BEKADA .A .M.A** d'avoir eu l'amabilité de bien vouloir examiner ce travail, mais aussi pour tous ses efforts avec nous ; nous étions tous le temps satisfaites de votre qualité exceptionnelle de bonne enseignante.

Dédicaces

Je dédie ce travail à L'esprit pur de mon très cher père «Omer» qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi et je demande à dieu de bénir son âme et de faire ce travail dans la balance de ses bonnes œuvres.

A ma très chère mère « Yamina » que je ne remercierai jamais assez, pour son soutien moral et matériel, sa compréhension, amour, tendresse, et ses sacrifices. A mes chers frères et a ma très chères sœurs .

A mes chères amies : Fatima Zohra, Rejia, Meriem , Karima, Noor el hoda, Souhayla , Khadija Babadji et à tous ceux que j'aime et qui m'aiment, et ceux qui ont veillé de près ou de loin à l'achèvement de ce travail.

A tous mes frères et mes sœurs de la promotion Master II CQA .

A la fin je dédie très chaleureusement ce mémoire à mon binôme CHIKHE Kheira et sa famille.

AMINA

Dédicace

Je dédier ce travail à tous ceux qui ont sacrifié leur noble existence pour bâtir la mienne, qui par leurs précieux conseils et soutien ont su comment me guider vers la réussite.

*A ma très chère mère « **FATMA** » que je ne remercierai jamais assez, pour son soutien moral et matériel, sa compréhension, amour, tendresse, et ses sacrifices.*

*Ames chers sœurs : **Hasna ; Chahra ; Marwa***

*A toute **ma famille.***

A l'ensemble des professeurs qui m'ont suivi durant toutes ses années d'études.

*Ama collègue **Amina.***

*A mes amis surtout : **Nor el houda ; souhila ; meriem ; karima***

A tous ceux qui ont participé pour aboutir à bon terme ce modeste travail.

Tout le personnel de laboratoire technologie et science alimentaire pour leur précieux aide durant la réalisation de ce travail.

Kheira

Ouaregla
 21 ' 4 #
 Mentha
 Mentha piperita
 107
 4 2
 6
 #IJC 40 20
 100 80 60
 CMB
 1
 MIC = 20 CMB MIC
 CMB = 100 80
 Streptococcus l'hexane#
 Lactobacillus bulgaricus thermophilus
 Mentha piperita
 1

Abstract

This study aims at determining the effect of extracts with hexane of *Menthapiperita* harvested in the wilaya of Ouaregla on the two specific yogurt germs namely *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* and on the quality and the stability (physicochemical, microbiological and organoleptic) a fermented milk type yoghurt parboiled during its storage at 40C for 21 days.

Regarding the physicochemical results, the measured pH values are proportional, with the concentration of *Menthapiperita* extract added to the experimental products. This trend is reversed for the acidity of which net decreases in values are recorded with increasing doses of *Menthapiperita* extract added during the preparation of fermented milks.

Then, for the microbiological results, the number of specific yogurt germs namely *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* appears to meet the standards required for parboiled yoghurt; of 107 live germs / ml.

For organoleptic results, the use of *Menthapiperita* extract at low doses of 2% and 4% as an adjunct to experimental yoghurt did not alter the main organoleptic criteria of the products. However, fermented milks prepared at high doses of peppermint extract of 6% showed poor organoleptic results.

The extraction of the bioactive compounds was carried out from the aerial part of the plant. The extracts obtained were diluted to 20%, 40%, 60%, 80% and 100%. The measurements and controls were carried out in triplicate tests. and concerned the direct contact method, the disk diffusion method, the IJC and the CMB.

With a declining growth rate and inhibition diameters that are becoming increasingly important by increasing the concentration of *Menthapiperita* extract, it has been possible to demonstrate the inhibitory effect of the latter on the germs studied, which is in certain relationship with the concentration of bioactive compounds in the plant of the study.

Moreover, the MIC and CMB of the two strains is obtained with the extract prepared at MIC= 20% for *Streptococcus thermophilus*; MIC = 80% for *Lactobacillus bulgaricus* and CMB = 100% for both strains.

The hexane extract of Peppermint from Ouaregla appears to exert a bactericidal effect on *Streptococcus thermophilus* and bacteriostatic on *Lactobacillus bulgaricus*.

Key words:*Menthapiperita*; *Lactobacillus bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus*; extract; antimicrobialactivity; inhibitoryeffect.

Résumé

Cette étude vise à suivre l'effet de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha piperita* L. (menthe poivrée) sur les germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* et leurs conséquences sur la qualité et la stabilité d'un lait fermenté type yaourt étuvé durant 21 jours de conservation au froid à 4°C. Les composés phénoliques de la plante récoltée à Ouaregla-Algérie ont été extraits par macération dans une solution d'hexane aqueux. L'extrait récupéré suite à une évaporation sous vide du solvant a été ensuite concentré à 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. L'extrait de la plante a été aussi incorporé à des taux de 0, 2, 4, et 6% dans des préparations en triples essais de laits fermentés type yaourt étuvé. Les mesures et contrôles ont concerné. Tests d'inhibitions, analyses physicochimiques et microbiologiques, ainsi qu'un test organoleptique.

Les composés bioactifs de l'extrait à l'hexane aqueux ont dévoilé un effet de type bactériostatique chez *Streptococcus thermophilus* et bactéricide chez *Lactobacillus bulgaricus*.

Globalement, il s'avère que l'augmentation du taux d'incorporation d'extrait de la plante diminue, remarquablement la croissance des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* avec comme conséquence une altération avérée de la qualité physicochimique, microbiologique et organoleptique des laits fermentés.

Toutefois, les produits préparés à 2 et 4% d'extrait ont été très bien appréciés par les panélistes au même titre que le yaourt témoin, sans additif.

Mots clés : *Mentha piperita* L ; extrait ; hexane ; antimicrobien ; yaourt ; conservation ; qualité ; menthe ; poivrée.

Liste des abréviations :

BN : bouillon nutritif

°D : degré dornic

GN : gélose nutritive

Gram- : gram négatif

Gram+ : gram positif

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

Lb : Lactobacillus bulgaricus

NaCl : Chlorure de Sodium

pH : potentiel d'hydrogène

St : Streptococcus thermophilus

T° : température

MH : bouillon Mueller Hinton

FIL : Fédération International du Lait

UFC : unité formant colonie

Liste des figures :

Figure 1. Diagramme de fabrication des yaourts.....	08
Figure 02. Schéma illustrant les interactions de <i>Streptococcus Thermophilus</i> et <i>Lactobacillus Bulgaricus</i> en culture mixte dans le lait.....	15
Figure03. <i>Mentha piperita</i>	16
Figure04. Aspect de <i>Mentha piperita</i>	17
Figure 05. Etape d'extraction des composés bioactifs de <i>Mentha piperita</i> selon le protocole de (Sultana et al., 2009).....	22
Figure 06. Etape de macération et d'évaporation sous vide.....	22
Figure 07. Préparation des différentes solutions expérimentales.....	23
Figure 08. Activation des bactéries lactiques spécifiques du yaourt.....	24
Figure 09. Méthode de contact direct.....	25
Figure 10. Méthode des disques par diffusion sur gélose.....	27
Figure 11. Détermination de CMI.....	28
Figure 12. Détermination de CMB.....	30
Figure 13. Préparation du levain.....	32
Figure 14. Fabrication des laits fermentés.....	33
Figure15. pH mètre.....	34
Figure16. Viscosimètre adapté à la mesure de la viscosité des laits fermentés.....	35
Figure 17. Effetsantimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur les diamètres d'inhibition chez les <i>Streptococcus thermophilus</i> et les <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	39
Figure18. Détermination de la concentration minimale bactéricide des l'extraits à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> chez <i>Lactobacillus bulgaricus</i> et <i>Streptococcus thermophilus</i>	42
Figure19. Détermination des différentes dilutions d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur la croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> et <i>Streptococcus thermophilus</i>	49

Liste des tableaux :

Tableau 01 .Réglementation concernant la qualité d'acide lactique ou le pH dans le yaourt.....	04
Tableau 02 . Composition et propriétés physicochimique du lait de vache.....	06
Tableau 03 . Teneur moyenne du yaourt pour 100g de produit.....	07
Tableau04 .Causes possibles d'homogénéisation inadéquate d'un mélange et incidences sur la qualité du yaourt.....	10
Tableau 5 : Classification botanique de <i>Mentha piperita</i>	18
Tableau 6 .Effets antimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur la croissance des germes du yaourt.....	37
Tableau 7 . Effets antimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur le taux de croissance des germes du yaourt.....	38
Tableau8 .Effets antimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur les diamètres d'inhibition chez le <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	39
Tableau 9 .Effets antimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur le taux d'inhibition chez le <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	40
Tableau 10 .Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur la croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	41
Tableau 11 . Action inhibitrice des extraits à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur la croissance des <i>Lactobacillus bulgaricus</i> et <i>Streptococcus thermophilus</i>	43
Tableau 12 . Effets d'extraits à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur le pH des laits fermentés....	44
Tableau 13 . Effets d'extraits à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur l'acidité des laits fermentés.....	45
Tableau 14 . Effets d'extraits à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur la viscosité des laits fermentés.....	46
Tableau15 . Effet des différentes dilutions d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur la croissance de <i>Streptococusthermophilus</i>	47
Tableau16 . Effet des différentes dilutions d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i> sur la croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	48.
Tableau17 . Variations sensorielle (somme des rangs) du gout acide des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>	50
Tableau18 . Variations sensorielle (somme des rangs) du gout de fraîcheur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>	51

Tableau19. Variations sensorielle (somme des rangs) d'arrière gout des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>	51
Tableau20. Variations sensorielle (somme des rangs) d'adhésivité des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>	52
Tableau21. Variations sensorielle (somme des rangs) du cohésivité des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>	53
Tableau22. Variations sensorielle (somme des rangs) du l'odeur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>	53
Tableau23. Variations sensorielle (somme des rangs) du couleur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>	54

Table des matières :

Remerciement	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction	

Partie 1: Etude bibliographique

Chapitre I : produits laitiers

1. Le lait fermenté.....	01
2. Présentation du yaourt.....	01
2.1. Historique.....	01
2.2. Définition et réglementation.....	02
2.2.1. Dénominations.....	02
2.2.2. Classification du produit.....	02
2.2.3 Type de fermente utilisée.....	03
2.2.4. Quantité des ferments contenue dans le produit fini	03
2.2.5. Viabilité de la flore lactique	03
2.2.6. Ingrédient laitière	03
2.2.7. Ingrédient non laitières	03
2.2.8. Structure et comportement rhéologique des yaourts	04
3.Étude hygiénique	05
4. Matières premières et ingrédients	05
5. Caractéristiques nutritionnelles du yaourt.....	06
6. Diagramme de fabrication d'un yaourt.....	07
6.1. Réception du lait.....	09
6.2. Standardisation du mélange	09

6.3. Homogénéisation.....	09
6.4. Traitement thermique	10
6.5. Fermentation lactique	11
6.6. Conditionnement et stockage	11

Chapitre II : Bactéries spécifiques du yaourt

1-Caractéristiques générales des bactéries spécifiques du yaourt	12
1-1- <i>Streptococcus Thermophilus</i>	12
1-2- <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	12
2-Intérêts et fonctions des bactéries du yaourt	13
2-1 Production d'acide lactique.....	13
2-2 Activité protéolytique.....	13
2-3 Activité aromatique.....	14
2-4Activité texturant.....	14
3-Comportement associatif des deux souches.....	15

Chapitre III : Aspects botaniques et biochimique *MenthaPiperita* L. (Menthe Poivrée)

1-Description Botanique.....	16
1-1- Famille des Lamiacées.....	16
1-2- Espèce <i>Menthapiperita</i> ;;	16
2 - Origine et distribution de la Plante.....	17
3 - Classification botanique.....	18
4- Usage traditionnel de la menthe poivrée.....	18
5- Composition chimique.....	19
6- Propriétés pharmacologiques.....	19
6-1- Effets antioxydants	19
6-2- Effets insecticide.....	19
6-3- Effet antimicrobien.....	20

Partie 2: Méthodologie expérimentale

1-Objectifs	21
2- Région de prélèvement du matériel végétal.....	21
3-Préparation du matériel végétal.....	21
4-Extraction des composés bioactifs	21
5- Préparation des différentes solutions expérimentales.....	23
6. Etude des effets antimicrobiens de l'extrait de <i>Menthapipérta</i>	23
6.1 Activation des inocula microbiens	23
6-2 Méthode de contact direct.....	24
6-3 Méthode des disques par diffusion sur gélose.....	25
6-4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	26
6-5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	29
7-Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi d'extraits de Menthe verte (<i>Menthapipérta L</i>)	
7.1. Protocole expérimental.....	31
7.2 Préparation des levains	31
7.3 Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux	33
8. Mesures et contrôles sur les laits fermentés.....	33
8.1) Paramètres physicochimiques.....	33
8.1.1) Acidité.....	33
8.1.2) pH	34
8.1.3) Viscosité dynamique	34
8.2) Analyses microbiologiques	36
• <i>Streptococcus thermophilus</i>	36
• <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	36
8.3) Test organoleptique.....	36
9. Traitement statistique.....	36

Partie 3 : Résultat et discussion

1 . Résultats.

1.1.Effets inhibiteurs des extraits à l'hexane aqueux de *Menthapipéríta* chez *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

1.1.1. Test de croissance.....	37
1.1.2. Taux de croissance.....	38
1.1.3 Test de diffusion sur disques.....	38
1.1.4. Taux d'inhibition.....	40
1.1.5. Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	41
1.1.7. Type d'inhibition.....	42

1.2. Effets inhibiteurs des extraits à l'hexane aqueux de *Menthapipéríta* sur la qualité d'un lait fermenté (type yaourt étuvé).

1.2.1. Qualité physicochimique.....	43
1.2.1.1. Ph.....	43
1.2.1.2. Acidité.....	44
1.2.1.3. Viscosité.....	45
1.2.2. Qualité microbiologique.....	47
1.2.2.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	47
1.2.2.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	48
1.2.3-Qualité organoleptique.....	50
1.2.3.1. Evaluation sensorielle du goût.....	50
1.2.3.2. Adhésivité et cohésivité.....	52
1.2.3.3. Odeur et couleur.....	53
2.Discussion.....	54
Conclusion	57
Référence bibliographique	58

Annexes

Introduction :

Le yaourt étant d'origine turc avant de connaître une consommation de niveau industriel n'était qu'un simple produit issu d'une fabrication traditionnelle par les crémèries ainsi que les producteurs de lait. C'est à partir du milieu du XXème siècle que les industriels se sont mis à produire en masse des yaourts, diminuant ainsi son côté traditionnel. Aujourd'hui, le yaourt est considéré comme un produit de grande consommation et il est consommé par près de 90% de la population mondiale ; il représente la moitié du marché de l'ultra-frais.

En Algérie, une quantité considérable du lait de transformation est récoltée, elle sert à la fabrication des produits laitiers, comme les fromages, les yaourts et les laits fermentés ; mais une meilleure connaissance des bactéries lactiques permettrait de mieux améliorer ces produits.

Les bactéries lactiques qui sont au cœur de ce résultat, sont largement impliquées dans la fabrication de produits laitiers fermentés ; tel le yaourt, qui est obtenu par l'action des deux bactéries spécifiques à savoir : *Streptococcus termophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* qui doivent être ensemencées simultanément et se trouveres vivantes dans le produit fini ; à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme, à la date limite de consommation.

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 un dessert de part le monde, car il convient à toutes les tranches d'âge et même chez les sujets intolérants au lait.

De plus, les bactéries lactiques jouent également un rôle essentiel dans la conservation et l'innocuité de ces aliments, par la production des acides organiques et d'autres composés antimicrobiens ; comme les bactériocines qui inhibent la croissance des germes pathogènes ou de contamination.

Ces effets antibactériens nous ont conduit à poser la question suivante : « Est ce que l'utilisation des extraits de menthe comme adjuvant dans les produits lactière (production de yaourt par exemple) peuvent avoir un effet sur la croissance des ferments lactiques tels,

que les *Streptococcus thermophilus* et les *Lactobacillus bulgaricus* qui présentent des intérêts variés (industriels et nutritionnels) » ?

Nous nous sommes proposé donc dans cette étude de suivre le comportement in vitro de ces deux souches de levains lactiques spécifiques du yaourt vis-à-vis des inhibiteurs de croissance (ou composés bioactifs) de la menthe poivrée extraits par la méthode de macération de la matière végétale de la plante dans une solution aqueuse d'hexane. La seconde étude expérimentale vise à connaître l'impact de l'ajout de l'extrait à l'hexane de cette plante sur l'amélioration de la qualité et la stabilité d'un lait fermenté type yaourt étuvé.

Le manuscrit objet de l'étude comporte trois parties :

- Une première partie bibliographique trait sur le yaourt, les bactéries lactiques, et la menthe poivrée.
- Une seconde partie fait mention d'une description du matériel et des méthodes appliquées dans l'approche expérimentale en vue d'étudier les effets antimicrobiens de la menthe poivrée sur les germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* et leurs conséquences sur la qualité et la stabilité d'un yaourt étuvé au cours de la conservation au froid à 4°C.
- 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.

Chapitre I : Produits laitiers

Définition.

Les produits laitiers ou laitages sont le simple lait ou des aliments transformés ou obtenus simplement à partir de laits. Parmi les laits utilisés, le principal est de loin le lait de vache mais on utilise également le lait de chèvre, de brebis, de chamelle, de yak, de bufflonne....

La consommation de produits laitiers a connu une croissance considérable au niveau mondial depuis le début des années 1950.

Les produits laitiers sont essentiellement utilisés dans l'alimentation humaine, soit directement, soit comme ingrédients dans la pâtisserie, la biscuiterie, la charcuterie, en fromagerie, mais aussi dans l'alimentation animale (lait en poudre pour les veaux, lactosérum pour les porcs). Les produits laitiers sont, en général, des denrées périssables et du producteur au consommateur, la chaîne du froid doit être respectée de manière que ces produits restent comestibles. Ces aliments sont en général perçus comme étant bons pour la santé.

La caséine extraite des laits, a aussi des utilisations non alimentaires comme la fabrication de matières plastiques, de papier, de textiles.(Cayot P., Lorient D.1998).

1. Le lait fermenté

On appelle lait fermenté un produit laitier obtenu par la fermentation du lait fabriqué à base de produits obtenus à partir de lait avec ou sans modification de composition, par l'action de micro-organismes appropriés et résultant dans la réduction du pH avec ou sans coagulation (précipitation isoélectrique). Ces levains (micro-organismes) doivent être viables, actifs et abondants dans le produit à la date de durabilité minimale (Cayot P., Lorient D 1998) .

2. Présentation du yaourt

2.1. Historique :

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

Traditionnellement, c'est le yaourt dit -nature- et ferme qui consistait 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. (TAMIME A.Y. and DEETH H.C. (1980).

2.2. Définition et réglementation :

D'après le CODEX ALIMENTARIUS, le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* à partir du lait frais ainsi que du lait pasteurisé avec ou sans addition de substances (lait en poudre, les protéines...) les microorganismes du produit final doivent être viables et abondants.(ANONYME,1995 ; MINISTERE DE L'ECONOMIE ET DES FINANCES,2009).

Selon la fédération international laitière (FIL), le yaourt est obtenu par le développement des seules bactéries lactiques *Lactobacillus delbrueckii* sous espèce *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, qui doivent êtreensemencées simultanément et trouvées vivantes dans le produit à une proportion de 10^7 bactérie/g rapportés à la partie lactée jusqu'à la date limite de consommation..

2.2.1. Dénominations :

Les appellations varient selon les langues, mais les termes les plus utilisés sont <<youghurt>> ou <<yoghurt>> ou <<yaourt>>.

2.2.2. Classification du produit :

Différents types de yaourt sont trouvés sur le marché. Ils sont souvent définis en fonction de leurs teneurs en matière grasse, leur goût, leur texture ou de la technologie de leur fabrication.

- ❖ Selon la teneur en matière grasse il est distingue :
 - ✓ les yaourts maigres (moins de 1% de matière grasse) ;
 - ✓ les yaourts nature (1% de matière grasse) ;
 - ✓ et les yaourts au lait entier gras).
- ❖ Selon leur goût il existe :-
 - ✓ les yaourts nature (sans addition) ;
 - ✓ les yaourts sucrés ;
 - ✓ les yaourts aux fruits, au miel, à la confiture (moins de 30% d'éléments ajoutés) ;
 - ✓ et les yaourts aromatisés (aux arômes naturels ou de synthèse autorisés par la législation).
- ❖ Selon la texture il est :
 - ✓ Les yaourts fermes (coagulés en pot) ;
 - ✓ Les yaourts brassés (coagulés en cuve et brassés pendant la mise en pot) ;
 - ✓ Et les yaourts « à boire » (texture liquide).
- ❖ 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 nature ou aromatisés.
- ✓ **Yaourts brassés** : pour lequel la fermentation a lieu en cuves avant le conditionnement. Ce sont généralement des yaourts brassés nature ou aux fruits.

2.2.3 Types de ferments utilisés :

Selon la FIL et de nombreux Codex Alimentarius: la dénomination (yaourt) nécessite l'utilisation obligatoire et exclusive des deux ferments caractéristiques *Streptococcus thermophilus*(cocci gram positif anaérobie facultative non mobile, résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minute) et *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus*(des bacilles gramme positif immobile a sporulés ,thermophile T° optimale de croissance enivrent 42°).

2.2.4. Quantité des ferments contenue dans le produit fini :

Selon la FIL (fédération international du lait) la quantité de ferments vivants, égale 10⁷ bactérie/g rapportés à la partie lactée jusqu'à la date limite de consommation.

2.2.5. Viabilité de la flore lactique :

Les ferments du yaourt doivent être trouvés vivants pendant toute la durée de vie du produit.

2.2.6. Ingrédient laitière :

Le yaourt est produits à base du lait pasteurisé, congelé, écrémé, concentré, en poudre crème caséine etc.....

2.2.7. Ingrédient non laitiers :

Une multitude d'ingrédients peut être utilisée par exemple de fruits sous différente forme (purée, jus, pulpe, sirop etc..) la quantité des ingrédients non laitiers est fixée par le codex alimentarius, la FIL et la plupart des pays a mois de 30% en poids de 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% certains normes imposent un PH inferieur à 4,5 ou 4,6.(Luquet et Carrieu , (2005).

Tableau 01 .Réglementation concernant la qualité d'acide lactique ou le pH dans le yaourt.

Organisme/pays	Norme
FIL	0,7% en poids exprimé en tant qu'acide
France, Portugal, Italie	Acide lactique libre > 0,7%
Espagne	pH<4.6
Pays-Bas	pH<4.5
Belgique	<0.7% exprimé en acide lactique.
Pologne	3.9< pH <4.6
Tunisie	0,8% d'acide lactique
Etats-Unis	pH > ou = 3,8
Canada	Acidité < 0,9% exprimé en acide lactique

(Luquet et Carrieu, (2005).

- **Matière grasse :**

Il doit être 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.

- **Protéines :**

La teneur en protéines dans le yaourt est environ 2,8% dans le produit fini. Les yaourts et les produits fermentés frais sont identifiés comme étant des aliments bénéfiques pour la santé. Ils sont très demandés et largement consommés. Cela a été confirmé par un enquêtemenu au niveau du centre national interprofessionnel de 'Economie matière (CNIEL) et qui a révélé que la production de yaourts et d'autres laits fermentés ne cessent de croître et elle est parvenue à 1 435 993 tonnes en 2002.(Luquet et Carrieu, (2005).

2.2.8. Structure et comportement rhéologique des yaourts :

La transformation du lait en yaourt s'accompagne de la mise en place d'une structure complexe et d'un changement important des propriétés rhéologique en passant d'un liquide à un gel viscoélastique à destruction non réversible.

Les additifs et les étapes du procédé de fabrication jouent un rôle majeur sur le comportement rhéologique du yaourt qui sera apprécié par le consommateur.(**Lamoureux. ; 2000**).

3.Étude hygiénique :

L'étude hygiénique du yaourt consiste à contrôler la qualité microbiologique des différents échantillons, par la recherche d'un certain nombre de germe selon les normes.

4. Matières premières et ingrédients :

La principale matière première pour la fabrication des yaourts est le lait dont, pour l'essentiel, le lait de vache. Il est constitué d'environ 88% d'eau et 12% de matière sèche contenant de glucides, des protéines, des lipides et des minéraux (**Tamime et Robinson. ; 1999**).

Le (**Tableau 2**) donne la composition de lait de vache. Afin d'augmenter la viscosité apparente et la croissance des yaourts(**Schkoda et al .,2001 ;Van Marle. ; 1998**). la teneur en matière sèche du lait écrémé utilisé est augmentée au préalable jusqu'à 10-12% après concentration (par évaporation ou osmose inverse) ou plus fréquemment, par addition de poudre de lait écrémé ou de protéines de lactosérum on parle alors de lait écrémé fortifié ou enrichi.(**Mahaut et al. ; 2000**).

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, la cellulose, les amidons, et les pectines, les fruits dans les yaourts sont apportés sous forme de préparation de fruits avec ou sans sucre ajoutés, les agents de texture, incorporés dans la préparation de

fruit, participent également à l'amélioration de la texture des yaourts, les fruits les plus consommés sont les fruits rouge et les fruits exotiques. (Vignola et al. ;2002).

Tableau 02. Composition et propriétés physicochimique du lait de vache.

Lait de vache	Composition g/l
Eau	905
Glucides : Lactose	49
Lipides :	35
Matière grasse proprement dite	
Lécithine (phospholipide)	34
Partie insaponifiable (stérol, carotènes, tocophérols)	0,5 0,5
Protides :	34
Caséines	27
Protéines solubles (globuline, albumine)	5,5
Substances azotées non protéiques	1,5
Sels :	9
De l'acide citrique	2
De l'acide phosphorique	2,6
De l'acide chlorhydrique	1,7
Constituants divers :	127
Vitamines, enzymes, gaz dissous	
Extrait sec totale	92

(Vignola et al. ;2002).

5. Caractéristiques nutritionnelles du yaourt :

En plus qu'il est apprécié pour son goût et sa texture, le yaourt est aussi apprécié pour sa valeur nutritionnelle remarquable ; le yaourt est un produit vivant. Les bactéries lactiques spécifiques (*Streptococcus salivarius thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii*

bulgaricus) restent vivantes dans le tube digestif et transforment les constituants du lait fermenté en améliorant leur digestivité. En effet, les laits fermentés y compris le yaourt ont une digestion plus aisée que le lait. Le sucre du lait (le lactose), pour être digéré a besoin d'une enzyme particulière qui est la lactase, tandis que dans les produits laitiers fermentés, ce sucre est décomposé par les microorganismes lors de la fermentation. Le tableau ci- dessous indique la teneur moyenne des différents types de yaourt.

Tableau 03. Teneur moyenne du yaourt pour 100g de produit.

Types de yaourts	Teneurs moyenne pour 100g de produit							
	Protides g	Lipides g	Glucide s g	Calcium mg	Sodium mg	Potass mg	Phosph mg	Valeur énergétique KCalories
Yaourt nature	4.15	1.2	5.2	174	57	201	114	48
Yaourt au lait entier	3.8	3.5	5.3	171	56	206	112	68
Yaourt nature 0%	4.2	Traces	5.4	164	55	180	100	39
Yaourt nature sucré	3.8	1.1	14.5	160	52	195	105	83
Yaourt brassé nature	3.75	1.65	14.5	140	50	190	110	88
Yaourt brassé aux fruits	3.1	2.7	16.5	140	45	180	100	103
Yaourt au lait entier aux fruits	3.6	traces	17.2	140	45	180	100	84

(Cidil et Inra. (2009).

6. Diagramme de fabrication d'un yaourt :

La figure 1 représente le diagramme des principales étapes de la fabrication du yaourt. Les responsables de la qualité doivent établir les caractéristiques recherchées pour chaque produit et de dresser une liste des défauts possibles associés à ces mêmes caractéristiques.

(Vignola. ;2002).

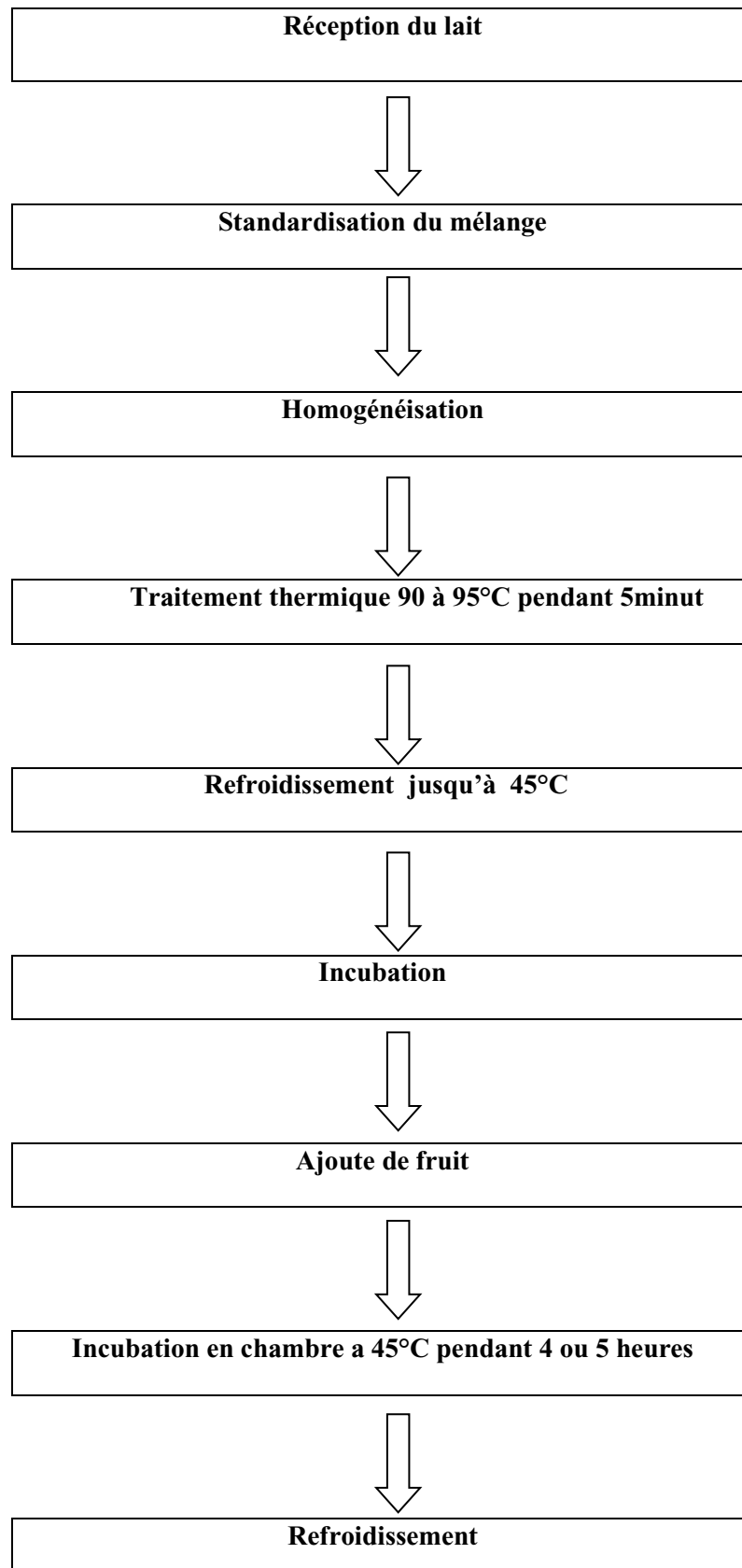


Figure 1. Diagramme de fabrication des yaourts.(Loones, 1994).

6.1. Réception du lait :

Il est généralement reconnu qu'on ne peut faire un produit de qualité avec une matière première de mauvaise qualité. Dans cet esprit, il est primordial de mettre en place dès la réception du lait ou toutes autres matières premières, des méthodes et des procédures rapides et simple permettant de détecter les anomalies et les pertes possibles de contrôle.

6.2. Standardisation du mélange :

Pour bien assimiler l'importance de la standardisation ou de l'enrichissement du lait sur la qualité finale du yaourt, il est nécessaire de donner le rôle de chaque composante du lait, le gras à un effet sur l'onctuosité et la sensation de douceur à la bouche.

- le gras a un effet sur l'onctuosité et la sensation de douceur à la bouche ;
- le lactose est la matière première utilisée pour l'acidification et a un faible pouvoir sucrant, soit quatre fois plus faible que celui de sucre ;
- Les protéines, de par leur coagulation et leur capacité de liaison avec l'eau, agissent sur la texture, particulièrement sur la viscosité, la consistance, l'élasticité et la fermeté.
- et les minéraux, comme des boulons travaillent à la stabilisation de gel.(Vignola. ;2002)

6.3. Homogénéisation :

Elle a principalement des effets sur deux composantes du lait, soit la matière grasse et les protéines. Le tableau 4 donne les causes possibles d'homogénéisation inadéquate d'un mélange et les incidences sur la qualité du yaourt.

Tableau 04. Causes possibles d'homogénéisation inadéquate d'un mélange et les incidences sur la qualité du yaourt.

Causes	incidences sur la qualité du yaourt
<p style="text-align: center;">Pression Trop faible</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Séparation du gras, obtention de deux phases (présence d'une surface très crémeuse). -Présence d'un goût d'eau dans le produit, non uniformité de la couleur. -Produit plus liquide, donc une consistance et une viscosité moindres. -Synérèse pression trop forte.
<p style="text-align: center;">Pression Trop forte</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Diminution dans l'onctuosité. -Viscosité et consistance inappropriées en raison d'un bris des protéines. - produit plus liquide. -Présence de mousse ou de bulles à la surface.

(Farkey et Imafidon, 1995).

6.4. Traitement thermique :

Le lait enrichi, éventuellement sucré, subit un traitement thermique, dont le barème le plus couramment utilisé est de 90-95°C pendant 3 à 5 minutes ce traitement a de multiples effets sur la flore microbienne ainsi que sur les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles du lait.(Mahaut et al , 2000 ;Lamoureux, 2000).

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.

Enfin, il modifie les équilibres salins, en entraînant une augmentation de la taille des micelles de caséines, de leur stabilité et de la qualité d'eau liée (Mahaut et al, 2000).

Au niveau rhéologique, ces modifications se traduisent par une amélioration après fermentation de la fermeté des gels, (Kalab et al, 1976 ;Mottar et al , 1989)

De plus, le traitement thermique entraîne une production plus importante d'acétaldéhyde, le composé responsable de l'arôme dans le yaourt (Singh ;1983).

6.5. Fermentation lactique :

Le lait enrichi est refroidi à la température de fermentation 40 à 45°C. cette température correspond à l'optimum de développement symbiotique des bactéries lactiques (Loones ; 1994). L'incorporation de ces derniers se fait à un taux assez élevé, variant a 1% à 7%. Pour un ensemencement indirect à partir d'un levain avec ratio de *Streptococcus thermophilus/Lactobacillus bulgaricus* de 1,2 à 2 pour les yaourts nature, et pouvant atteindre 10 pour les yaourts aux fruits (Boudier ,1990 ;Mahaut et al. ;2000).

L'ensemencement direct à partir de bactéries lactiques congelées se fait à des taux de l'ordre de 0,03%. Les deux espèces *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* vivent en symbiose et en synergie. Lors de leur croissance, elles dégradent le lactose en acide lactique, entraînant une baisse de pH et la gélification du milieu avec des modifications structurales irréversibles.

Lorsque le pH atteint une valeur comprise entre 4,7 et 4,3 un refroidissement en deux temps (rapide jusqu'à 25°C, puis plus lent jusqu'à 5°C) est appliqué afin de stopper la fermentation ; en effet, l'activité des bactéries lactiques est limitée pour des températures inférieures à 10°C (Tamime et Robinson, 1999).

6.6. Conditionnement et stockage :

Les yaourts, conditionnés dans les pots en verre ou en plastique, sont stockés en chambres froides à 4°C en passant au préalable dans des tunnels de refroidissement.

A ce stade, ils sont prêts à être consommés, La durée limite de leur consommation est de 28 jours.

Pendant le stockage. Les bactéries lactiques maintiennent une activité réduite, cette évolution est appelée post-acidification, se traduit par une légère baisse de pH ; surtout pendant les 2 premiers jours de stockage.(Luque.t et Carrieu,2005 ; lamoureux , 2000).

Chapitre II : Bactéries spécifiques du yaourt

1- Caractéristiques générales des bactéries spécifiques du yaourt :

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

1-1- *Streptococcus Thermophilus* :

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

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

1-2- *Lactobacillus bulgaricus* :

Lactobacillus bulgaricus est un bacille gram positif, immobile, a sporulé, microaérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chaînettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucres par voie d'Embden Meyerhof. Il est incapable de fermenter les pentoses.

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

Ces deux bactéries lactiques tolèrent de petites quantités d'oxygène. Ceci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le système le plus efficace pour éliminer le peroxyde d'hydrogène est l'utilisation d'une enzyme ; la catalase dont les bactéries lactiques est déficientes.

Ces dernières possèdent plutôt un peroxyde (pseudo-catalyse) qui est moins efficace que la catalase. Comme les bactéries lactiques n'éliminent pas facilement le peroxyde d'hydrogène, elles sont dites micro-aérophiles (Doleyres, 2003).

2-Intérêts et fonctions des bactéries du yaourt :

2-1 Production d'acide lactique :

La production d'acide lactique est une des principales des 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 ($1^{\circ}\text{D} = 0.1\text{g/l}$ d'acide lactique). Elle se situe entre 100 et 130 $^{\circ}\text{D}$ (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 gout distinct et caractéristique, comme il contribue à la saveur et l'aromatisation du yaourt (Tamime et Robinson, 1999 ; Singh et al, 2006).
- Intervient comme inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes indésirables (Leory et al, 2002).

2-2 Activité protéolytique :

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

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

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

2-3 Activité aromatique :

Divers composés volatiles et aromatiques interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt. C'est principalement le lactose qui intervient dans la formation de ces composés dans une fermentation de type hétéro-fermentaire. Parmi ceux-ci, l'acide lactique confère au yaourt son gout acidulé. L'acétaldéhyde, qui provient en grande partie de la thréonine, joue un rôle essentiel dans ces caractéristiques organoleptiques recherchées. La concentration optimale de ce métabolite est estimée à environ 10 ppm. Sa production, due principalement au lactobacille, est augmentée lorsque ce dernier est en association avec le streptocoque qui en élabore de faibles quantités.

L'acétaldéhyde peut provenir du pyruvate, soit par action du pyruvate décarboxylase ou par action du pyruvate déshydrogénase (appelée aussi pyruvate formate lyase). Il peut aussi résulter de la thréonine par l'action de la Thréonine-aldolase.

Le diacétyl contribue à donner un gout délicat qui est dû à la transformation de l'acide citrique, et secondairement, du lactose par certaines souches de streptocoque. D'autres composés (acétone, acéto ne& 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).

Il faut noter que la saveur caractéristique du yaourt, due à la production du diacétyl et de l'acétaldéhyde et qui est recherchée dans les produits type (nature), est en partie masquée dans les yaourts aromatisés.

2-4 Activité texturant :

La texture et l'onctuosité constituent, pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt. Certaines souches bactériennes produisent, à partir du glucose, des polysaccharides qui en forment des filaments et limitent ainsi 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'exo - polysaccharide (EPS) qui selon une étude portant sur plusieurs souches serait essentiellement composé de rhamnose, arabinose et rhamnose (Schmidt et al, 1994).

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

3-Comportement associatif des deux souches :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus bulgaricus* développent bien en association (appelée proto-coopération) dans des cultures mixtes ayant un intérêt à la fois d'ordre technologique et nutritionnel.

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

La fermentation des sucres en acides lactiques est une caractéristique des bactéries lactiques qui permet de les classer en bactéries homofermentaires ou hétérofermentaire.

Les bactéries lactiques produisent d'autres composés que l'acide lactique tel que l'éthanol, le CO₂ et l'acide formique sont hétérofermentaires (Figure 2). Ainsi le métabolite principal et majoritaire des bactéries lactiques est l'acide lactique (Mahaut et al. 2000).

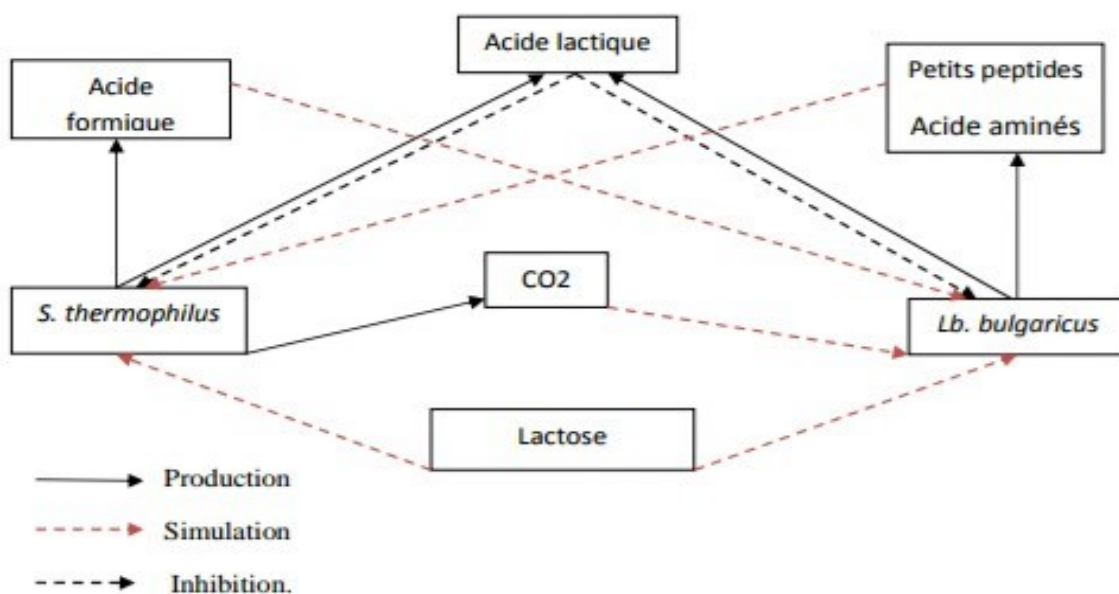


Figure 02. Schéma illustrant les interactions de *Streptococcus Thermophilus* et *Lactobacillus Bulgaricus* en culture mixte dans le lait (Mahaut et al. 2000).

Chapitre III : Aspects botaniques et biochimique de *Mentha Piperita* L. (Menthe Poivrée)

1-Description Botanique :

1-1- Famille des Lamiacées :

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



Figure03. *Mentha piperita*.

1-2- Espèce *Mentha piperita* :

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

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



Figure04. Aspect de *Mentha piperita*.

Noms vernaculaires :

La Menthe poivrée (*Mentha piperita*) est connue sous plusieurs noms vernaculaires :

Arabe: ; **Français:** Menthe anglaise ; Menthe poivrée ; **Anglais:** Peppermint ; **Allemagne:** Pfefferminze ; **Espagnol:** Mentha pimienta ; **Italie:** Menta piperita .

2 - Origine et distribution de la Plante :

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

3 - Classification botanique :

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

Tableau 5 : Classification botanique de *Mentha piperita*.

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

(Bruneton, 1999)

4- Usage traditionnel de la menthe poivrée :

La menthe poivrée est considérée comme l'une des plantes les plus consommées dans le monde et connue par son utilisation comme thé ou tisane.

La menthe poivrée est largement utilisées en thérapeutiques grâce aux nombreuses propriétés. Ses feuilles s'utilisent pour soulager les maux de tête liés à une mauvaise digestion, contre les courbatures, traitent encore les parasites de la peau (acné dermatite, démangeaisons cutanées). Elle est antiseptique, antivirale, antispasmodique, carminative, cholérétique, antibactérienne et antioxydant (Toroglu, 2011).

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

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

5- Composition chimique :

Des extraits réalisés avec différentes parties de la menthe poivrée ont montré la diversité et la richesse en plusieurs constituants tel que : Flavonoïdes (lutéolme, menthoside), Tocophérols, Azulènes, l'acide rosmarinique, des Terpènes, des caroténoïdes, des tanins et huile essentielle (Charles, 2013).

Les huiles essentielles représentent de 1 à 3 % de la masse de la matière sèche de la partie aérienne de la plante, Leur principaux constituants est menthol (29-50%), menthone (16-25%), de l'acétate de menthyle (pas plus de 5%), isomenthone (de 10 à 15%), menthofurane, et pipéritone. Elle contient également de 1 à 5% limonène et cinéole (de 3 à 8%). (Bruneton, 1999).

6- Propriétés pharmacologiques :

6-1- Effets antioxydants :

La capacité antioxydant de la menthe poivrée a été déterminée en utilisant un certain nombre de méthodes de dosage différentes. La capacité d'absorbance radicalaire en oxygène (ORAC) d'une solution aqueuse de feuilles de *Mentha piperita* fraîchement congelées était parmi les plus élevées trouvées dans une analyse des plantes médicinales populaires par (Zheng et Wang, 2001).

6-2- Effets insecticides :

L'effet insecticide de l'huile essentielle extraite de la plante aromatique de *Mentha piperita* L., contre les larves et les adultes d'*Aedes aegypti* (Ae. Aegypti) a été réalisé par Kumar et ses collaborateurs. Les résultats ont montré que l'huile essentielle extraite de *Mentha piperita* possédait une excellente efficacité larvicide contre les vecteurs de la dengue. Les tests biologiques ont montré une valeur de CL50 et CL90 de 111,9 et 295,18 ppm, respectivement après 24 heures d'exposition. La toxicité de l'huile a augmenté de 11,8% quand les larves ont été exposées à de l'huile pendant 48 h. Aussi, les propriétés répulsives d'huile essentielle de *Mentha piperita* est remarquables contre les adultes d'Ae. aegypti. L'application de l'huile conduit à une protection de 100% jusqu'à 150 min (Kumar, 2011).

Dans une autre étude, les extraits à l'hexane et à l'éthanol de huit plantes aromatiques et médicinales dont *Mentha piperita* L ont été testés pour leurs effets insecticides contre les

ravageurs coléoptères de produits stockés : *Oryzaephilus surinamensis* L. (Silvanidae), *Rhyzopertha dominica* F. (Bostrichidae) et *Sitophilus zeamais* Mots. (Curculionidae). Les résultats ne registrent aucune trace d'activité insecticide de la plante contre les genres testés (Moreira, 2007).

6-3- Effets antimicrobiens :

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

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

En outre, Yadegarinia et al.(2006) ont trouvé que l'extrait de la menthe poivrée possède d'excellentes activités antimicrobiennes contre *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec des diamètres des inhibitions de 31.11, 11.67 et 90 mm respectivement.

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

Méthodologie expérimentale

1-Objectifs :

Ce travail expérimental consiste à suivre l'effet antimicrobien des extraits de *Mentha piperita* vis-à-vis des deux germes spécifiques du yaourt dont *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. L'étude vise à comprendre le type d'action inhibitrice que peuvent exercer les principaux composés bioactifs de la Menthe poivrée obtenus par usage de l'hexane aqueux et leurs conséquences sur l'amélioration de la qualité et la stabilité d'un lait fermenté type yaourt étuvé.

2-Région de prélèvement du matériel végétal :

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

3-Préparation du matériel végétal :

Un échantillon de 4 à 5 kg de matériel végétal 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) relevant de la wilaya de Ouargla.

La matière végétale a été ensuite étalée sur du papier journal, puis séchée à l'air ambiant. Les échantillons 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.

4-Extraction des composés bioactifs :

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

L'extraction des composés bioactifs de la plante est réalisée par usage de l'hexane comme solvant d'extraction. Elle a été effectuée sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale est mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v). L'extraction par macération à froid de chaque mélange est laissée pendant 6 heures à température ambiante

Partie 2 : Méthodologie expérimentale.

sous agitation. Puis filtré sur papier filtre Whatman ayant une porosité de 0,2 μ m. L'extrait pur est enfin obtenu après évaporation sous vide à 45 °C au rota vapeur(BÜCHI).

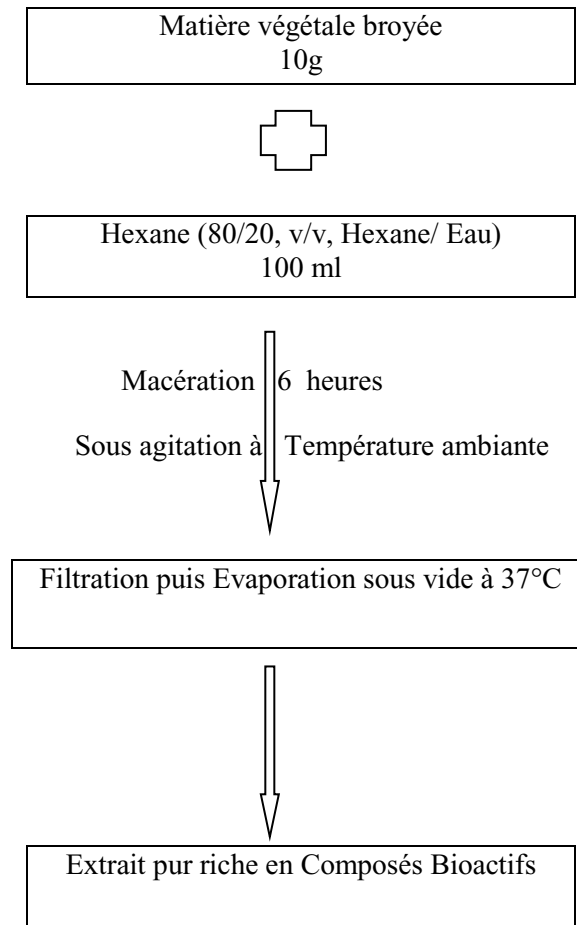


Figure 05. Etape d'extraction des composés bioactifs de *Mentha piperita* selon le protocole de (Sultana et al., 2009).



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

5- Préparation des différentes solutions expérimentales :

A partir de l'extrait pur de la menthe poivrée obtenu comme préalablement des solutions diluées à l'eau distillée à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% ont été préparées ; ils représentent les solutions de travail à base de composé bioactifs de Menthe poivrée (**Figure 04**).

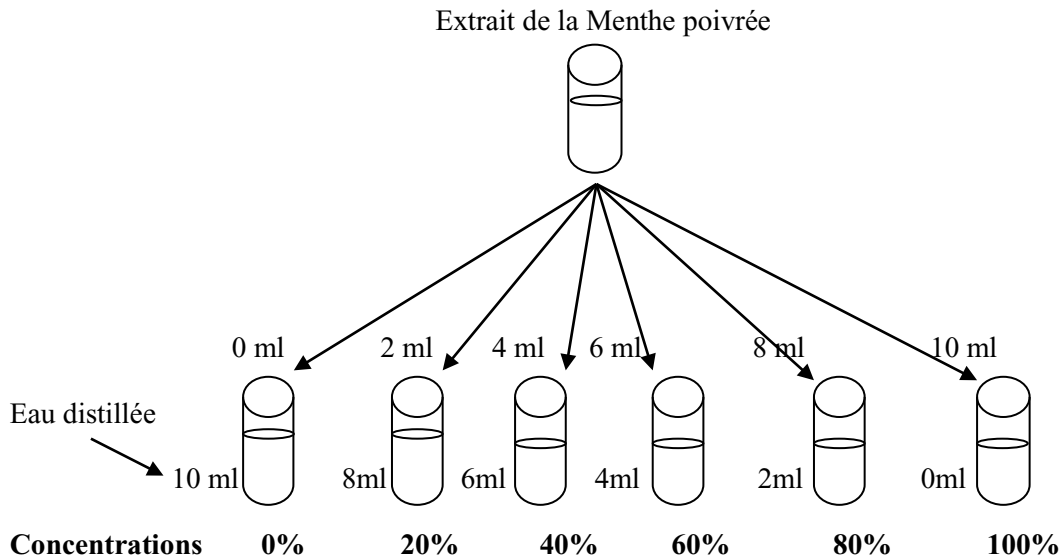


Figure 07. Préparation des différentes solutions expérimentales.

6. Etude des effets antimicrobiens de l'extrait de *Mentha pipérita* :

6.1 Activation des inocula microbiens :

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

Une prise de 0.25 g de la souche lyophilisée a été préalablementensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37 °C durant 03 heures jusqu'à atteindre une densité optique de 0,9 au spectrophotomètre réglé à 560 nm. 0,1 ml de cette dernière solution est ensuite pris pour être ensemencé en surface d'une boîte de Pétri contenant un milieu spécifique gélosé de croissance pour chaque espèce microbienne (MRS ou M17), puis le mélange est incubé à 37°C pendant 24 heures (**Figure 05**).

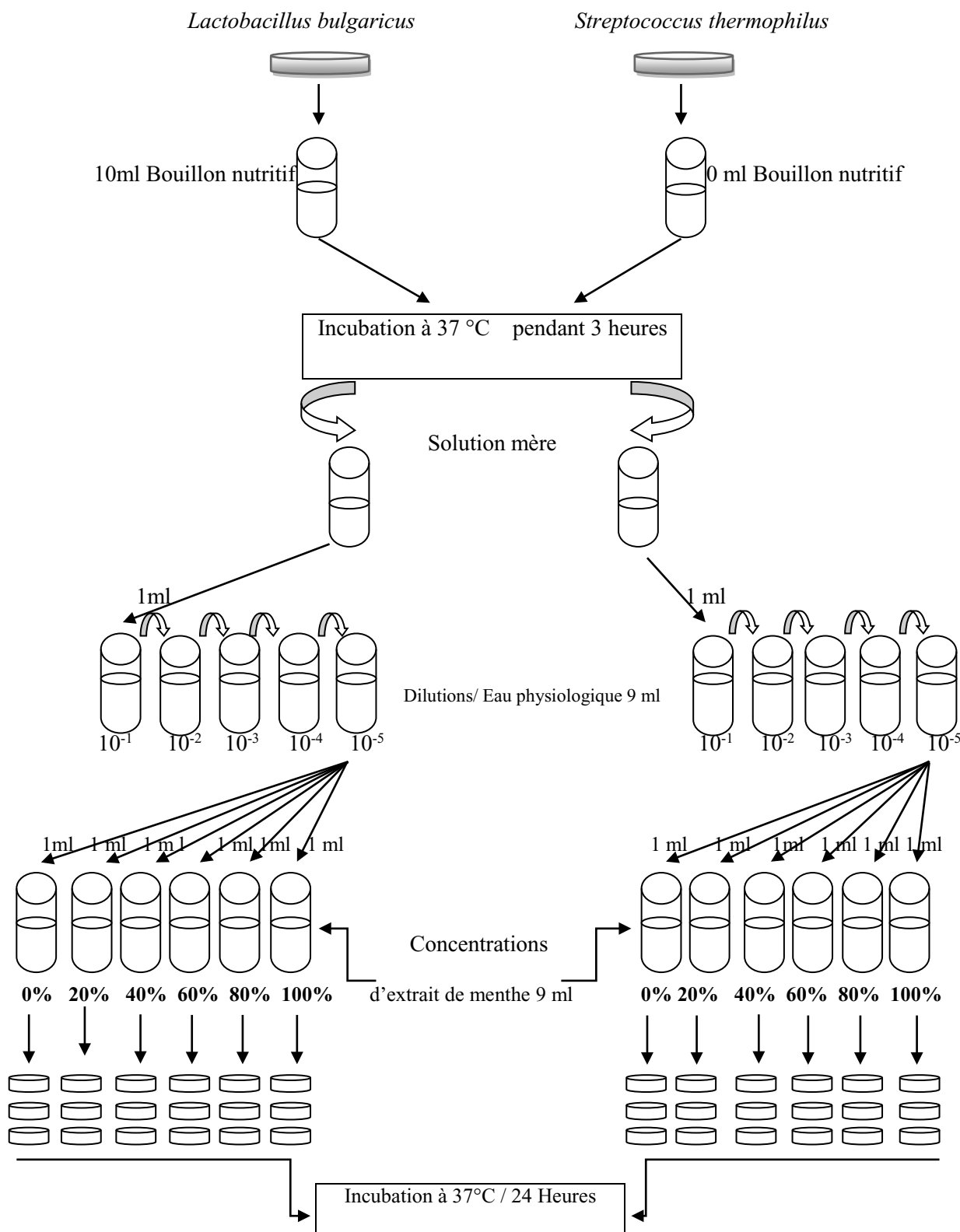


Figure 09. Méthode de contact direct.

6-3 Méthode des disques par diffusion sur gélose :

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n° 5), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contaminations aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave. Une colonie de chaque espèce lactique prélevée du milieu gélosé spécifique après

activation a été ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif ; ce mélange a constitué la solution mère. Des prises de volume de 1ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Pétri contenant le milieu MRS ou M17 selon l'espèce microbienne étudiée. Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque extrait obtenu selon le solvant utilisé, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamicine, ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Pétri contenant le milieu gélosé spécifique ensemencé au germe lactique approprié (Prescott et al, 2003). La lecture des diamètres d'inhibition a été effectuée après incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 24 heures à l'aide d'un pied à colisse (Guignar, 1998). (Figure 07).

6-4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

La concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration en antibiotique, en antifongique et /ou en principes composés actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme (Denis et al., 2011). Dans le cas de notre étude, c'est les principes actifs des extraits de la matière végétale de la Menthe qui sont utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice des espèces de germe spécifiques du yaourt (*Streptococcus thermophilus* ou *Lactobacillus bulgaricus*). Ainsi, une colonie jeune de *Streptococcus thermophilus* ou de *Lactobacillus bulgaricus* est prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir l'inoculum. Des prises de 0,2 ml de chaque inoculum sont introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton. Les mélanges des tubes contenant les extraits de Menthe préparés à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum de bactérie lactique sont ensuite incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures (Moroh et al, 2008), (Figure.08).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI est effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du microorganisme étudié. La CMI correspondra donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité. Par conséquent c'est le premier tube où la valeur d_i est égale à df ($d_i = df$). Le taux de survie du microorganisme est mesuré au spectrophotomètre réglé à 560 nm comme suit :

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

S: Taux de survie du microorganisme en %.

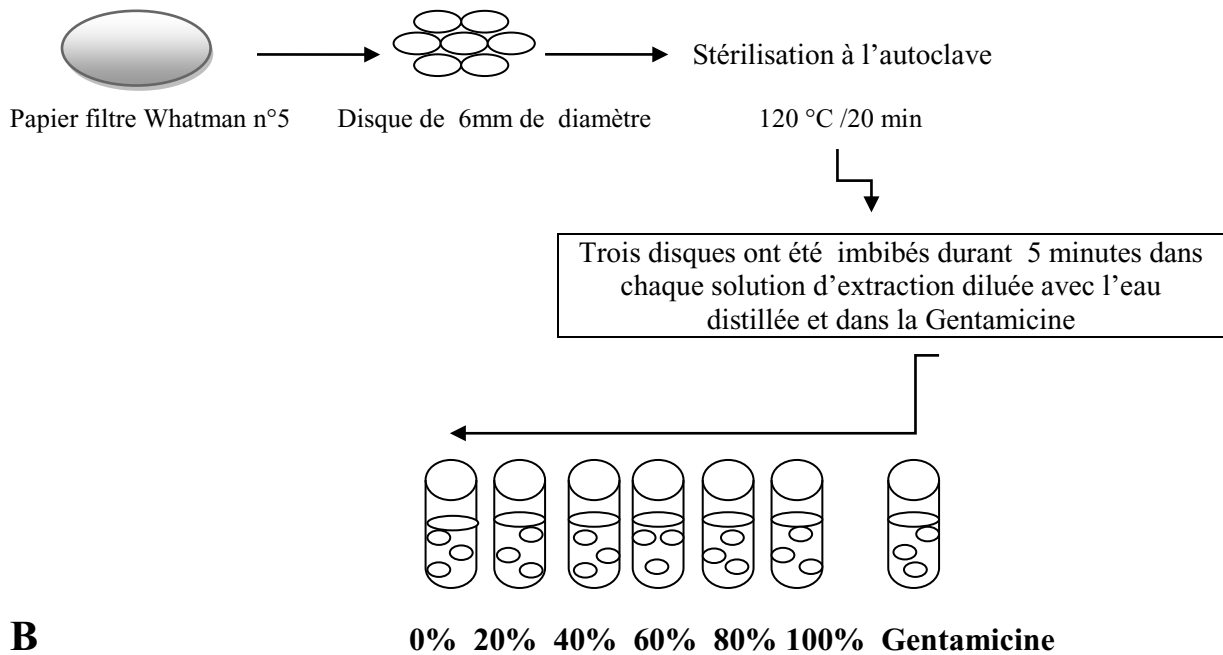
d_i : Densité optique dans la solution phénolique ensemencée sans incubation.

df : Densité optique dans la solution phénolique ensemencée après incubation.

$df - d_i$: Différence de densité optique dans la solution phénolique ensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

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

A



B

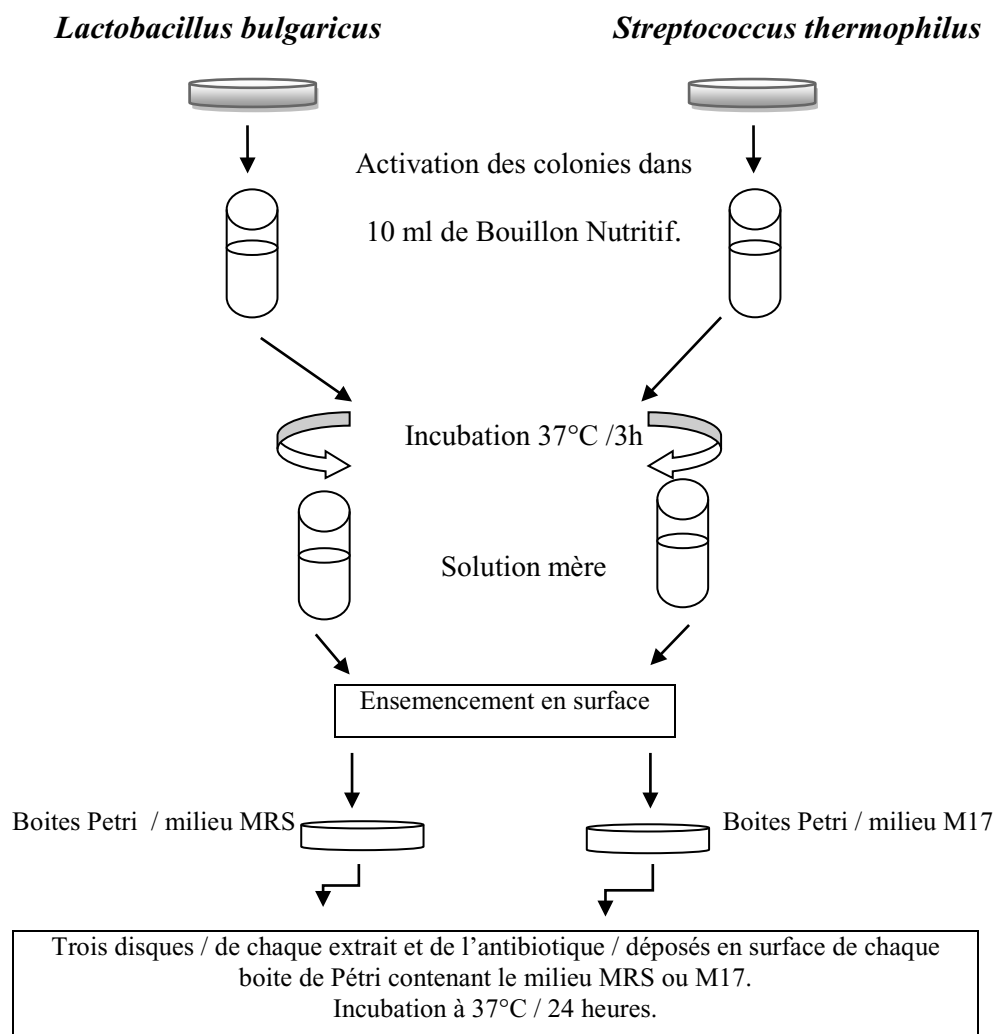


Figure 10. Méthode des disques par diffusion sur gélose.

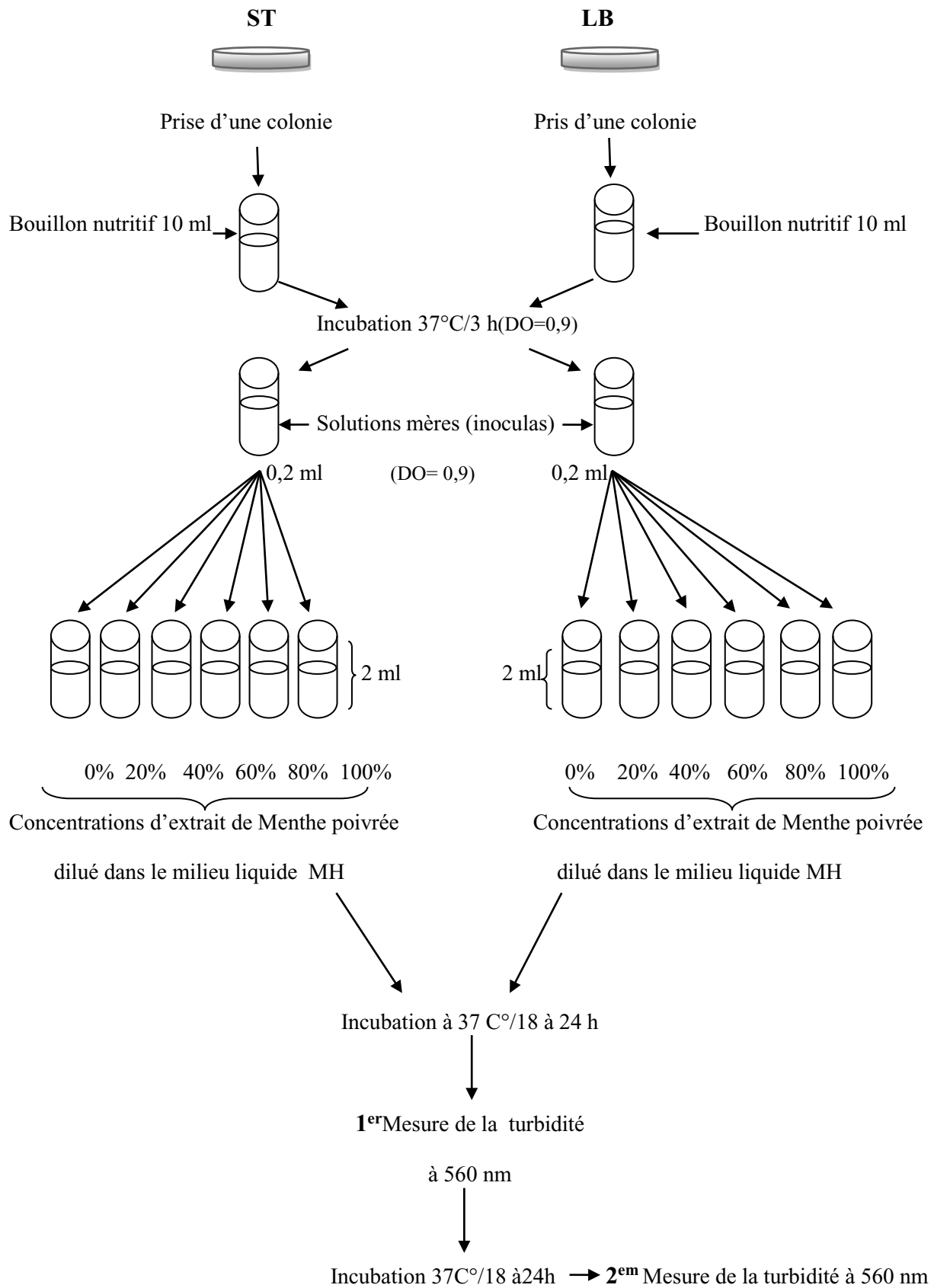


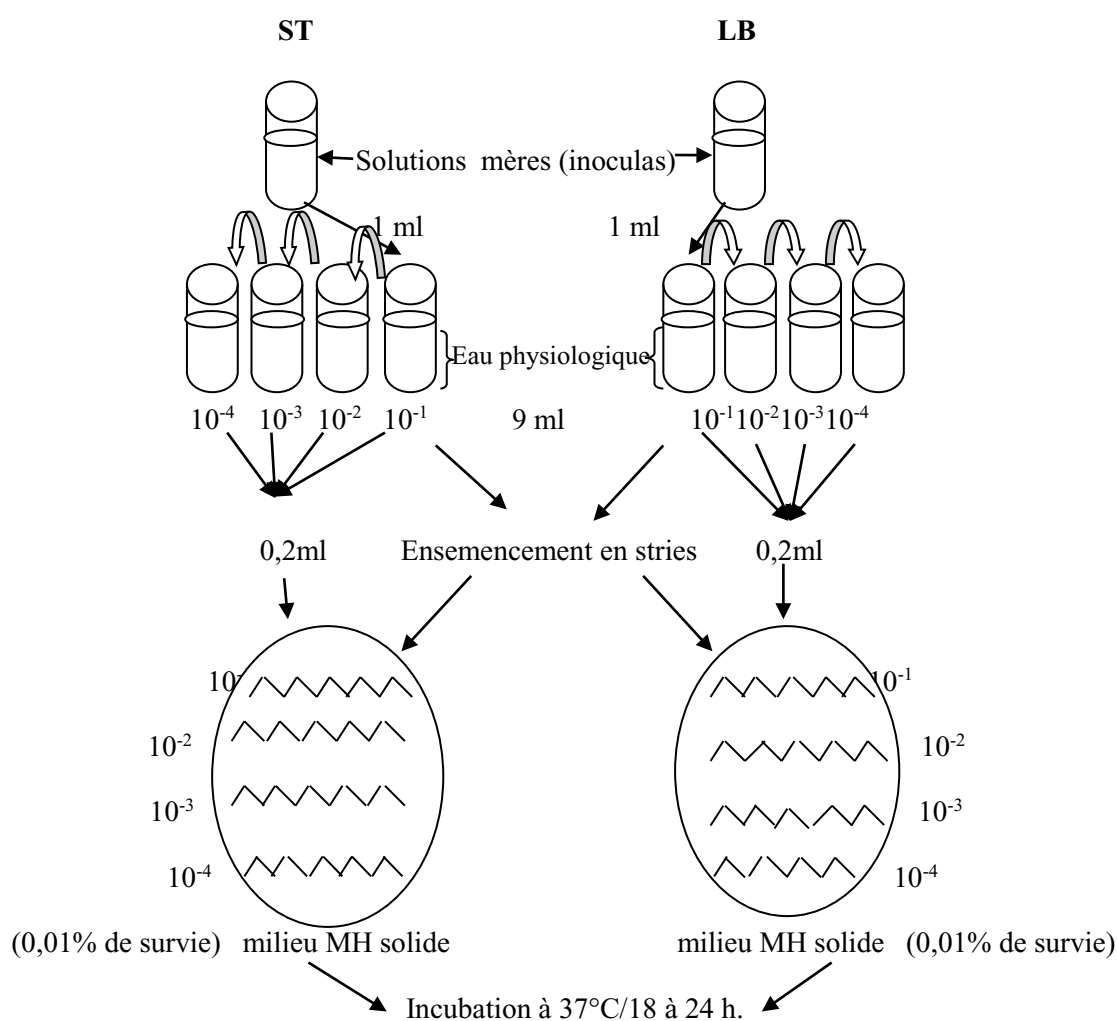
Figure 11. Détermination de CMI.

6-5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

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

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle estensemencée par strie de 5 cm sur une Gélrose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum, égalementensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 18 à 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la CMB. (Figure .09).

A



B

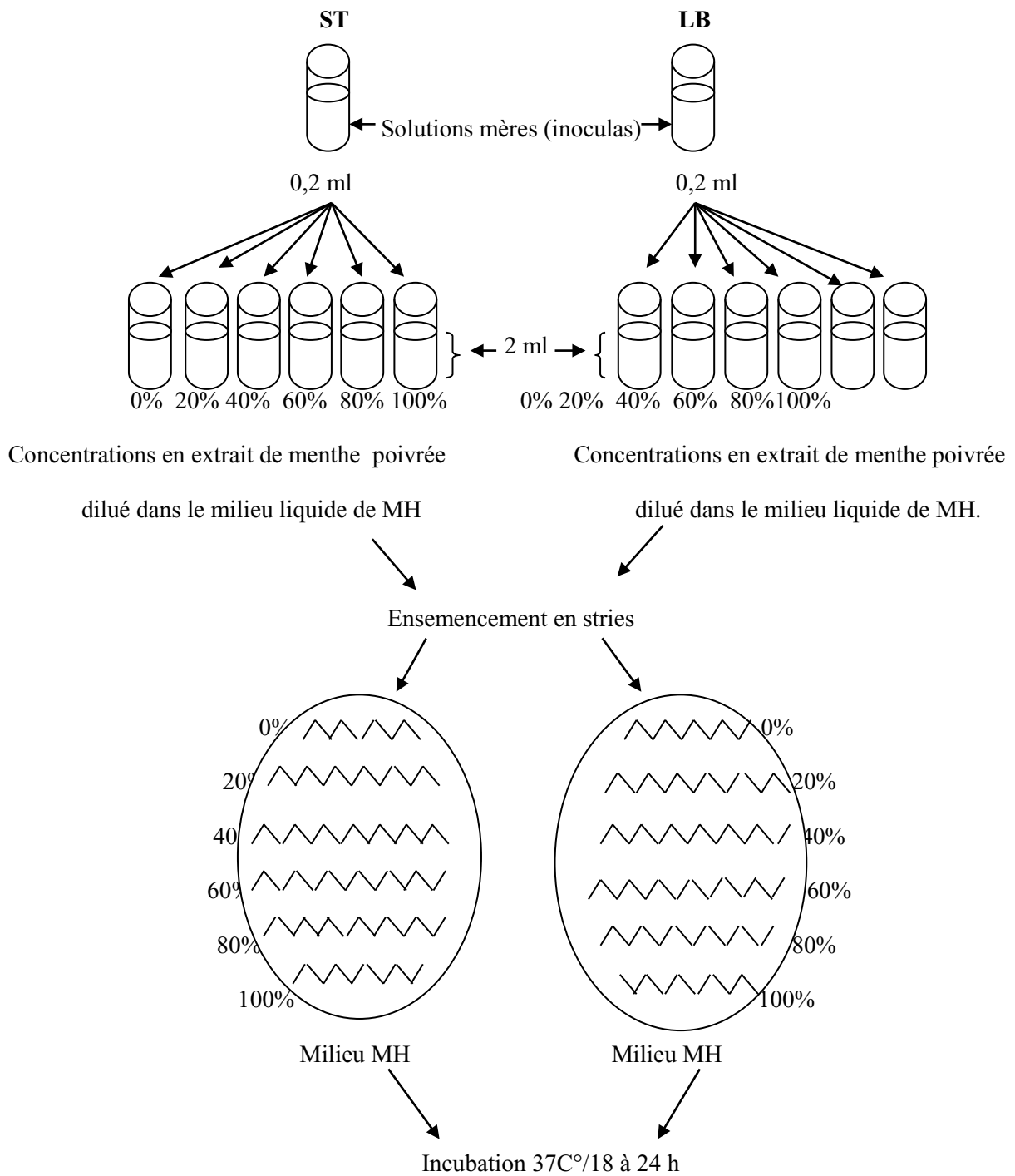


Figure 12.Détermination de CMB.

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

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 à l'hexane aqueux de la plante (*Mentha pipéríta L*) récoltée dans la région de Ouargla -Algérie a été incorporé au cours du process 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, 3, 6, 9 et 12 %, respectivement.

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

Chaque concentration d'extrait étudié sera représenté par un nombre de répétitions de trois pots d'une capacité de 100ml de produit finis; soit un nombre total de 15 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 « écrémé ».Le mélange a subi ensuite une pasteurisation durant 2 minutes à 100°C, et un refroidissement à 45°C.

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

Le levain prêt à l'emploi avec un rapport de souches de 2 *Streptococcus thermophilus* pour 1 *Lactobacillus bulgaricus*(2S/1L, v/v) a été enfin incorporé dans les laits destinés à la fabrication des laits fermentés alicaments à un taux de 3% (3ml de levain dans 100 ml de lait cru pasteurisé enrichi d'extrait de Menthe verte et maintenu durant environ 3 heures à 45 °C).(Figure10).

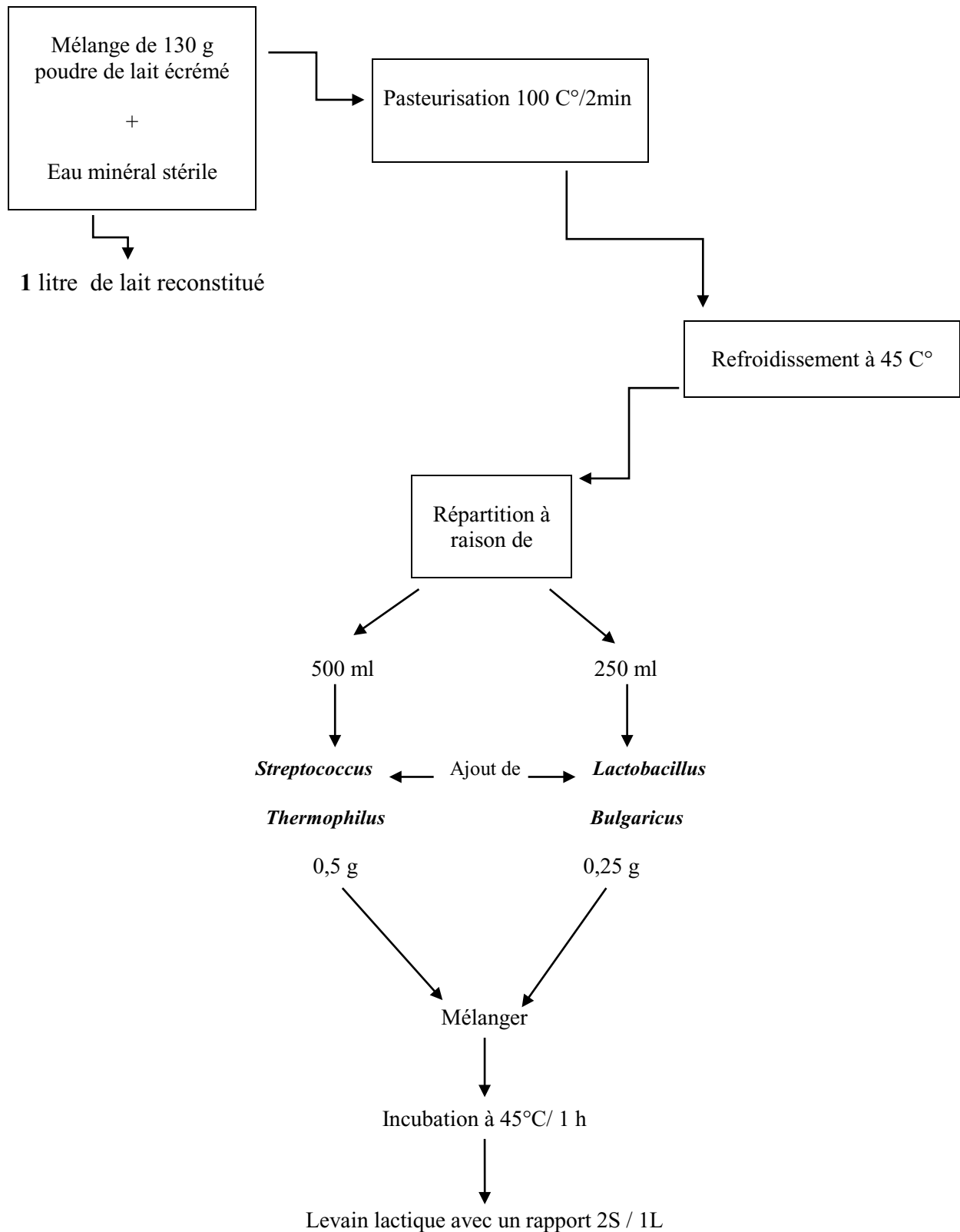


Figure 13. Préparation du levain.

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 additionné différents taux d'extrait à l'hexane de la Menthe verte (*Mentha pipérata L*) à raison de 0, 3, 6, 9 et 12%, respectivement. Les échantillons ont été enfinensemencés à 3% avec un levain lactique renfermant un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* de 2S/1L. Les pots des différentes préparations ont été par la suite sertis par du papier aluminium et orientés à la fermentation pendant 3 heures dans une étuve réglée à 45°C.

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



Figure 14.Fabrication des laits fermentés.

8. Mesures et contrôles sur les laits fermentés:

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

8.1) Paramètres physicochimiques :

8.1.1) Acidité :

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

8.1.2) pH :

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



Figure15.pH mètre.

8.1.3) Viscosité dynamique :

La viscosité a été établie par l'utilisation d'un tube en verre de 2cm de diamètre et de 18cm de longueur équipé d'un chronomètre.

Le principe de l'appareil consiste à faire s'écouler un liquide dont on veut mesurer la viscosité à travers un tube capillaire avec une vitesse débitante assez petit pour que la loi de Poiseuille puisse s'appliquer ;

Le débit volumique Q :

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

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

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

Lorsque le liquide est immobile, la différence 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 ρ_{liq} est la masse volumique du liquide.

Le débit volumique devient :

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

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

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

On obtient la relation donnant la viscosité du liquide :

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

On peut déduire la viscosité cinématique :

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

Expression des résultats :

- ✓ ρ_{liq} : masse volumique du liquide en (kg/l) ;
- ✓ R : rayon du tube en (m) ;
- ✓ g : accélération de la pesanteur ;
- ✓ t : temps d'écoulement en seconde ;
- ✓ v : viscosité cinématique en (m²/s) ;
- ✓ k : constante de la viscosité utilisé (k= 0,1413).



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

8.2) Analyses microbiologiques :

- *Streptococcus thermophilus* : Le dénombrement des germes a été réalisé par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « M17 » incubé à 37°C pendant 24h.
- *Lactobacillus bulgaricus* : Le dénombrement des germes a été effectué par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « MRS » incubé à 37°C pendant 24h.

8.3) Tests organoleptiques :

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

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

9. Traitement statistique :

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

1. Résultats.

1.1. Effets inhibiteurs des extraits à l'hexane aqueux de *Mentha pipérита* chez *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

1.1.1. Test de croissance.

L'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérита* quelle que soit la concentration préparée à induit une diminution notable ($P < 0,01$) de la croissance de *Streptococcus thermophilus* par comparaison à la solution témoin, sans extrait de la plante ; 31.10^5 vs 71.10^5 UFC/ml, en moyenne.

Par ailleurs, les solutions d'extrait préparées à 20, 40, 60,80 et 100% ont accusé un nombre de germe *Streptococcus thermophilus* comparable et variable de 44.10^5 à 213.10^4 UFC/ml.

Les faibles ($P < 0,01$) résultats de croissance des germes *Lactobacillus bulgaricus* par rapport au témoin ont est constatés avec les solutions d'extrait concentrées à 40, 60,80 et 100% ; 243.10^5 vs 68.10^5 vs 32.10^5 vs 216.10^4 et 130.10^4 UFC/ml, en moyenne, successivement.

Toutefois, la variation de la concentration de l'extrait de 40 à 100% ne semble pas réduire significativement ($p > 0,05$) la prolifération de ces germes.

Par ailleurs, le nombre de *Lactobacillus bulgaricus* noté dans l'extrait de la plante objet de l'étude concentre à 20% reste aussi très faible ($p < 0,01$) par comparaison au témoin ; 243.10^5 .(Tableau6).

Tableau 6. Effets antimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérита* sur la croissance des germes spécifiques du yaourt.

Germes	Concentrations (%) en extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipérита</i>						Effet des concentrations en extrait de <i>Mentha pipérита</i> .
	0	20	40	60	80	100	
<i>Streptococcus thermophilus</i> (UFC/ ml)	71.10^5 a	44.10^5 b	35.10^5 b	30.10^5 b	266.10^4 b	213.10^4 b	P<0.01
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> (UFC/ ml)	243.10^5 a	149.10^5 b	68.10^5 c	32.10^5 c	216.10^4 c	130.10^4 c	P<0.01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec nombre de répétitions égale à 3 ; $p < 0,01$: Effet hautement significatif du facteur étudié(concentrations d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérита*) ; $p > 0,05$: effet non significatif du facteur étudié ; $p < 0,05$: effet significatif du facteur étudié ; UFC : Unité Format Colonie ; a, b, c : groupes homogènes de comparaison des moyens selon le test de Newman et Keuls.

1.1.2. Taux de croissance.

Les variations des concentrations de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta* (de 0 à 100%) ont accusé des diminutions appréciables ($P < 0,01$) de 100 à 30% du taux de croissance des *Streptococcus thermophilus*.

Même à une faible concentration de 20% d'extrait, la croissance du germe *Streptococcus thermophilus* est très faible par comparaison au témoin ($p < 0,01$) ; soit un taux de 62,44%.

Quant aux *Lactobacillus bulgaricus*, les taux de croissance ont été abaissés ($p < 0,01$) de 61,37, à 27,95, à 13,42, à 8,90 et à 5,34% par rapport au témoin pour respectivement les solutions d'extrait préparées à 20,40,60,80 et 100% .(Tableau7).

Tableau 7. Effets antimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta* sur le taux de croissance des germes spécifiques du yaourt.

Germes	Concentrations (%) en extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>						Effet des concentrations en extrait de <i>Mentha pipéríta</i> .
	0	20	40	60	80	100	
<i>Streptococcus thermophilus</i> (%)	100 ^a	62,44 ^b	50,23 ^c	42,76 ^d	37,56 ^e	30,05 ^f	p<0.01
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> (%)	100 ^a	61,37 ^b	27,95 ^c	13,42 ^{cd}	8,90 ^{cd}	5,34 ^d	p<0.01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec nombre de répétitions égale à 3 ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié(concentrations d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta*) ; $p > 0,05$:effet non significatif du facteur étudié ; $p < 0,05$:effet significatif du facteur étudié ; UFC : Unité Format Colonie ; a, b, c,d,e,f : groupes homogènes de comparaison des moyens selon le test de Newman et Keuls.

1.1.3 Test de diffusion sur disques.

L'augmentation de la concentration de l'extrait de *Mentha pipéríta* de 20, à 40, à 60, à 80 et à 100% s'est accompagnée d'une hausse ($p < 0,01$) du diamètre d'inhibition de 5,57 à 15,83 mm chez *Streptococcus thermophilus* et de 8,23 à 12,77 chez les *Lactobacillus bulgaricus*.

Toutefois, la gentamicine, antibiotique à large spectre a présenté des diamètres les plus élevée comparativement à l'extrait à l'hexane aqueux de la menthe ; 19,27 et 16 mm, en moyenne chez respectivement les deux germes étudiés.

Tableau 8. Effets antimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta* sur les diamètres d'inhibition chez le *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Germes	Concentrations (%) en extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>						Effet des concentrations en extrait de <i>Mentha pipéríta</i> .
	Gentamicine	20	40	60	80	100	
<i>Streptococcus thermophilus</i> (mm)	19,27 ^a + - 0,751	7,57 ^e + - 0,42	8,47 ^e + - 0,45	10,13 ^d + - 1,06	12,10 ^c + - 0,53	15,83 ^b + - 1,258	P<0.01
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> (mm)	16,00 ^a + - 1	8,23 ^d + - 0,25	9,30 ^d + - 0,20	9,87 ^{cd} + - 0,15	11,07 ^c + - 0,60	12,77 ^b + - 1,42	P<0.01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec nombre de répétitions égale à 3 ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentrations d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta*) ; p : seuil de probabilité à 1 ou 5% ; a, b, c, d, e : groupes homogènes de comparaison des moyens selon le test de Newman et Keuls.

1.1.4. Taux d'inhibition.

Comparativement à la gentamicine, les taux d'inhibitions des germes spécifiques du yaourt ont augmenté d'une manière très significative ($p < 0,01$) et proportionnellement avec l'augmentation de la concentration d'extrait de 20, à 40, à 60, à 80 et 100% ; soit des valeurs qui ont rehaussées de 39,27 à 82,18% chez les *Streptococcus thermophilus* et de 51,46 à 79,79% chez les *Lactobacillus bulgaricus*.(Tableau 9).

Tableau 9. Effets antimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta* sur les taux d'inhibitions chez les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Germes	Concentrations (%) en extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>						Effet des concentrations en extrait de <i>Mentha pipéríta</i> .
	Gentamicine	20	40	60	80	100	
<i>Streptococcus thermophilus</i> (%)	100 ^a	39,27 ^e	43,94 ^e	52,59 ^d	62,80 ^c	82,18 ^b	P<0.01
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> (%)	100 ^a	51,46 ^e	58,12 ^{de}	61,67 ^d	69,17 ^c	79,79 ^b	P<0.01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; $p < 0,01$: Effet hautement significatif du facteur étudié (concentrations d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta*) ; p : seuil de probabilité à 1 ou 5% ; a, b, c, d, e : groupes homogènes de comparaison des moyens selon le test de Newman et Keuls.

1.1.5. Concentrations minimales inhibitrices (CMI).

La concentration minimale inhibitrice chez *Streptococcus thermophilus* a été notée à une concentration d'extrait de la plante objet de l'étude de *Mentha pipérита* de 20%.

Par contre, la concentration minimale inhibitrice chez le germe *Lactobacillus bulgaricus* a été décelée à une concentration d'extrait plus importante de 80%.

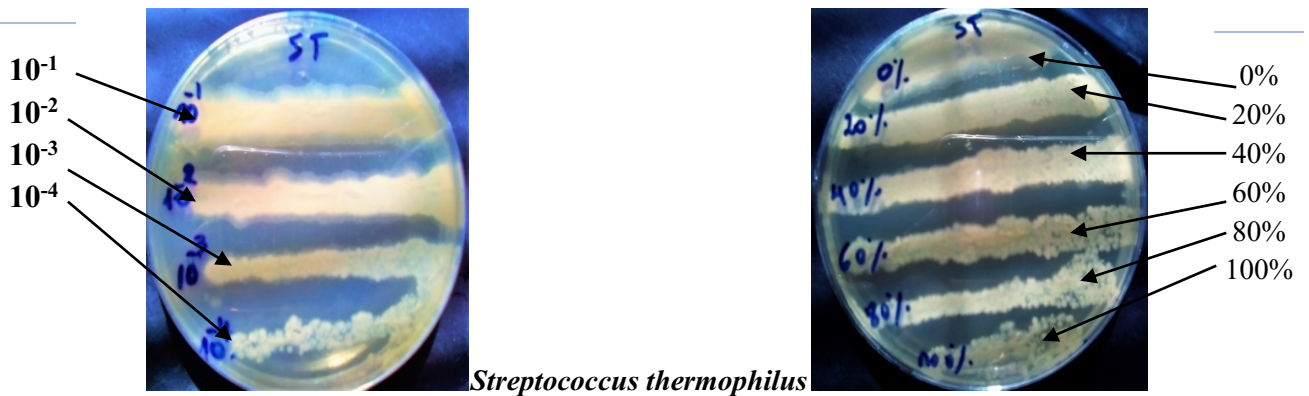
Tableau 10 .Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérита* chez *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Germes	Densité optique	Témoin	Concentrations (%) en extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipérита</i>				
		0	20	40	60	80	100
<i>Streptococcus thermophilus</i>	di	0,279	0,960	1,000	0,057	0,253	0,292
	df	0,296	0,895	0,333	0,040	0,149	0,276
	df-di	0,017	-0,065	-0,667	-0,017	-0,104	-0,016
	S	100%	0	0	0	0	0
CMI	CMI= Extrait à 20%						
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	di	0,123	0,799	1,137	1,729	0,109	0,330
	df	0,482	1,399	1,535	2,065	0,102	0,177
	df-di	0,265	0,600	0,398	0,336	-0,007	-0,153
	S	100%	2,26%	1,50%	1,27%	0	0
CMI	CMI= Extrait à 80%						

df-di :Différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures ;df : Densité optique après incubation ; di : Densité optique avant incubation; S : pourcentage de survie ; CMI : Concentration minimale inhibitrice.

1.1.5. Concentration minimale bactéricide (CMB).

La concentration minimale bactéricide chez les deux germes spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* a été enregistré avec la solution d'extrait de la menthe concentrée à 100% .



(CMB= Extrait pur à 100%)



(CMB= Extrait pur à 100%)

Figure 18. Détermination de la concentration minimale bactéricide de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérita* chez *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

1.1.7. Type d'inhibition.

A travers les rapports CMB/CMI il apparaît que l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérita* exerce un effet de type bactéricide chez *Lactobacillus bulgaricus* et de type bactériostatique chez les *Streptococcus thermophilus*.

Tableau 11. Action inhibitrice de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta* chez *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

Désignation	CMI	CMB	(CMB/CMI)	Effet Inhibiteur
<i>Streptococcus thermophilus</i>	20%	100%	5	Bactériostatique
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	80%	100%	1,25	Bactéricide
Normes	- D'après (Olivier., 2007): CMB/CMId2 (Effet bactéricide). CMB/CMIE (Effet bactériostatique). -D'après (Marmonier., 1990): CMB/CMId4 (Effet bactéricide). CMB/CMIE4 (Effet bactériostatique).			

1.2. Effets d'incorporation de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta* sur la qualité d'un lait fermenté (type yaourt étuvé).

1.2.1. Qualité physicochimique.

1.2.1.1. pH.

D'une façon générale le pH des laits fermentés a tendance à diminuer de 6,12 à 4,46 en moyenne durant la période de fermentation pour atteindre 4,91 au 7^{ème} jours de la période de post acidification et 4,15 au terme de la conservation.

Après 4 heures de fermentation les essais incorporés à 2 et 4% d'extrait à l'hexane aqueux ont présenté des teneurs en pH identiques (4,04 vs 4,05) ; mais inférieures ($p < 0,01$) au témoin, sans extrait de la plante.

Par ailleurs, l'échantillon préparé à 6% d'extrait a noté à son tour des résultats remarquablement ($p < 0,01$) supérieurs à celui du témoin ; 4,58 vs 4,18, en moyenne.

Apparemment, durant la phase de post acidification, l'adjonction d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta* à différentes doses n'a pas influencé ($p > 0,05$) les variations périodes de pH dans les produits expérimentaux.

Cependant, au cours de toute la période expérimentale les laits fermentés et contenant le taux le plus sévère d'extrait de la plante à 6% ont accusé un pH nettement plus élevé que le témoin ; 4,63 vs 4,61. (Tableau 12).

Tableau 12. Effets d'incorporation d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérta* sur le pH des laits fermentés.

Facteurs Périodes			Doses en extrait incorporées (%)				Moyenne	Effet des doses d'extraits incorporées
			0	2	4	6		
Fermentation	1 ^{er} J	0H	6,12 ^{ab} + - 0,01	6,12 ^{ab} + - 0,02	6,14 ^a + - 0,01	6,10 ^b + - 0,01	6,12	P<0,01
		2H	5,17 ^a + - 0,07	4,9 ^b + - 0,03	4,54 ^c + - 0,04	4,59 ^c + - 0,09	4,80	P<0,01
		4H	4,18 ^b + - 0,05	4,04 ^c + - 0,05	4,05 ^c + - 0,04	4,58 ^a + - 0,02	4,46	P<0,01
	Post acidification	7 ^{eme} J	4,96 + - 0,02	4,88 + - 0,02	4,89 + - 0,05	4,89 + - 0,08	4,91	P>0,05
		14 ^{eme} J	4,14 + - 0,06	4,13 + - 0,03	4,23 + - 0,05	4,23 + - 0,11	4,18	P>0,05
		21 ^{eme} J	4,07 + - 0,01	4,08 + - 0,02	4,09 + - 0,1	4,37 + - 0,44	4,15	P>0,05
Moyenne			4,61	4,53	4,49	4,63		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivie des écarts types correspondants avec un nombre de répétitions n=3 ; p<0,01: Effet hautement significatif du facteur étudié (Doses d'extrait à l'hexane de *Mentha pipérta*) ; P>0,05 :effet non significatif du facteur étudié ; p : seuil de probabilité à 1 ou 5% ; a, b, c : groupes homogènes de comparaison des moyens deux à deux selon le test de Newman et Keuls; H : heures ; J : jours.

1.2.1.2. Acidité.

Durant l'expérimentation l'acidité des essais expérimentaux est marquée par une nette élévation ; de 17,41 à 0 heure de fermentation à 80,92° D en moyenne après 21 jours de post acidification et 4,15 au terme de la conservation .

A la fin de la fermentation, après 4 heures, les échantillons de lait fermenté, ont accusé des même valeurs d'acidité titrable (p>0,05) ; 90,75, moyenne.

C'est au 14^{eme} et 21^{eme} jours de la période de post acidification que l'acidité des produits a connue de grandes variations (p<0,01).Ainsi au cours de ces derniers jours, l'acidité des produits préparées à 2% d'extrait à l'hexane aqueux s'avère comparable (p>0,05) à celle du témoin ; 92 vs 88° D et 83,67 vs 87,67° D, en moyenne, successivement.

Partie 3 : Résultats et discussion.

En revanche, les laits fermentés préparés à une concentration plus importante d'extrait de la menthe poivrée de 4 et 6% ont accusé des valeurs d'acidité plus faibles ($p < 0,01$) que le yaourt témoin ; 79,67 et 75,67 vs 88,00° D au 14^{ème} jours et 73,00 et 79,33 vs 87,67° D au 21^{ème} jours de stockage. (Tableau 13).

Tableau 13. Effets d'incorporation d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérta* sur l'acidité des laits fermentés.

Facteurs		Doses en extrait incorporées (%)				Moyenne	Effet des doses d'extrait incorporées	
		0	2	4	6			
Périodes	Fermentation	0 H	16,67	17,33	17,67	18,00	17,41	P>0,05
			+	+	+	+		
			-	-	-	-		
	1 ^{er} J	2H	56 ^c	58,67 ^c	62,00 ^b	67,00 ^a	60,92	p<0,01
			+	+	+	+		
			-	-	-	-		
4H	4H	94,00	86,33	88,00	94,67	90,75	p>0,05	
		+	+	+	+			
		-	-	-	-			
Post acidification	7 ^{ème} J	7 ^{ème} J	99,33	99,00	89,00	85,67	93,25	P>0,05
			+	+	+	+		
			-	-	-	-		
	14 ^{ème} J	14 ^{ème} J	88,00 ^{ab}	92,00 ^a	79,67 ^{bc}	75,67 ^c	83,84	p<0,01
			+	+	+	+		
			-	-	-	-		
	21 ^{ème} J	21 ^{ème} J	87,67 ^a	83,67 ^{ab}	73,00 ^b	79,33 ^c	80,92	p<0,01
			+	+	+	+		
			-	-	-	-		
Moyenne		73,61	72,83	68,22	70,05			

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts types correspondants avec un nombre de répétition n=3 ; p<0,01: Effet hautement significatif du facteur étudié (Doses d'extrait à l'hexane de *Mentha pipérta*) ; p>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; p>0,05 : effet non significatif du facteur étudiés ; a, b, c : groupes homogènes de comparaison des moyens deux à deux selon le test de Newman et Keuls; H : heures ; J : jours.

1.2.1.3. Viscosité.

De 0 à 4 heures de fermentation la viscosité s'est démarquée par une augmentation considérable de 2,49 à 60,32 m²/s dans les produits. A 7^{ème}, 14^{ème} et 21^{ème} jours de la période de post acidification la viscosité a tendance à diminuer à 34,43, à 32,11 et à 35,61 m²/s, respectivement dans l'ensemble des échantillons expérimentaux.

Partie 3 : Résultats et discussion.

Apparemment, la viscosité dans laits fermentés n'a pas changé grandement ($p>0,05$) après 4 heures de fermentation ; 49,74 à 71,21, en moyenne.

Par ailleurs, au 7^{ème} jours, les essais additionnés d'extrait de la menthe à des doses sévères de 4 et 6% ont accusé de médiocre ($p<0,01$) viscosité que le témoin (27,04 vs 25,20 vs 42,11 m^2/s , en moyenne) ; alors que le produit à 2% d'extrait a présenté une viscosité (43,38 m^2/s) similaire ($P>0,05$) au témoin.

En revanche, au 14^{ème} comme au 21^{ème} jours, la viscosité des laits fermentés est restée stable ($p>0,05$) entre les produits. (Tableau 14).

Tableau 14. Effets d'incorporation d'extraits à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta* sur la viscosité des laits fermentés.

Facteurs			Doses en extrait incorporées (%)				Moyenne	Effet des doses d'extraits incorporées		
			0	2	4	6				
Périodes										
Fermentation	1 ^{er} J	0 H	0,80 ^b	0,80 ^b	0,55 ^b	7,82 ^a	2,49	P<0,01		
			+	+	+	+				
			-	-	-	-				
		0,16	0,08	0,41	0,71					
		2H	7,77 ^c	12,62 ^{bc}	27,37 ^a	17,85 ^b			16,40	P<0,01
			+	+	+	+				
	-		-	-	-					
	4H	1,61	2,63	4,82	5,85	60,32	P>0,05			
		71,21	57,74	62,60	49,74					
		+	+	+	+					
Post acidification	7 ^{ème} J		42,11 ^a	43,38 ^a	27,04 ^b	25,20 ^b	34,43	P<0,01		
			+	+	+	+				
			-	-	-	-				
		7,21	4,41	1,56	0,64	32,11			P>0,05	
		14 ^{ème} J	38,43	39,05	26,24					24,73
			+	+	+					+
	-		-	-	-					
	21 ^{ème} J	20,56	5,31	8,06	7,26		35,61	P>0,05		
		46,06	37,16	32,16	27,04					
		+	+	+	+					
Moyenne			34,40	31,79	29,32	25,40				

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, suivie des écarts types correspondants avec un nombre de répétitions $n=3$; $p<0,01$: Effet hautement significatif du facteur étudié (Doses d'extrait à l'hexane de *Mentha pipéríta*) ; $P>0,05$: effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c : groupes homogènes de comparaison des moyens deux à deux selon le test de Newman et Keuls; H : heures ; J : jours.

1.2.2. Qualité microbiologique.

1.2.2.1. *Streptococcus thermophilus*.

Durant l'expérimentation, du 1^{er} jusqu'au 14^{ème} jours de post acidification le nombre de germes *Streptococcus thermophilus* n'a pas connu de grandes variations ($p > 0,05$) ; $84 \cdot 10^5$ à $208 \cdot 10^5$ UFC/ml , en moyenne.

Au 21^{ème} jours, l'essai préparé avec l'extrait de menthe à 2% à enregistré une faible charge en ce germe par comparaison au témoin ($p < 0,01$) ; $56 \cdot 10^5$ vs $288 \cdot 10^5$ UFC/ml, en moyenne.

En revanche, les autres produits additionnés de l'extrait de la plante à 4 et 6% ont accusé des résultats comparable au témoin standard ($p > 0,05$) ; $238 \cdot 10^5$ vs $249 \cdot 10^5$ vs $288 \cdot 10^5$ UFC/ml , en moyenne. (Tableau 15).

Tableau 15. Effet d'incorporation d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérita* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Facteurs Périodes			Doses d'extrait incorporées (%)				Moyenne	Effets des doses d'extraits incorporées
			0	2	4	6		
Fermentation	1 ^{er} J (UFC/ml)	0 H	$228 \cdot 10^5$	$108 \cdot 10^5$	$225 \cdot 10^5$	$193 \cdot 10^5$	$188 \cdot 10^5$	$p > 0,05$
		2H	$174 \cdot 10^5$	$133 \cdot 10^5$	$261 \cdot 10^5$	$194 \cdot 10^5$	$191 \cdot 10^5$	$p > 0,05$
		4H	$128 \cdot 10^5$	$38 \cdot 10^5$	$42 \cdot 10^5$	$128 \cdot 10^5$	$84 \cdot 10^5$	$p > 0,05$
Post acidification	7 ^{ème} J (UFC/ml)		$221 \cdot 10^5$	$176 \cdot 10^5$	$293 \cdot 10^5$	$142 \cdot 10^5$	$208 \cdot 10^5$	$p > 0,05$
	14 ^{ème} J (UFC/ml)		$196 \cdot 10^5$	$193 \cdot 10^5$	$173 \cdot 10^5$	$179 \cdot 10^5$	$185 \cdot 10^5$	$p > 0,05$
	21 ^{ème} J (UFC/ml)		$288 \cdot 10^5$ a	$56 \cdot 10^5$ b	$238 \cdot 10^5$ a	$249 \cdot 10^5$ a	$208 \cdot 10^5$	$p < 0,01$
Moyenne			$206 \cdot 10^5$	$117 \cdot 10^5$	$205 \cdot 10^5$	$181 \cdot 10^5$		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions $n=3$; $p < 0,01$: Effet hautement significatif du facteur étudié (Doses d'extrait à l'hexane de *Mentha pipérita* incorporées) ; $p > 0,05$: effet non significatif du facteur étudié ; UFC : Unité Formant Colonie ; a, b : groupes homogènes de comparaison des moyens deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; H : heures ; J : jours.

1.2.2.2. *Lactobacillus bulgaricus*.

Apparemment, au cours des deux périodes de fermentation, ainsi que de post acidification, le nombre de *Lactobacillus bulgaricus*, est resté pratiquement stable dans les différents échantillons de laits fermentés additionné ou non d'extrait de *Mentha pipéríta*.(Tableau 16).

Tableau16. Effet d'incorporation d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

Facteurs			Doses d'extrait incorporées (%)				Moyenne	Effets des doses d'extraits incorporées
			0	2	4	6		
Périodes								
Fermentation	1 ^{er} J (UFC/ml)	0 H	79.10 ⁵ ab	166.10 ^{ab}	168.10 ⁵ ab	213.10 ^{5a}	157.10 ⁵	p<0,05
		2H	167.10 ⁵	88.10 ⁵	65.10 ⁵	126.10 ⁵	112.10 ⁵	p>0,05
		4H	43.10 ⁵	108.10 ⁵	260.10 ⁴	60.10 ⁵	118.10 ⁵	P>0,05
Post acidification	7 ^{eme} J (UFC/ml)		169.10 ⁵	92.10 ⁵	185.10 ⁵	283.10 ⁴	182.10 ⁵	p>0,05
	14 ^{eme} J (UFC/ml)		158.10 ⁵	193.10 ⁵	202.10 ⁵	179.10 ⁵	183.10 ⁵	p>0,05
	21 ^{eme} J (UFC/ml)		50.10 ⁵	71.10 ⁵	38.10 ⁵	190.10 ⁴	87.10 ⁵	p>0,05
Moyenne			111.10 ⁵	119,66.10 ⁵	153.10 ⁵	175,16.10 ⁵		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; p<0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié (Doses d'extrait à l'hexane de *Mentha pipéríta* incorporées) ; p<0,05 : Effet significatif du facteur étudié ; P>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; p : seuil de probabilité à 1 ou 5% ; UFC : Unité Formant Colonie ; a, b : groupes homogènes de comparaison des moyens deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; H : heures ; J : jours.

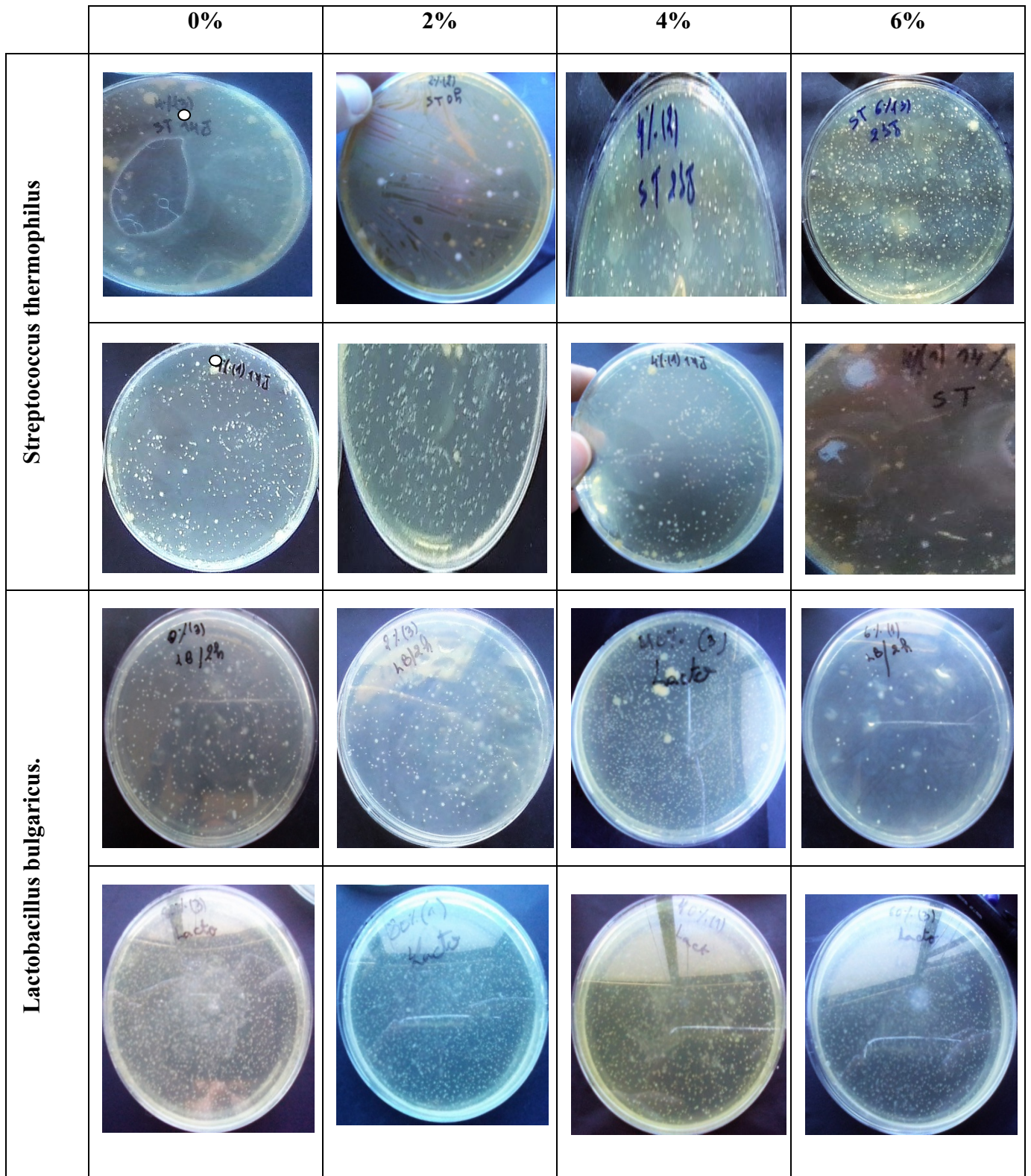


Figure 19. Détermination des différentes dilutions d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha piperita* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

1.2.3-Qualité organoleptique.

1.2.3.1. Evaluation sensorielle du goût.

D'une façon globale, durant la période de post acidification, le goût acide apprécié par les panelistes savère d'autant plus altéré ($P < 0,01$) que le lait ferment est riche en extrait de menthe ; soit des moyennes des sommes des rangs qui ont varié de 22,17 à 22,67 à 25,17 et à 29,50 avec l'élévation de la quantité d'extrait incorporé de 0, à 2, à 4 et à 6% dans les produits respectivement.(Tableau 17).

Tableau17. Variations sensorielles (somme des rangs) du gout acide des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta*.

Périodes (jours)	Concentrations(%) d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>				Effet d'ajout d'extrait de <i>Menthe</i>
	0	2	4	6	
1 ^{er} J	21,50	22,50	26,50	29,50	P>0,05
7 ^{ème} J	30,50 ^a	17,00 ^b	22,00 ^{ab}	29,50 ^a	P \hat{A}0,01
14 ^{ème} J	14,50 ^b	28,50 ^a	27,50 ^a	29,50 ^a	P \hat{A}0,01
Moyenne des sommes des rangs	22,17	22,67	25,17	29,50	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre de panelistes n=10 ; J : jours ; $P < 0,01$: Effet hautement significatif du facteur étudié (Doses d'extrait ajoutées au laits fermentés) ; $P > 0,05$: effet non significatif du facteur étudié ; a, b : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Par ailleurs, au plan de la fraîcheur l'essai à 4% semble présenter les même résultats que le témoin ; 23,17 vs 22,17, en moyenne des somme des rangs. L'échantillon à 6% à toutefois, été mal apprécié par les dégustateurs ; avec une moyenne des sommes des rangs de 28,83 durant toute la durée de conservation.(Tableau 18).

Tableau18. Variations sensorielles (somme des rangs) du goût de fraîcheur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta*.

Périodes (jours)	Concentrations(%) d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>				Effet d'ajout d'extrait de <i>Menthe</i>
	0	2	4	6	
1 ^{er} J	29,00 ^a	32,00 ^a	15,00 ^b	30,00 ^a	P \hat{A}0,01
7 ^{ème} J	23,50	25,50	24,00	26,00	P>0,05
14 ^{ème} J	14,00 ^b	25,00 ^a	30,50 ^a	30,50 ^a	P \hat{A}0,01
Moyenne des sommes des rangs	22,17	27,50	23,17	28,83	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre de panelistes n=10 ; J : jours ; P<0,01: Effet hautement significatif du facteur étudié (Doses d'extrait ajoutées au lait fermenté) ;P>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ;a, b: groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Concernant l'arrière goût, les panelistes n'ont trouvé aucune différence de ce paramètre entre l'essai à 4% d'extrait de menthe et le yaourt témoin ; 21,67 vs 22,50, somme des rangs, en moyenne. Néanmoins, l'essai à 6% d'extrait a présenté de médiocre résultat ; avec un score de 29,50 sommes des rangs, en moyenne.(Tableau 19).

Tableau19. Variations sensorielles (somme des rangs) de l'arrière gout des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta*.

Périodes (jours)	Concentrations(%) d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>				Effet d'ajout d'extrait de <i>Menthe</i>
	0	2	4	6	
1 ^{er} J	25,00	23,50	19,50	32,00	p<0,05
7 ^{ème} J	17,50 ^b	28,50 ^{ab}	23,00 ^{ab}	31,00 ^a	P \hat{A}0,01
14 ^{ème} J	25,50	26,50	22,50	25,50	P>0,05
Moyenne des sommes des rangs	22,50	26,17	21,67	29,50	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre de panelistes n=10 ; J : jours ; P<0,01: Effet hautement significatif du facteur étudié (Doses d'extrait ajoutées au lait fermenté) ;P>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ;a, b: groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1.2.3.2. Critères rhéologiques d'adhésivité et cohésivité.

Au cours de toute la période de post acidification, l'adhésivité et la cohésivité des laits fermentés préparés à 2% d'extrait de menthe ont montré des scores comparables au témoin ($p>0,05$) ; 20 vs 21,5, somme des rangs, en moyenne.

Par ailleurs, les essais à 4 et 6% d'extrait ont été moins appréciés que le témoin au plan de l'adhésivité et de la cohésivité ($P<0,01$), 26,33 vs 32,17 vs 21,50 sommes des rangs, en moyenne, respectivement.(**Tableau 20**).

Tableau20. Variations sensorielles (somme des rangs) d'adhésivité des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipérita*.

Périodes (jours)	Concentrations(%) d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipérita</i>				Effet d'ajout d'extrait de <i>Menthe</i>
	0	2	4	6	
1 ^{er} J	22,50 ^b	19,00 ^b	22,50 ^b	36,00 ^a	P \hat{A}0,01
7 ^{ème} J	27,00	17,00	29,00	27,00	p>0,05
14 ^{ème} J	15,00 ^b	24,00 ^a	27,50 ^a	33,50 ^a	P \hat{A}0,01
Moyenne des sommes des rangs	21,50	20,00	26,33	32,17	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre des panelistes de n=10 ; J : jours ; $P<0,01$: Effet hautement significatif du facteur étudié (Doses d'extrait ajoutées au lait fermenté) ; $P>0,05$: effet non significatif du facteur étudié ;a, b: groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Tableau21. Variations sensorielles (somme des rangs) de la cohésivité des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta*.

Périodes (jours)	Concentrations(%) d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>				Effet d'ajout d'extrait de <i>Menthe</i>
	0	2	4	6	
1 ^{er} J	27,00 ^{ab}	19,30 ^b	20,50 ^b	32,00 ^a	P <0,01
7 ^{ème} J	20,00	32,00	26,00	22,00	p>0,05
14 ^{ème} J	20,00 ^b	20,50 ^b	26,50 ^{ab}	33,00 ^a	P <0,01
Moyenne des sommes des rangs	22,33	23,93	24,33	29,00	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre de panelistes n=10 ; J : jours ; P<0,01: Effet hautement significatif du facteur étudié (Doses d'extrait ajoutées au lait fermenté) ; P>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; a, b: groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1.2.3.3. Odeur et couleur.

Pendant, les 14 jours de la période de post acidification l'échantillon à 2% a été le mieux apprécié par les dégustateurs au plan de l'odorat par rapport au yaourt témoin ; avec une moyenne des sommes des rangs de 23 vs 24, 3, respectivement. (Tableau 22).

Tableau22. Variations sensorielles (somme des rangs) de l'odeur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta*.

Périodes (jours)	Concentrations(%) d'extrait à l'hexane aqueux de <i>Mentha pipéríta</i>				Effet d'ajout d'extrait de <i>Menthe</i>
	0	2	4	6	
1 ^{er} J	27,50	21,00	28,00	27,50	P>0,05
7 ^{ème} J	24,00	27,00	28,00	19,00	P>0,05
14 ^{ème} J	21,50	21,00	30,00	27,50	P>0,05
Moyenne des sommes des rangs	24,33	23,00	28,67	24,67	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre de panelistes n=10 ; J : jours ; P>0,05 : effet non significatif du facteur étudié (Doses d'extrait ajoutées au lait fermenté);a, b: groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Partie 3 : Résultats et discussion.

En revanche, au cours de toute la période d'essai expérimentale, la couleur a été moins acceptée par les panelistes en fonction des taux variables de (0 à 6%) d'extrait de la plante dans les produits ; 23,67 à 26,67, somme des rangs, en moyenne.

Tableau23. Variations sensorielle (somme des rangs) de la couleur des laits fermentés additionnés d'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha pipéríta*.

Périodes (jours)	Concentrations(%) d'extrait à l'hexane de <i>Mentha pipéríta</i>				Effet d'ajout d'extrait de <i>Menthe</i>
	0	2	4	6	
1 ^{er} J	31,50	19,50	26,00	24,00	P>0,05
7 ^{ème} J	22,00	19,00	28,00	31,00	p>0,05
14 ^{ème} J	17,50 ^b	33,00 ^a	24,50 ^{ab}	25,00 ^{ab}	P \hat{A} 0,01
Moyenne des sommes des rangs	23,67	23,83	26,17	26,67	

Les résultats sont exprimés en somme des rangs avec un nombre de panelistes n=10 ; J : jours ; P>0,05 : effet non significatif du facteur étudié (Doses d'extrait ajoutées au lait fermenté) ;a, b: groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

2. Discussion.

Globalement, d'après cette étude, il apparaît possible d'ajouter les composés phénoliques extraits de la Menthe poivrée (*Mentha piperita* L) dans le yaourt et de fabriquer un lait fermenté ayant les vertus d'un aliment alicament santé pour le consommateur algérien. La Menthe poivrée peut être donc une source de plusieurs composés phénoliques bioactifs, très intéressants pour la santé humaine constitués surtout de flavonoïdes dont :hétéroside d'apégénine, diosmétine, lutéoline , éridictiol, flavonepolymothoxilé...etc. (François,2012).

Au faite, les composés phénoliques sont des molécules qui appartiennent au métabolisme secondaire des plantes. Environ 10.000 composés ont été caractérisés (Guignar , 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. 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* et de *Streptococcus salivarius*, sous-espèce *thermophilus* à partir du lait frais ainsi que du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition de substances (lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines lactosériques concentrées ou non, la caséine alimentaire ...etc.). Les micro-organismes du produit final doivent être viables et au nombre de 10^7 UFC/ml (Mahaut et al., 2000). Apparemment, l'extrait à l'hexane de *Mentha piperita* ajouté a différentes doses n'a pas affecté la croissance des germes dont le nombre est resté comparable a celui du témoin dans l'ensemble des échantillons expérimentaux.

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus bulgaricus* se développent en association dite protocoopération appelée autrefois symbiose dans des cultures mixtes (Mahaut et al., 2000). Le rôle principal de *Streptococcus thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés, augmente aussi la viscosité du lait par production d'exopolysaccharides (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 *Lactobacillus bulgaricus* possède une aptitude à fermenter davantage le lactose lors de la conservation des yaourts au froid positif à 4°C et à produire des EPS composés de galactose, glucose et de rhamnose a des rapports de 4/ 1/ 1, respectivement (Tamime, 1999).

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

Au faite, il a été bien démontré dans cette expérimentation que les composés phénoliques de la menthe poivrée objet de l'étude exercent un effet antimicrobien de type bactériostatique

et bactéricide vis-à-vis des germes spécifiques du yaourt *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Cette action des poly phénols sur les cellules des microorganismes est basée sur une multiplicité d'influences individuelles. Celles-ci n'incluent pas seulement un mécanisme physique et physico-chimique mais aussi une réaction biochimique. En générale, l'action antimicrobienne peut être expliquée par des d'effets: sur les parois cellulaires, sur l'ADN, sur la synthèse des protéines, et une influence sur l'activité des enzymes. Les polyphénols considérés comme des substances lipophiles agissent sur la cellule en perforant la membrane cellulaire. Cette perforation augmente le flux des protons vers l'intérieur de la cellule ce qui accroît le besoin en énergie (Luck et al., 1995).

Le métabolisme de ces bactéries de type exclusif homo-fermentaire (production de l'acide lactique) semble être donc freiné en présence des composés phénoliques de la menthe poivrée, avec comme conséquence une chute relative du nombre de germes spécifiques, de l'acidité et de la qualité rhéologique des produits. Toutefois, l'acidité relevée dans les laits fermentés additionnés d'extrait de menthe est proche de la normale d'un yaourt même au terme de stockage, après 21 jours de la période de post acidification.(Loones, 1994).

Les souches *Streptococcus thermophilus* et *Lctobacillus bulgaricus* présentent la faculté de produire au cours de leurs fermentation lactique des substances glucidiques composées pour l'essentiel de rhamnose, arabinose et mannose appelés exopolysaccharides (EPS) (Schmidt et al., 1994) capables de se lier au caséines du lait tout en conférant aux laits fermentés ainsi qu'au yaourt une viscosité et une qualité rhéologique particulière (Lenoir et al. ;1992). Il est couramment admis que la production d'exopolysaccharides est le résultat de l'action exercée surtout par les *Streptococcus thermophilus* au cours de la période de fermentation ou ils sont plus actives (Tamime, 1999). Ceci s'est traduit par des augmentations spectaculaires de la viscosité des laits fermentés aux 14^{ème} jours. D'après le même auteur, *Lactobacillus bulgaricus* possède aussi une aptitude à produire des exopolysaccharides mais à des quantités moindre que *Streptococcus thermophilus*. Ce qui peut expliquer en partie les relatives variations de la viscosité des produits au cours des 21^{ème} jours de conservation au froid.

Desmazeaud (2001), confirme, ainsi, que les *Lactobacillus bulgaricus* peuvent produire en phase de post acidification des exopolysaccharides formés de fructose et de glucose (2/1) à partir de divers substrats carbonés et d'accroître relativement la viscosité des laits fermentés, par rapport aux *Streptococcus thermophilus* qui sont plus actives en période de fermentation.

En outre, le nombre de germes lactique au terme de la production est conforme à la norme dictée par le codex alimentaire de 10^7 germes vivants/ml. Par ailleurs, les panelistes ont décelé de grandes différences d'adhésivité et de cohésivité entre les essais expérimentaux. Les études réalisées sur la microstructure du gel ainsi formé montrent que celle-ci dépend de plusieurs autres facteurs dont la concentration en matière sèche (Schkoda et al., 1998 ; Van marle, 1998), la méthode d'enrichissement du lait (Tamime et al., 1984), le traitement thermique subi (Kessler, 1998) et enfin, la nature des souches bactériennes utilisées et de leur capacité à synthétiser des polysaccharides exo-cellulaires (EPS) capables d'augmenter la viscosité du gel (Hassan et al., 1995).

Les dégustateurs ayant participé à l'étude ont révélé également que les critères sensoriels suivants (acidité, couleur et arrière goût) ne sont pas altérés dans les échantillons additionnés d'extrait de menthe à 2 et 4%) qui ont d'ailleurs présenté aussi une meilleure sensation de fraîcheur que le témoin.

Divers composés volatiles et aromatiques interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt. C'est principalement le lactose qui intervient dans la formation de ces composés dans une fermentation de type hétéro-fermentaire dont le métabolisme ne semble pas être énormément affecté par l'action antimicrobienne (bactéricide et/ou bactériostatique) des composés phénoliques ajoutés à de faibles taux chez les souches spécifiques du yaourt. Parmi ceux ci, l'acide lactique qui confère au yaourt son goût acidulé s'avère être produit à des teneurs suffisantes même en présence des composés phénoliques de *Mentha piperita*. L'acétaldéhyde, le diacétyl et bien d'autres composés aromatiques (acétone, acétoïne, ...etc.) produits par *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* contribuent éventuellement à l'équilibre et à la finesse de la saveur.

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

Conclusion

Au terme de cette étude et à la lumière des résultats obtenus il apparaît que l'extrait à l'hexane de *Mentha piperita* récolté dans la région de Ouaregla- Algérie riche en composés phénoliques exercent un fort pouvoir antimicrobien de type bactériostatique vis-à-vis des *Streptococcus thermophilus* et bactéricide à l'égard des *Lactobacillus bulgaricus*.

L'efficacité antimicrobienne de l'extrait pur sans dilution à l'eau est proche de la gentamicine, antibiotique à large spectre, à 82, 18% chez le germe *Streptococcus thermophilus* et à plus de 79% chez les *Lactobacillus bulgaricus* ; ce qui peut limiter de son utilisation à l'échelle industrielle dans la conservation des aliments fragiles tels les yaourts et les laits fermentés.

En effet, il a été bien établi que l'acidité, la viscosité, ainsi que l'adhésivité et la cohésivité des produits sont d'avantages altérés que le taux d'extrait à l'hexane de la menthe poivrée est rehaussé respectivement de 0, à 2, à 4 et à 6%. Toutefois, il savère possible d'incorporée l'extrait de la plante à des taux de 2 et 4% sans que ces qualités des laits fermentés ne soient affectées grandement par comparaison au yaourt témoin.

D'ailleurs, les panelistes ont mieux apprécié les produits à 4% d'extrait au plan de la fraîcheur et de l'arrière goût, ainsi que l'essai à 2% pour le critère odeur, par comparaison au témoin standard.

En perspective, il est nécessaire de procéder à une caractérisation par HPLC du profil des composés actifs constitutifs de l'extrait à l'hexane aqueux de *Mentha piperita* L objet de l'étude. Cette caractérisation permettra sans doute de comprendre le principe actif antimicrobien qui peut ne pas agir efficacement sur les germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* tout en affectant les autre germes de contamination pouvant altérer la qualité des yaourts au cours de la conservation au froid à 4°C.

D'autre études, similaires, sur spécialement *Mentha piperita* L, ainsi que chez d'autres plantes médicinales autochtones dont (armoïse, thym, romarin...etc) peuvent être menées dans une même ligne de conduite par usage de plusieurs autres solvants d'extractions à différentes polarités (méthanol, éthanol, eau... etc).

Référence

Référence :

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

Barlier, 2014. Etat des lieux de l'utilisation des huiles essentielles au CHU d'angers. 2014. Thèse de Doctorat, université Angers (france)

Benayad, N.,2008. les huiles essentielles extraites par plantes médicinales marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. 2008, Université Mohammed V–Agdal de Rabat.

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

Bruneton, J.1999."Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.". 1999. p. 483-560.

Boudier J.F. (1990) Produits frais. In laits et produits laitier. Vache – Brebis – Chèvre. Luquet, F.M.(Eds) Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, p : 35-66.

Cayot P., Lorient D.(1998) La micelle de caséine. In structures et technofonctions des protéines.

Cidil et Inra. (2009) Du lait aux produits laitiers. –Paris FRANCE : Cidil. p : 19.

Charles, D,2013., Peppermint, in Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. 2013, Springer New York. p. 469-475.

CODEX ALIMENTARIUS . (1975) Normes n°A 11(A).- Rome :FAO/OMS.p : 86.

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,p : 3413 -3421.

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

Il Edrissi, A., Etude des huiles essentielles de quelques Espèces *Salvia*, *Lavandula* et *Mentha* du Maroc. 1982. Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences de Rabat.

Farkey N., Imafidon Y. (1995) Thermal denaturation of indigenous milk enzymes. In Heat-induced changes in milk. International Dairy , Deuxième édition. Fox. P. H. (Eds) .

Iscan, G., N. Klirimer, M.n. Kürkcüoglu, H.C. Baser, and F. DEMIrci, Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002. 50(14): p. 3943-3946.

Iserin, P., Encyclopédie des plantes médicinales, in Encyclopédie des plantes médicinales, L.

Ka ániová, M., N. Vukovi , E. Horská, I. aalamon, A. Bobková, L. Hleba, M. Mellen, A. Vaták, J. Petrová, and M. Bobko, Antibacterial activity against *Clostridium* genus and antiradical activity of the essential oils from different origin. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 2014. 49(7): p. 505-512.

Kalab M., Emmons D. B., Sargant A. G. (1976) Milk gel structure V. microstructure of yoghurt as related to the heating of milk. Milchwissenschaft, 31, p :402-408.

Référence

Kumar, S., N. Wahab, and R. Warikoo, Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2011. 1(2): p. 85-88.

Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M., Ouhsine M.(2005) sélection des souches de bactéries lactiques antibactériennes. *bull-Paci Kora*, E. 2004. Interactions physicochimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impact respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur ? Thèse de doctorat de l'institut national agronomique de Paris-Grignon, science des aliments, 258pl. Sac. Pharm. Bardeaux.p : 237-250.

LAMOUREUX L. (2000) Exploitation de l'activité ² - galactosidase de culture de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. Mémoire de maîtrise, Université de Laval, Canada.

LEORY F., DEGEEST B., 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, p : 251-259.

LOONES A. (1994) Lait fermenté par des bactéries lactiques. In « bactéries lactiques ». DE ROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, 2. Paris. P : 37-151.

Loones, A. (1994) Lait fermentés par les bactéries lactiques. In *bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques*. De Roissart, H & Luquet, F. M. (Ed), Loriga, Uriage, 2, p : 135-145.

Luquet F. M., Carrieu G. (2005) Bactéries lactiques et probiotiques. Collection sciences et techniques agroalimentaires, Ed Lavoisier Tec et Doc, Paris, p : 307.

Mahaut M., Jeantet R., Brulé G and Schuck P. (2000) Les produits industriels laitiers. Tech&Doc, Lavoisier, Paris.

MARTY-TEYSSET C. DE LA TORRE F and GAREL J-R. (2000). Increased production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus delbruekii* ssp *bulgaricus* upon aeration : involvement. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), p : 262-297.

Moreira, M.D., M.C. Picanço, L.C.d.A. Barbosa, R.N.C. Guedes, M.R.d. Campos, G.A. Silva, and J.C. Martins, Plant compounds insecticide activity against Coleoptera pests of stored products. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2007. 42: p. 909-915.

Mimica-Dukic, N., B. Bozin, M. Sokovic, B. Mihajlovic, and M. Matavulj, Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Medica*, 2003. 69(5): p. 413-419.

Ministère de l'Economie et des Finances. (2009) Spécifications techniques de l'achat public lait et produits laitiers.-Paris FRANCE : OEAP. p : 47.

Mottar J., Bassier A., Joniau M., Baert J. (1989) Effet of heat-induced association of whey proteins and casein micelles on yogurt texture. *Journal of Dairy Science*, 72, p : 2247-2256.

Mouedden N.R. (2009) simulation d'un plan HACCP au niveau de la chaîne de fabrication du yaourt pour la mise en place d'un plan assurance qualité Cas laiterie yaourterie DAHRA. Mémoire de magister. Université d'Oran.

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

PISSANG T. D. (1992) contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits et produits laitiers commercialisés au Togo. Thèse : Med. Vet. : Dakar(EISMV) ; 9.

Référence

Schkoda P., Hechler A., Hinrichs J. (2001) Influence of the protein content on structural characteristics of stirred fermented milks. *Milchwissenschaft*, 56.p :19-22.

SCHMIDT J.L., TOURNEUR C et LENOIR J. (1994) Fonction et choix des bacteries lactiques laitières in « bacteries lactiques ». DE ROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, paris.2, p : 37-46.

Singh J. (1983) Influence of heat-treatment of milk and incubation températures on *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus acidophilus*. *Milchwissenschaft*, 38,p : 347348.

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

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

Tamime A.Y and Robinson R.K. (1999) *Yoghurt : Science and technology*. Woodhead Publishing Ltd, England.

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

Toroglu, S., In-vitro antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. *Journal of Environmental Biology*, 2011. 31(1): p. 23-29.

Van Marle M. (1998) Structure and rheological properties of yoghurt gels and stirred yoghurts. Theses. University of Twente, Enschede, Pays Ba.

Vignola, C. I. (2002) *Science et technologie du lait : transformation du lait*. Ed Lvoisier, Paris, p : 600.

Yadegarinia, D., L. Gachkar, M.B. Rezaei, M. Taghizadeh, S.A. Astaneh, and I. Rasooli, Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 2006. 67(12): p. 1249-1255.

Zheng, W. and S.Y. Wang, Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 2001. 49(11): p. 5165-5170.

Annexes :

1.2) Mesures de l'acidité :

1.1.1) Réactifs et appareillages :

50g de soude (NaOH,N/9)

1g de phénolphataléine (1%)

100ml d'éthanol

Burette

Béchers

Pipettes (10ml)

1.1.2) Mode opératoire :

L'acidité dornic est déterminée par titration d'un échantillon de 10ml à l'aide de soude dornic (N/9) en présence d'indicateur coloré (phénolphataléine 1% dans l'éthanol à 95ù) Jusqu'au virage au rose pal.

1.1.3) Expression des résultats : « Acidité dornic = $V_{\text{NaOH}} \cdot 10$ »

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

1.2) pH :

Le dosage du pH est réalisé par un pH-mètre étalonné par deux solutions, l'une acide et l'autre basique.

➤ Composition M17 :

Peptone	10g
Extrait de viande	5g
Extrait de levures	2.5g
Glycérophosphat de sodium	12g
Sulfate de magnésium	0.25g
Acide ascorbique	0.5g
Agar-agar	15g
Glucose	0.5g
Eau distillé	1L
Ajuster le pH du milieu entre	7.1 à 7.2

➤ **Composition de MRS :**

Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levures	5g
Glucose	20g
Tween80	1ml
Phosphate di potassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0.2g
Sulfate de manganèse	0.05g
Agar	20g
Eau distillé	1L
Ajuster le pH du milieu entre	6.4 à 6.7

➤ **Bouillon nutritif :** Pour 1 litre de milieu

Peptone	5,0 g
Extrait de viande	3,0 g
Extrait de levure	2,0g
Chlorure de sodium	5,0g
pH du milieu	7,0 ± 0,2.

➤ **Muller Hinton agar :** Pour 1 litre de milieu

Hydrolysât de caséine	17,5 g
Infusion de viande	3,0 g
Amidon	1,5 g
Agar agar bactériologique	17,0 g
pH du milieu	7,3 ± 0,2.

Eau physiologique : Pour 1 litre de milieu :

Chlorure de Sodium	9,0 g
pH du milieu	7,0 ± 0,2.