



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mlle. DEHIMECHE Nafissa

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADÉMIQUE

Spécialité: CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DES ALIMENTS

THÈME

Effets de l'extrait au méthanol aqueux de *Thymus vulgaris* L. (Thym) récolté à Naama (Algérie) sur les germes spécifiques du yaourt -Caractérisation des composés bioactifs de la plante-Essai de fabrication d'un lait fermenté.

Soutenu publiquement le 02/7/2017

Devant le Jury

M. BEN MILOUD. D	MAA	Président	U. Mostaganem
M. AIT SAADA. D	MCA	Encadreur	U. Mostaganem
M. BOUCHERF. D	Docent	Co-Encadreur	U. Mostaganem
M. BEKADA. A	Professeur	Examineur	U. Tissemsilt
M. HARROUNE. H	MAA	Invité	U. Mostaganem

Dédicaces

Je dédie ce travail avec toute la profondeur de mes sentiments :

A mes chers parents

Mes frères Abdellah et Mohammed Zaki

Mes sœurs Nadjet Samira

Atika et Fatima

A tout ma famille

*A mes collègues de promotion « contrôle de la qualité des
aliments » 2016/2017.*

Remerciements

*Avant toute chose, je remercie **ALLAH**, le tout puissant, pour m'avoir guidée dans les domaines de la connaissance et de la science.*

Je remercie Mr AIT SAADA. D et Mr BOUCHERF.D pour avoir bien voulu diriger les travaux de ce mémoire.

Je remercie également, l'ensemble des personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail.

Table des matières

Liste des abréviations	1
Liste des tableaux	2
Liste des figures	5
Introduction générale	8

Partie 1. Etude bibliographique

Chapitre 1 .Généralités sur les plantes médicinales

1. Les plantes médicinales	11
1.1. Efficacité des plantes entières	11
1.2. Contrôle de la qualité des plantes médicinales	12
2. les huiles essentielles	12
2.1. Historique et définition des huiles essentielle	12
2.1.1. Histoire	12
2.1.2. Définition	13
2.2. Huile essentielle chimotypé	14
2.3. Répartition, localisation et fonction des huiles essentielle	14
2.3.1. Répartition	14
2.3.2. Localisation	15
2.4. Fonction	15
2.5. Composition et propriétés physicochimiques	15
2.5.1. Composition chimique	15
2.5.2. Propriétés physico-chimiques	16
2.6. Facteurs de variation de composition et du rendement des HES	17
2.6.1. Facteurs intrinsèques	17
2.6.2. Facteurs extrinsèques	18
2.7. Pouvoir et activité antimicrobienne des HES	19

2.8. Propriétés et mode d'action des HES	22
2.9. Toxicité des HES	22
2.10. Domaine d'application des huiles essentielles	23
2.10.1. Secteur de parfumerie et cosmétique	23
2.10.2. Secteur de parfumerie technique	23
2.10.3. Secteur médical	23
2.10.4. Secteur alimentaire	23
2.11. Application potentielle des HES en industrie agroalimentaire	24
2.12. Procédés d'extraction des HES	26
2.12.1. Extraction par distillation	27
2.12.2. Hydro distillation	27
2.12.3. Entraînement à la vapeur d'eau	28
2.12.4. Expression à froid	28
2.12.5. Extraction par macération	29
2.13. Critère de qualité des HES	30
3. Vue d'ensemble des flavonoïdes	31

Chapitre 2 .le thym

1. Présentation de la famille des lamiacées	37
1.1. Présentation	37
1.2. Botanique	37
2. Description du genre thymus	38
2.1. Le thym	38
2.2. Les différentes appellations du thymus	38
3. usage traditionnel du thym	39
4. Description botanique	39
5. Distribution géographique	41
5.1. Le thym dans le monde	41

5.2. Le thym en Algérie	41
6. propriétés du thym	42
7. Principe actifs du thym	43
8. L'huile essentielle du thym	43
8.1. Composition chimique de HES du thym	44
8.2. Thymol et le carvacrol	44
9. Etude des composants du thym	45
10. Travaux antérieurs sur les effets bénéfiques de la plante	46
10.1. Effets antioxydants	47
10.2. Effets antimicrobiens	47

Chapitre 3 .Le yaourt

1. les laits fermentés	50
2. présentation du yaourt	50
2.1. Définition	50
2.2 .Histoire	51
3. Matière première	51
3.1. Lait frais	51
3.2. La poudre du lait	52
4 .Les bactéries caractéristiques du yaourt	52
4.1. Les bactéries lactiques	52
4.1.1. Le germe <i>Latobacillus</i>	52
4.1.1.1. <i>Lactobacillus bilgaricus</i>	53
4.1.2. Le genre <i>Streptococcus</i>	53
4.1.2.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	54
4.1.3. Bifidobactéries	54
4.2. Activité antimicrobienne des bactéries probiotiques	55
4.3. Propriétés des bactéries lactiques	55

4.3.1. Propriété acidifiante	55
4.4. Emploi des bactéries probiotiques dans les produits laitiers	56
4.5. Intérêts et fonctions des bactéries lactiques du yaourt	57
4.5.1. Production d'acide lactique	57
4.5.2. Activité protiolitique	57
4.5.3. Activité aromatique	57
4.5.4. Activité texturante	58
4.6. Comportement associatif des deux souches	58
5. Les différents types de yaourts	60
6. Technologie du yaourt	60
6.1. Standardisation du mélange	60
6.2. Traitement thermique	61
6.3. Ensemencement	61
6.4. Réchauffage	62
6.5. Etuvage / brassage	62
6.5.1. Phase d'incubation (étuvage)	62
6.5.2. Brassage	62
7. Conservation des yaourts	63
8. Qualités du yaourt	64
8.1. Aspects physio –chimiques	64
8.2. Aspects hygiénique	65
8.3. Qualité organoleptique	65

Partie 2 .Méthodes expérimentales

1. Objectifs	67
2. Matière végétal	67
2.1. Extraction des composés bioactifs	68
3. Etude chimique et phyto-chimiques de l'extrait <i>Thymus vulgaris</i> L.	69

3.1. Teneur en eau	69
3.2. Rendement	69
3.3. Etude phyto-chimique de l'extrait hydrométhanolique	70
3.3.1. Flavonoïdes	70
3.3.2. Tanins et autres composés phénoliques	70
3.3.3. Alcaloïdes	71
3.3.4. Caractérisation des composés bioactifs de thym par chromatographie sur couche mince (CCM)	71
3.3.5. Dosage des polyphénols totaux	73
3.3.6. Dosage des flavonoïdes	74
3.3.7. Caractérisation des composés bioactifs du thym par chromatographie liquide à haute performance	74
4. Etude des effets antimicrobiens des extraits de thym au méthanol récolté de la région de Naama- Algérie	75
4.1. Activation des inocula microbienne	76
4.2. Méthode de contact direct	76
4.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose	77
4.4. Détermination de la CMI	78
4.5. Détermination de la CMB	79
5. Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi de l'extrait hydrométhanolique de thym	80
5.1. Protocole expérimentale	80
5.2. Préparation des levains	81
5.3. Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux	81
5.4. Mesures et contrôle des laits fermentés	83
5.4.1. Paramètres physicochimiques	83
5.4.1.1. Acidité	83
5.4.1.2. Ph	83

5.4.1.3. Viscosité	83
5.5. Analyses microbiologiques	84
5.6. Tests organoleptiques	84
6. Traitement statistique	85

Partie 3. Résultats et discussion

Chapitre I : Caractérisation quantitative et qualitative de l'extrait hydro-alcoolique de *Thymus vulgaris* L.

1-Résultats	88
1.1. Analyses organoleptiques	88
1.2. Composition chimique du thym	88
1.3 Etude phyto-chimique qualitative	89
1.4. Etude quantitative des composés bioactifs de l'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> L.	91
1.4.1. Poly-phénols et flavonoïdes	91
1.4.2. Profil en composés bioactifs	92
2. Discussion	94
3. Conclusion	99

Chapitre II. Effet antimicrobien de l'extrait hydrométanolique de *Thymus vulgaris* L.

Chez *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

1-Résultats	101
1.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	101
1.1.1. Diamètres d'inhibitions	101
1.1.2. Taux d'inhibition	103
1.1.3. Méthode de contact direct	103
1.1.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	105
1.1.5. Concentration minimale bactéricide (CMB)	106
2.1. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	107
1.2.1. Diamètres d'inhibitions	107

1.2.2. Taux d'inhibition	108
1.2.3. Méthode de contact direct	109
1.2.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	111
1.2.5. Concentration minimale bactéricide (CMB)	111
2. Discussion	113
3. Conclusion	116

Chapitre III. Effet de l'extrait hydrométhanolique du thym sur la qualité des laits fermentés.

1. Résultats	118
1.1. Analyses physicochimiques	118
1.1.1. Ph	118
1.1.2. Acidité	119
1.1.3. Viscosité	121
1.2. Analyses microbiologiques	123
1.2.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	123
1.2.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	125
1.3. Test organoleptique	127
1.3.1. Goût acide	127
1.3.2. Goût de fraîcheur	128
1.3.3. Cohésivité	129
1.3.4. Adhésivité	130
1.3.5. Odeur	131
1.3.6. Arrière-goût	132
1.3.7. Couleur	132
2. Discussion	134
3. Conclusion	138
Annexes	140
Conclusion générale	147
Références	151

Liste des abréviations

°D : Degré Dornic.

µg Eq Q: Microgramme d'équivalent quercétine.

µg EqAg: Microgramme d'équivalent acide gallique.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ANOVA : Analyse de variance.

BAW : n-Butanol-Acide acétique-eau.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

Eps : Exopolysacharides.

FAO : Food and Agriculture Organisation.

HECT : Huiles Essentielles Chemo-Typées.

HPLC: Chromatographie liquide à haute performance.

IC50: Concentration inhibitrice à 50%.

Lb : *Lactobacillus bulgaricus*.

MH : Muller Hinton.

MRS : Gélose de Man rogosasharpe.

Rf : Rapport frontal.

ROS : Reactiveoxygenspecies.

St : *Streptococcus thermophilus*.

Tr : Temps de rétention.

UFC : Unité formant Colonie.

Liste des tableaux

Tableau 1. Composition chimique de l'huile essentielle de thym (%)	16
Tableau 2. Concentration minimale d'inhibition(CMI) des composants des huiles essentielles	21
Tableau 3. Avantages et Inconvénients des différents procédés d'extraction	30
Tableau 4. Les principales classes des composées phénoliques	32
Tableau 5. Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	39
Tableau 6. Localisation des principales espèces du thym en Algérie	42
Tableau 7. Pourcentages relatifs de molécules majoritaires d'huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> L.	45
Tableau 8. Teneur en polyphénol (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du <i>Thymus vulgaris</i> L.	45
Tableau 9. Les flavonoïdes trouvés par plusieurs auteurs dans les feuilles du <i>Thymus vulgaris</i> L	46
Tableau 10. Concentrations des extraits de <i>Thymus vulgaris</i> L. obtenus par macération	77
Tableau 11. Caractéristiques organoleptiques de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L	88
Tableau 12. Composition chimique et rendement d'extraction hydrométhanolique de la partie aérienne de <i>Thymus vulgaris</i> L	89
Tableau 13. Caractérisation phytochimique des principaux composés bioactifs de l'extrait hydro-alcoolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	89
Tableau 14. Relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes de <i>Thymus vulgaris</i> 91	
Tableau 15. Teneurs en poly-phénols et en flavonoïdes de l'extrait hydro-alcoolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	91

Tableau 16. Caractérisation des principaux composés bioactifs de l'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> L	93
Tableau 17. Effet des différentes dilutions de l'extrait hydroalcoolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.sur les variations des diamètres d'inhibition chez <i>Streptococcus thermophilus</i>	102
Tableau 18. Effet des différentes solutions de l'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> sur le développement des taux d'inhibitions chez <i>Streptococcus thermophilus</i>	103
Tableau 19. Effet des différentes dilutions de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Thymus vulgaris</i> sur la croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i> .	105
Tableau 20. Evaluation de la Concentration Minimale Inhibitrice des solutions de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L. chez <i>Streptococcus thermophilus</i> .	105
Tableau 21. Action inhibitrice de l'extrait hydro-méthnolique de <i>Thymus vulgaris</i> L. chez <i>Streptococcus thermophilus</i>	106
Tableau 22. Effet des différentes dilutions de l'extrait <i>Thymus vulgaris</i> L.sur les variations des diamètres d'inhibition chez <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	108
Tableau 23. Effet des différentes dilutions de l'extrait bioactif de <i>Thymus vulgaris</i> L.sur les variations des taux d'inhibitions chez <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	109
Tableau 24. Effet des différentes dilutions de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L. sur la croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	110
Tableau 25 .Evaluation de la Concentration Minimale Inhibitrice des solutions d'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> L.chez <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	111
Tableau 26. Action inhibitrice de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.chez <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	112
Tableau 27. Evolution de pH des laits fermentés additionnés d'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	119
Tableau 28. Evolution de l'acidité (^o D) des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	121
Tableau 29. Evolution de la viscosité (Kg/ms) des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> .L.	123

Tableau 30. Evolution du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> (N×104 UFC/ml) des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	125
Tableau 31. Evolution du nombre de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (N×104 UFC/ml) des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	127
Tableau 32. Variation du goût acide des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	128
Tableau 33. Variation du goût de fraîcheur des laits fermentés additionnés d'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	129
Tableau 34. Variation de la cohésivité des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	130
Tableau 35. Variation de l'adhésivité des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> .L.	131
Tableau 36. Variation de l'odeur des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	131
Tableau 37 .Variation de l'arrière-goût des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	132
Tableau 38 .Variation de la couleur des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	133
Tableau 39. Résultats de la séparation par CCM de l'extrait du thym au méthanol dans le système solvant : B.A.W. (60 : 15 : 25).(Annexe).	

Liste des figures

Figure 01 .Structure de phénol	20
Figure 02. Schéma représentant les domaines d'application des HES.	24
Figure 03. Mécanisme d'action d'un antioxydant	26
Figure 04. Schéma représente l'hydrodistillation	27
Figure 05. Schéma représente la distillation par expression à froid	28
Figure 06. Schéma représente la macération de la matière végétale	29
Figure 07. Structure de base d'un flavonoïde	33
Figure 08. Les principales classes de flavonoïdes	33
Figure 09 .Le <i>Thymus vulgaris</i> L.	38
Figure 10. Aspect morphologique du <i>Thymus vulgaris</i> L.	40
Figure 11 .Coupe transversale d'une feuille de thym observé au microscope photonique	40
Figure 12 .Structure de base du thymol et du carvacrol	44
Figure 13. Les bactéries lactiques du yaourt. (Vue microscopique).	54
Figure 14 .Effet des probiotiques sur la santé humaine	55
Figure15. Schéma illustrant les interactions de <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i> en culture mixte dans le lait	59
Figure 16. Diagramme de fabrication des yaourts.	64
Figure 17. Région d'étude (mechria ,Naama)	67
Figure 18. Méthode d'activation des deux souches (<i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i>).	76
Figure 19 .Méthode de détermination de la CMI des extraits de thym.	79

Figure 20. Méthode de la détermination de la CMB de l'extrait hydrométhanolique chez <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	80
Figure 21. Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux.	82
Figure 22. Caractérisation(en tube) des composés bioactifs (polyphénol, flavonoïdes, tanins et alcaloïdes) du <i>Thymus vulgaris</i> L.	90
Figure 23. Chromatogrammes des principaux composés bioactifs de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	90
Figure 24. Chromatogramme des principaux composés bioactifs de l'extrait hydrométhanolique du <i>Thymus vulgaris</i> L.	92
Figure 25. Effet des solutions d'extrait hydro-méthanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L préparées à (20,40, 60, 80,100%) et de la pénicilline sur le diamètre d'inhibition chez <i>Streptococcus thermophilus</i> .	101
Figure 26. Effet des solutions de l'extrait hydro-alcoolique de Thym sur la croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i>	104
Figure 27. Déterminations de la CMB des solutions d'extrait de Thym chez <i>Streptococcus thermophilus</i> .	106
Figure 28. Diamètres d'inhibition des solutions hydro-alcooliques de l'extrait de thym, ainsi que de la pénicilline chez <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	107
Figure 29. Effets des solutions de l'extrait de Thym sur la croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	110
Figure 30. Déterminations de la CMB de l'extrait hydro-méthanolique de Thym chez <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	112
Figure 31. Evolution de pH des laits fermentés additionnés d'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	118
Figure 32. Evolution de l'acidité Dornic des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	120
Figure 33. Evolution de la viscosité des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L.	122

Figure 34. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* (N×10⁴ UFC/ml) des laits fermentés additionnés De l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris* L. 124

Figure 35. Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* (N×10⁴ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*L. 126

Figure 36. Les chromatogrammes des composés identifiées par HPLC(**Annexe**).

Figure 37. Droite d'étalonnage des polyphénols(**Annexe**).

Figure 38. Droite d'étalonnage des flavonoïdes(**Annexe**).

Introduction générale

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle biologique de vie des autres organismes vivants tel que les animaux ainsi que les êtres humains. L'ensemble de ses organes forme une usine productrice, des milliers de substances qui sont différentes sur le plan structurel ainsi que biologique.

La tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances. Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des principes actifs de ces plantes dans le domaine alimentaire.

En raison de l'impact des aliments avariés sur l'économie et des préoccupations du consommateur sur la sécurité des aliments contenant des produits chimiques, beaucoup d'attention a été accordée aux composés d'origines naturels (**valero,2003**).

Ces dernières années, un intérêt considérable a été accordé aux principes actifs extraits à partir de plantes aromatiques et dotées d'activités antimicrobiennes vis-à-vis d'agents pathogènes et / ou des micro-organismes produisant des toxines dans les aliments (**Soliman,2002**).

Les études qui ont été réalisées jusqu'à maintenant, montrent que les extraits des plantes médicinales peuvent être appliqués à tous les aliments.L'évaluation des propriétés antimicrobiennes des extraits demeure très importante pour les exploiter dans l'industrie comme étant des conservateurs naturels (**Guesmi et Bodarousse, 2006**).

Cependant, un autre aspect à prendre en compte, c'est de vérifier que les principaux composés bioactifs sélectionnée n'ont pas d'effet antimicrobien contre les bactéries utiles, notamment les ferments d'acidification, d'aromatisation et d'affinage, indispensables à la fabrication des produits alimentaires. Moyennant ces précautions d'usage, l'emploi des extraits des plantes médicinales lors de la transformation des aliments peut présenter un triple intérêt ; aromatisant, antioxydant et antimicrobien (**Oussalah et al., 2007**).

En effet, dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne en général et celle de la région de Naama en particulier, on s'est intéressé à une espèce de la famille des labiées qui est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien.

La plante sur laquelle a porté notre choix, est une espèce de thym (*Thymus vulgaris*L.) provenant de la région de Mechria à Naama au Sud d'Algérie.

D'une façon générale, les objectifs fixés à travers cette étude expérimentale s'articulent autour de 4 axes essentiels :

- 1- Procéder à une extraction des principaux composés bioactifs de la plante par usage d'un solvant polaire à savoir le Méthanol ;
- 2- Faire une caractérisation phyto-chimique des principaux composés bioactifs du matériel végétal objet de l'étude(*Thymus vulgaris*L.);
- 3- Suivre les effets antimicrobiens de l'extrait au méthanol de l'espèce de thym sur les germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* en vue de comprendre le type d'action inhibitrice que peuvent exercer les principaux composés bioactifs de la plante obtenus par usage de méthanol aqueux comme solvant d'extraction sur ces deux germes spécifiques du yaourt ;
- 4- Essayer, enfin, d'incorporer les extraits de *Thymus vulgaris* dans la fabrication d'un lait fermenté type yaourt ferme en vue de suivre leurs effets sur la stabilité et la qualité des produits transformés (laits fermentés) durant 21 jours de conservation au froid, à 4 °C.

Problématique

Ces effets antibactériens que revêtent les extraits des plantes médicinales nous ont conduit à poser la question suivante : « Est ce que l'utilisation de l' extrait au méthanol aqueux de l'espèce végétale autochtone *Thymus vulgaris*L. comme adjuvant dans certains produits laitiers (tels les yaourts par exemple) peut avoir un effet sur la croissance des ferments lactiques tels, que les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* qui présentent des intérêts variés (industriel et nutritionnel) ?

Hypothèses

A cet égard, cette problématique nous a conduit à poser les hypothèses suivantes :

- 1^{ère} Hypothèse :Le thym est riche en composés bioactifs dont notamment les polyphénols et les flavonoïdes.
- 2^{ème} Hypothèse :Le thym à un effet inhibiteur de type bactéricide ou bactériostatique sur la croissance des bactéries lactiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

- 3^{ème} Hypothèse : L'ajout de ces extraits réduit la qualité du lait fermenté de type yaourt au cours de la conservation.

Méthodes

Dans cette recherche, nous avons utilisé deux méthodes :

- la méthode descriptive,
- et la méthode hypothético-inductive.

1. Les plantes médicinales

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source alimentaire principale pour se nourrir et comme médicaments et afin de soigner les différentes maladies. De nos jours, il s'avère que plus de 25% des médicaments dans seulement les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (**Damintoti et al., 2005**).

Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques (**Madi, 2010**).

La définition d'une plante médicinale est donc très simple ; en fait, il s'agit d'une plante riche en plusieurs composés bioactifs possédant des propriétés médicamenteuses, cette plante est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. (**Farnsworth et al., 1986**).

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**).

1.1. Efficacité des plantes entières

La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi "totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants. Elle contient des centaines, voire des milliers de substances chimiques actives (**Iserin et al., 2001**).

Les plantes médicinales (figure1) sont toutes les plantes qui ont une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques, cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent bénéfiquement sur l'organisme humain.

Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection de boissons, soit nature, soit en préparation galénique, soit encore sous forme de principes actifs, comme matière pour l'obtention de médicaments (**Benkiki, 2006**).

1.2. Contrôle de la qualité des plantes médicinales

Afin de tirer le meilleur parti des plantes médicinales, il convient de veiller à ce que les herbes et leurs dérivés soient d'excellente qualité. Cela exige qu'elles soient cultivées dans de bonnes conditions, correctement séchées, bien conservées et que leur date limite de consommation soit respectée.

Une des raisons pour lesquelles la profession médicale s'est, dans son ensemble, tournée vers les remèdes conventionnels, en délaissant les plantes médicinales réside dans la difficulté qu'elle avait à garantir la qualité des soins procurés par les herbes.

Afin d'obtenir des produits d'excellente qualité, les fabricants de plantes médicinales doivent suivre des procédures de contrôle très strictes (appelées « bonnes pratiques de fabrication » ou BPF). Celles-ci incluent l'obligation de valider les plantes séchées selon les normes établies dans les pharmacopées (ouvrages de référence standard fournissant les caractéristiques d'une plante particulière). Le contrôle de la qualité prévoit de fréquentes vérifications destinées à veiller à ce que les matières premières répondent bien aux critères requis et peuvent satisfaire les exigences minimales.

Les herbes sont inspectées à l'œil nu, puis analysées au microscope pour s'assurer que leurs caractères botaniques sont ceux exigés par les pharmacopées. Des vérifications biochimiques sont ensuite effectuées pour contrôler la présence des principes actifs à des teneurs minimales fixées par les pharmacopées et pour s'assurer de l'absence de contamination. En analysant la « signature chimique » d'une plante en la comparant avec sa composition « témoin », il est possible de valider son identité et sa qualité (FAO, 2015).

2. Les huiles essentielles

2.1. Historique et définition des huiles essentielles

2.1.1. Histoire

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les ont utilisées autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner (Bakkali, 2008).

L'utilisation des huiles essentielles remonte à plus de quatre mille ans avant notre ère. En effet, les historiens rapportent que les égyptiens savaient comment préparer une essence végétale à partir des conifères. La Chine, la Perse et l'Inde, sont des pays où la distillation se pratiquait depuis déjà des millénaires. Les grecs à leur tour, connaissaient la distillation et l'enseignaient aux romains (**Zhiri ,2006**).

Au moyen âge, les arabes découvrent la distillation en se servant d'un alambic dont le modèle n'a pas changé depuis. Les arabes ont toujours importé des épices, plantes et substances odoriférantes, qu'ils vendaient en l'état ou après transformation (**Lais ,2001**).

Au XII siècle, la pharmacie naissante favorise le développement de la distillation. Actuellement dans les pays développés, les huiles essentielles sont considérées comme des médicaments à part entière et font objet de contrôles scientifiques pour leur emploi dans l'aromathérapie ; mais cette dernière exige des huiles essentielles pures et naturelles (**Valent ,2001**).

2.2.2. Définition

beaucoup de travaux sont réalisés dans ce sens, du fait de l'importance incontestable des huiles essentielles dans divers secteurs économiques, comme par exemple, l'industrie de la parfumerie et de la cosmétique, l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et plus particulièrement, la branche de l'aromathérapie qui utilise leurs propriétés bactéricides et fongicides.

C'est un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec **AFNOR (2000)**.

Cette définition est cependant restrictive car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé.

Le terme huiles essentielles (HE) dérive de « quintaessentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante.

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverses parties des végétaux. Elles sont concentrées, volatiles, non

huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur(Belhadi, 2010). Une huile essentielle contient en moyenne soixante-quinze molécules actives

L'essence se différencie de l'huile essentielle, il s'agit d'une substance aromatique naturelle que secrète la plante dans ses organes producteurs.

L'aromathérapie à son tour est l'utilisation médicale des extraits aromatiques de plantes. Ce mot vient du latin « aroma »signifiant odeur et du grec « therapeia » signifiant traitement. Il s'agit donc de soigner à l'aide de principe odorifères(Chami et al, 2004).

Quant à L'Aromatologie ou l'aromathérapie scientifique c'est une science qui met en relation la biochimie aromatique et les activités thérapeutiques des huiles essentielles.

2.2. Huiles Essentielles ChemoTypées (HECT)

Les H.E.C.T. correspondent aux Huiles Essentielles ChemoTypées qui sont une forme de classification chimique, botanique et biologique de la molécule présente en majorité dans une huile essentielle.

Par exemple, l'H.E.C.T.de *Thymus vulgaris* à carvacrol est connue pour son activité antiseptique majoritairement alors que l'H.E.C.T. de *Thymus vulgaris* à thymol a des propriétés anti-infectieuses majeures. (Franchomme et al.,2012).

2.3. Répartition, localisation et fonction des Huiles essentielles

2.3.1. Répartition

Les huiles essentielles sont rencontrées dans divers familles botaniques, se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules spécialisées.

Le végétal aromatique fabrique de faibles quantités des huiles essentielles dans ses cellules excrétrices, de 0.01% à 5% de son poids, qu'il concentre ensuite dans des poches situées dans certains de ses parties (soit endogènes soit exogènes) : fleur, fruit, feuille, tige, rhizome, écorce... etc(Dorman et al., 2000).

2.3.2.Localisation

Les Huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices (accumulent dans des cellules glandulaires spécialisées), situées sur ou à proximité de la surface des tissus de plantes (recouvertes d'une cuticule). Ensuite, elles sont stockées dans des cellules (dite cellules à huiles essentielles) « Lauraceae », dans des poils sécréteurs « Lamiaceae », dans des poches sécrétrices « Myrtaceae ou Rutaceae » ou dans des canaux sécréteurs « Apiaceae ou Asteraceae ». Elles sont situées dans des glandes minuscules dans différentes parties de la plante aromatique.

2.4. Fonction

Il est bien connu que les huiles essentielles exercent un chimiotactisme en attirant les abeilles pour féconder les fleurs.

Par leurs propriétés fongicides et bactéricides, ils protègent les parties durables des plantes contre l'attaque des microorganismes nuisibles.

Les HE favorisent aussi, la pollinisation en attirant les insectes pollinisateurs tout en exerçant une action répulsive contre les animaux herbivores (**Haddad, 1993**).

2.5. Composition et Propriétés physico-chimiques

2.5.1. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent de façon quasi exclusive, à deux groupes de biosynthèse: Le groupe de terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés (**Guenter, 1975**).

Les HES contiennent jusqu'à 20 à 60 composés à des concentrations différentes (**tableau1**) . Ils sont caractérisés par deux ou trois composés majoritaires avec des concentrations nettement élevées (20-70%) par rapport aux autres composés présents en faible quantité. Généralement, les composés majoritaires déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles (**Bakkali et al.,2008**).

Tableau 1. Composition chimique de l'huile essentielle de thym (%).

La composition chimique de l'huile essentielle de thym est :

Molécule	Soto mendivil et al (2006)	Porte et Godoy (2007)	Imelouane et al(2009)	Martino et al (2009)
Thymol	16.6	44.7	0.24	48.9
Camphre	3	0	38.54	0.2
Bornéol	28.4	0.5	4.92	1.7
p-cymène	2.4	18.6	1.19	19
Camphène	6.9	0.3	17.19	0.8
y-terpinène	1.7	16.5	0.55	4.1
Carvacrol éther de méthyle	9.6	0	0	1.7
α pinène	4.2	0.8	9.35	1.2
α humulène	6.4	0	0	0.3
1,8 cinéole	0.1	0	5.45	0.7
Carvacrol	5	2.4	0	3.5

Source:(Ciquel,2012).

2.5.2. Propriétés physico-chimiques

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les Huiles Essentielles forment un groupe très homogène.

Les principales caractéristiques sont : Liquides à température ambiante ; Volatiles et très rarement colorées ; Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur monoterpènes ;Un indice de réfraction variable solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau ; douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont

formées principalement de composés asymétriques très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité(**Bruneton, 1993**).

2.6. Facteurs de variation de la composition et du rendement des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement en principaux composés bioactifs des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent des huiles essentielles peuvent être très différentes(**Benini, 2007**). Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque ou extrinsèque.

2.6.1.Facteurs intrinsèques

a) Cycle végétatif : pour une espèce donnée la proportion des différents éléments constitutifs de l'huile essentielle peut varier de façon importante tout au long du développement. Ainsi des changements importants sont observés au cours du cycle végétatif de la plante.

b)Organe producteur : tous les organismes de mêmes espèces peuvent renfermer une huile essentielle, dont la composition peut varier selon sa localisation.

c) Origine botanique: la teneur en huile essentielle ainsi que sa composition peuvent varier d'une espèce végétale à une autre.

d)Chémotype : Un Chémotype est une race chimique. En effet, une même espèce végétale peut fournir des huiles essentielles de compositions chimiques différentes. Ces différences sont dues à la période de récolte des plantes, au mode d'extraction utilisé et aux facteurs environnementaux (altitude, ensoleillement, nature du sol, ...)

.e)Tissus sécréteurs : l'huile essentielle est produite et stockée dans les tissus sécréteurs de la plante. Ces tissus sont divisés en deux groupes, Ceux qui produisent l'huile essentielle sur la surface de la plante et qui sécrètent habituellement des substances directement à l'extérieur (**Fellah et al2006**).

2.6.2.Facteurs extrinsèques

Parmi les facteurs extrinsèques, il est retrouvé souvent :

a) Conditions climatiques et environnementales

Les conditions climatiques et environnementales influencent directement sur la production d'huiles essentielles de la plante. En effet, un climat sec et ensoleillé favorise leur production, cause pour laquelle les plantes sont plus riches en huiles essentielles.

Le taux d'humidité, la pluviométrie et les conditions édaphiques (composition du sol) représentent aussi autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée (**Fellah et al., 2006**).

Pour la même espèce, de même génotype et de même stade de développement, les facteurs extrinsèques peuvent engendrer des modifications quantitatives et qualitatives importantes en huiles essentielles. Il est à remarquer que les deux facteurs extrinsèques les plus importants qui influencent la production d'huiles essentielles sont le climat (température et lumière) et le sol (eau et fertilisants).

La composition chimique en huiles essentielles peut varier aussi en fonction du cycle circadien et des saisons (**Anton, Lobstein, 2005**). Ainsi que l'heure et le moment de l'année sont également des facteurs importants qu'il faut prendre en considération lors de la récolte du matériel végétal (**Lahlou, 2004**).

b) Effet du stade de développement et période de récolte de la plante

L'importance du choix de la période de récolte pour obtenir une huile de qualité et de quantité. Ils ont trouvé que le rendement diffère d'une période à une autre. De même, ils ont montré l'influence de l'âge ou le stade de développement de la plante sur le rendement et la composition de l'huile. L'origine, les conditions climatiques et la partie extraite (feuille et/ ou fleur) de l'espèce peuvent influencer sur la composition de l'huile essentielle.

2.7. Pouvoir et activité antimicrobienne des huiles essentielles

De nos jours, le développement des techniques d'analyses chimiques a permis de révéler qu'une espèce végétale est une usine qui peut synthétiser des milliers de constituants chimiques différents. Ceux-ci appartiennent à deux types de métabolites : primaires et secondaires.

Les métabolites secondaires peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal.

Ces métabolites secondaires exercent cependant une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. Ils participent ainsi, de manière très efficace, à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaque de pathogènes, prédation d'insectes, sécheresse, lumière UV, ...). D'un point de vue application, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales (**Colmar, 2007**). .

Les huiles essentielles et leurs pouvoirs pour combattre les infections sont un des domaines les mieux étudiés (**Turbide, 2009**).

L'intérêt de l'utilisation des huiles essentielles est évident: elles peuvent être un remède naturel, dont l'action n'est ni invasive ni agressive. Bien prescrites par les thérapeutes, elles peuvent traiter diverses infections et remplacer à moindre coût et risques les antibiotiques.

Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets: une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. Le plus souvent, l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides (**Zhiri, 2006**).

L'activité biologique des huiles essentielles est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effet synergiques (**Lahlou, 2004**).

Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols. Ces derniers constituent le réservoir de molécules guérisseuses d'un grand nombre de maladies connues et sont l'arme de défense du règne végétal(**Pibiri, 2006**).

Les phénols(**Figure 1**) entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quel que soit leur localisation (**Zhiri, 2006**).

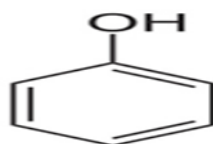


Figure 1 .Structure de phénol(**Zhiri,2006**)

Les alcools avec 10 atomes de carbones ou (monoterpénols) viennent immédiatement après les phénols, en termes d'activité (**Dorman et Deans, 2000**).

Les groupes moléculaires avec les plus puissantes actions antibactériennes sont également des antifongiques efficaces mais ils doivent être utilisés sur de plus longues périodes. Des études fondamentales ont également montré que les alcools et les lactones sésquiterpéniques avaient une activité antifongique très intéressante (**Dorman et Deans, 2000**).

De nombreuses familles de molécules ont montré in vitro une activité antivirale et parmi elles, les monoterpénols et les monoterpénals. Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques et de nombreuses pathologies virales sévères montrent des améliorations importantes avec leurs utilisations (**Zhiri, 2006**).

L'observation sur les effets contre les bactéries et les champignons pathogènes est due à une activité chimique directe. La toxicité des huiles essentielles sur les germes explique les actions fongicides, bactériostatique, bactéricide et bactériolytique (**tableau 2**).Les huiles essentielles apportent une alternative efficace et valable sur le plan antibactérien pour plusieurs raisons. Leurs mélanges synergiques éliminent les germes sans possibilité de créer une résistance. Elles sont toxiques, stimulent l'immunité et la résistance de l'organisme .Les huiles essentielles n'ont pas d'effets secondaires si on les compare aux antibiotiques(**Turbide, 2009**).

Tableau2.concentration minimale d'inhibition(CMI) des composants des huiles essentielles.

La CMI est donnée en $\mu\text{l} / \text{ml}$ en supposant que huile essentielle à la même masse volumique de l'eau.

Composants d'huile essentielle	Bactérie	CMI ($\mu\text{l}/\text{ml}$)	Référence
α terpinéol	Escherichia coli	0.450 0.9	Consentino et al.,1999
	Salmonella typhimurum	0.225	
	Staphylococcus aureus	0.9	
	Listeria monocytogenes	≥ 0.9	
	Bacillus cereus	0.9	
Carvacrol	Escherichia coli	0.225 -5	Kim et al.,1995 Lambert et al.,2001
	Salmonella typhimurum	0.225-0.25	
	Staphylococcus aureus	0.175-0.450	
		0.375-5	
Eugénol	Escherichia coli	1.0	Kim et al.,1995
	Salmonella typhimurum	0.5	
	Listeria monocytogene	≥ 1.0	
Géraniol	Escherichia coli	0.5	Kim et al.,1995
	Salmonella typhimurum	0.5	
	Listeria monocytogenes	1.0	
Perillaldehyde	Escherichia coli	0.5	Kim et al.,1995
	Salmonella typhimurum	0.5	
	Listeria monocytogenes	1.0	

2.8. Propriétés et mode d'action des huiles essentielles

Les mécanismes antibactériens des huiles essentielles sont relativement bien connus. Une des possibilités d'action est la génération de lésions irréversibles sur la membrane des cellules bactériennes, qui induisent des pertes de matière cytoplasmique, perte de sel, perte de substrats énergétiques (glucose, ATP), amenant directement à la lyse de la bactérie (cytolyse) et donc à sa mort. Une autre possibilité d'action est l'inhibition de la production par les bactéries des toxines responsables du déclenchement des processus infectieux (**Karuna, 2006**).

Les modes d'actions antifongiques sont assez semblables à ceux décrits pour les bactéries. Cependant, il faut deux phénomènes supplémentaires inhibant l'action des levures: l'établissement d'un gradient de pH et le blocage de la production d'énergie «phénomène de respiration» (**Karuna, 2006**).

Deux ou trois familles de molécules aromatiques présentes dans certaines huiles essentielles sont capables d'avoir une activité vermifuge ou vermicide : les aldéhydes aromatiques, les phénols aromatiques et les cétones terpéniques, auxquels il faut ajouter un oxyde terpénique particulier, l'ascaridol. Ces molécules sont très puissantes et sont également dotées d'une toxicité certaine pour l'animal comme pour l'homme (**Karuna, 2006**).

2.9. Toxicité des huiles essentielles

Certaines substances naturelles peuvent présenter des effets néfastes pour l'homme au même titre que certaines substances de synthèse. Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses. Les inflammations cutanées siègent de manière privilégiée sur les paupières et les aisselles. De plus, certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques (**Miller et al., 2006**).

La toxicité des huiles essentielles peut aussi provenir des contaminants (si l'huile essentielle est impure) et/ou des produits de dégradation de celles-ci car elles se modifient à l'air, à la chaleur et à la lumière.

2.10.Domains d'application HES

Les plantes aromatiques donnent les HES, essences destinées à l'utilisation industrielle. Ces HES ne sont pas forcément des produits finaux dans la mesure où, une fois produites, elles peuvent servir d'intrants à la fabrication de plusieurs produits.

Les HES sont destinées à quatre grands secteurs industriels (**figure 2**).

2.10.1.Secteur parfumerie et cosmétique :La consommation d'huiles dans ce secteur se caractérise par le besoin d'une très grande variété de produits, de quantités relativement faibles et de prix souvent élevés.

2.10.2. Secteur parfumerie technique : La parfumerie technique (qui comprend les produits d'entretien ménager domestiques ou industriels) a également recours aux HES pour l'image de propreté à laquelle elles sont associées, mais aussi parfois pour leurs propriétés antiseptiques. Par exemple, la citronnelle dégage un parfum qui indique au visiteur que l'endroit a été fraîchement lavé. Dans ce secteur, l'industrie consomme de grandes quantités d'huiles, au meilleur prix possible, car l'industrie désire garder le prix de revient de son produit au minimum.

2.10.3. Secteur médicinal : Les huiles à utilisation médicinale peuvent être vendues pures en petits flacons ou sous forme de vaporisateurs, de pastilles, de bonbons... Ces huiles peuvent également être utilisées comme inhalant pour soulager les difficultés respiratoires, comme dentifrice (dans l'eau), ainsi que pour rafraîchir ou soulager la gorge. Les propriétés médicinales des HES sont nombreuses, mais chacune possède ses vertus particulières (**Nicole, 1996**).

Par conséquent, les HES ont une variété d'applications et, dans bien des cas, la même huile peut être recherchée pour des propriétés différentes selon les secteurs industriels.

2.10.4. Secteur alimentaire : L'industrie alimentaire utilise les HES pour rehausser le goût des aliments, pour parfumer et colorer. Le secteur des boissons gazeuses s'avère un gros consommateur d'huiles. Aussi, les fabricants d'aliments préparés les utilisent de plus en plus parce que le nombre de produits augmente et le consommateur recherche d'avantage les produits avec des ingrédients naturels. Dans ce secteur, les volumes d'HES peuvent être très importants. L'huile la plus utilisée dans le monde est l'HES d'orange (**Nicole, 1996**).

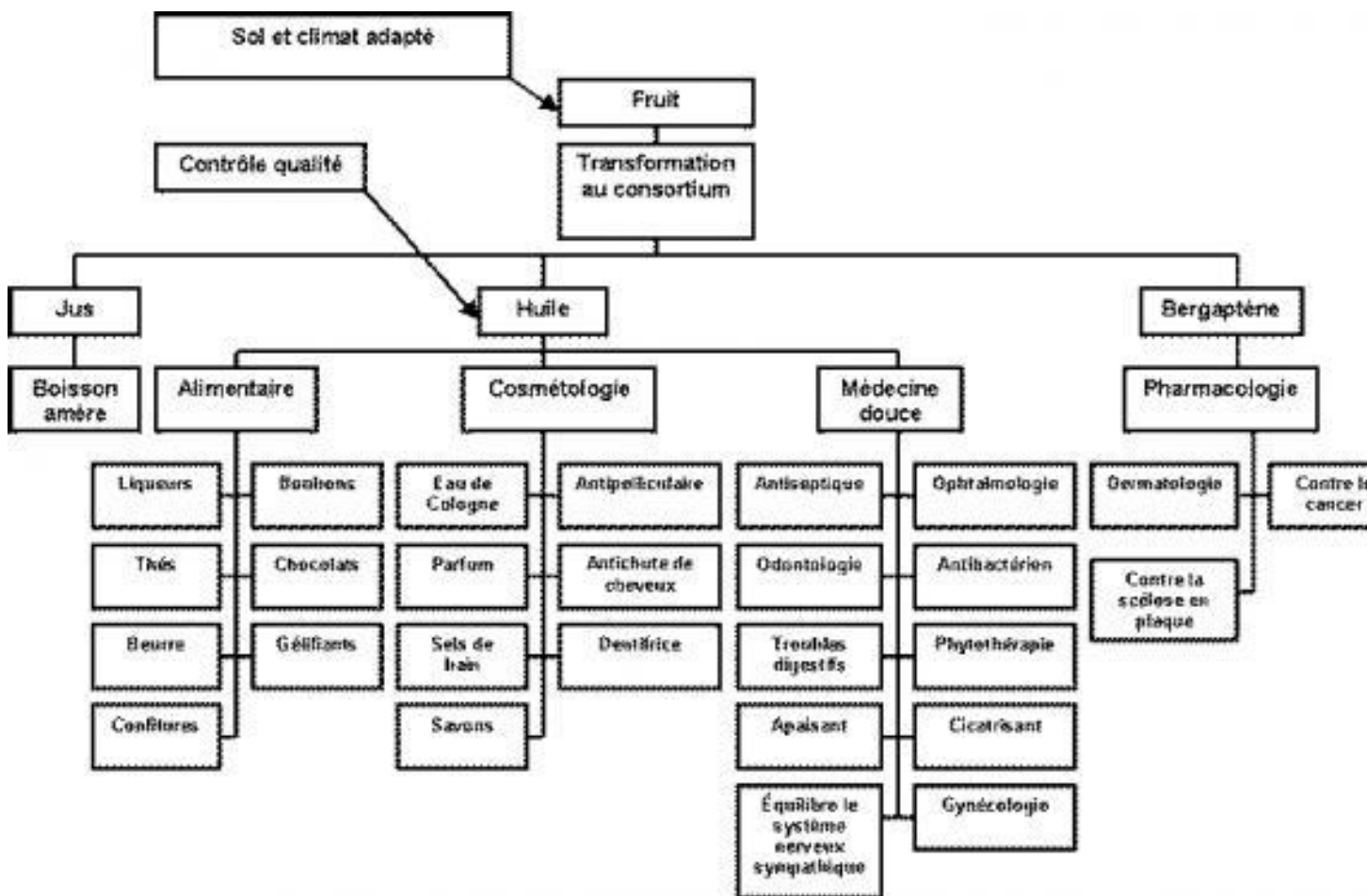


Figure 2. Schéma représentant les domaines d’application des HES (Nicole, 1996).

2.11. Applications potentielles des huiles essentielles en industries agroalimentaire

La tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, a entraîné un regain d’intérêt des scientifiques pour ces substances. Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l’exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine alimentaire.

Plusieurs huiles essentielles ont une activité antimicrobienne avérée.

Les études faites à travers le monde, montrent que les huiles essentielles peuvent être ajoutées à peu près à tous les aliments. Ainsi, les huiles essentielles d’origan, de thym, de cannelle ou de coriandre sont efficaces pour les viandes, les volailles, les charcuteries et les légumes; l’huile essentielle de

menthe pour les produits frais (salades, yaourts...); les huiles essentielles à base de carvacrol ou de citral pour les poissons; les huiles essentielles de thym, de noix de muscade ou de gingembre pour les céréales (plus particulièrement celles riches en carvacrol pour le riz); et les huiles essentielles à base de carvacrol ou de cinnamaldéhyde pour les fruits (**Oussalah et al., 2007**)

Les travaux réalisés sur milieux de cultures synthétiques par l'équipe du laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier ont confirmé que le seuil des huiles les plus efficaces étant très bas, souvent inférieurs à 0.1% ; leur ajout en très faibles quantités n'altère pas les qualités organoleptiques de l'aliment.

En outre, les huiles essentielles possèdent des propriétés antioxydantes, et anti radicalaires qui améliorent la durée de vie de l'aliment et intéressent aussi le consommateur pour leurs valeurs nutraceutiques et les bienfaits sur la santé. Ainsi, l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) ou l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à contrôler la flore microbienne et à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation. Selon la bactérie et le procédé utilisé, la sensibilisation augmente de 2 à 10 fois (**oussalah et al.,2007**) .Par exemple, l'huile essentielle mélangée à des carottes hachées, emballées sous air ou sous atmosphère modifiée, permet de multiplier par trois la sensibilité de *Listeria*, de même que pour de la viande hachée emballée sous les mêmes conditions. Une augmentation très significative de la sensibilité de *E. coli* (2.5 fois) et de *Salmonella* (4.5 fois) est constatée en présence d'huile essentielle.

Aussi, l'huile essentielle combinée à un chauffage doux (55°C pendant 1 minute) a permis d'inhiber totalement *Salmonella* alors qu'en absence d'huile, un chauffage de plus d'une heure était nécessaire pour arriver au même résultat.

Enfin, pour renforcer leur efficacité, il y a eu lieu de stabiliser les huiles essentielles dans des polymères comestibles (biofilm, enrobage, capsule, émulsion), qui permettent leur diffusion vers l'aliment tout au long de son entreposage. L'application de biofilms contenant des huiles essentielles sur des tranches de viande contaminée, a permis de réduire très significativement la croissance de bactéries pathogènes au-delà d'une semaine d'entreposage (**Oussalah et al., 2007**).

Toutefois, quelques limites existent à l'utilisation des huiles essentielles comme agents de conservation dans les aliments, notamment le pouvoir aromatisant de certaines d'entre elles. Cependant des techniques de désaromatisation existent et sont de plus en plus efficaces.

Un autre aspect à prendre en compte, c'est de vérifier que l'huile essentielle sélectionnée n'a pas d'effet antimicrobien contre les bactéries utiles, notamment les ferments d'acidification, d'aromatisation et d'affinage, indispensables à la fabrication des produits. Moyennant ces précautions d'usage, l'emploi des huiles essentielles lors de la transformation des aliments peut présenter un triple intérêt: aromatisant, antioxydant (**figure 3**)et antimicrobien (**Oussalah et al., 2007**).

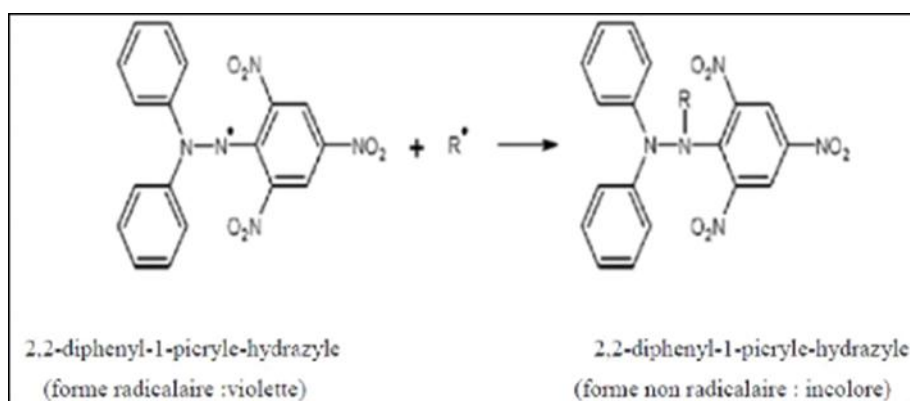


Figure3 .Mécanisme d'action d'un antioxydant (**Oussalah et al.,2007**).

2.12.Procédés d'extraction des HES

L'extraction des HES se fait par différentes méthodes ; ce qui introduit cette diversité, c'est d'abord la variété des matières premières et ensuite la sensibilité considérable de certains parfums qui obligent à n'employer que des moyens peu violents sans intervention d'agents chimiques trop énergique (**Garnero, 1991**).

Après la récolte suivant la partie de la plante à extraire (plante entière, pétales de fleurs, fleurs, feuilles, racines ou fruits), le procédé d'extraction mis en œuvre est différent.

Il existe plusieurs procédés d'extraction des HES dont l'expression à froid, par solvant organique volatil ; à l'eau surchauffée, au CO₂ supercritique, par ultrasons par l'entraînement à la vapeur d'eau

et par l'hydrodistillation(**Bruneton, 1999**). De tous ces procédés, ces deux derniers sont les plus employés à l'échelle industrielle pour la production d'HES (**Wang et al., 2008**).

2.12.1. Extraction par distillation

L'extraction par distillation est appliquée pour la majorité des HES. Elle est définie comme la séparation d'un mélange de composés liquides, basée sur la volatilité relative des différents constituants du mélange.

2.12.2. Hydro distillation

C'est la méthode la plus simple et la plus répandue, toutefois des phénomènes physiques et chimiques qui se produisent et risquent de modifier sensiblement le contenu du matériel végétal ainsi l'HES qui en est libérée risque aussi d'être modifiée (**Badjah, 1978**).

Cette méthode(**figure 4**) consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter intact ou éventuellement broyé dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition, les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'HES s'en sépare de l'hydrolat par simple différence de densité.

L'HES étant plus légère que l'eau, (sauf quelques rares exceptions), surnage au-dessus de l'hydrolat. Cependant, l'hydro distillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Lucchesi, 2005**).

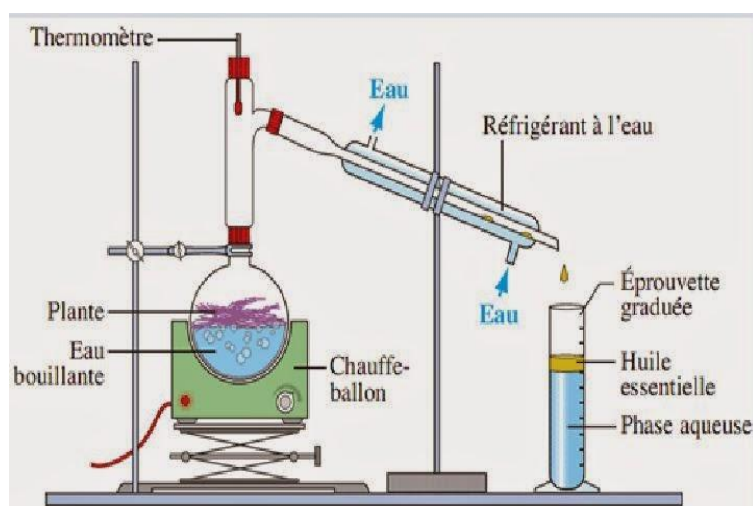


Figure 4. Schéma représente l'hydrodistillation(**Lucchesi, 2005**).

2.12.3. Entrainement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau consiste à récupérer l'HES, des végétaux, en faisant passer à travers ces derniers un courant de vapeur d'eau, qui entraîne l'HES. Les extraits obtenus sont refroidis, décantés, et l'HES est récupérée. (L'entraînement à la vapeur d'eau s'effectue de façon à ce que la substance végétale ne doit pas être posée directement sur la source de chaleur pour ne pas détériorer l'huile mais sur une grille se trouvant sur un récipient où l'eau est en ébullition (**Padrini et Luchironi, 1996**).

2.12.4. Expression à froid

L'HES est contenue dans les sacs oléifères de l'écorce du fruit que l'on désigne encore sous le terme de Zeste. On utilise des machines qui extraient l'HES en créant dans les écorces des zones de compression et de dépression suffisantes pour que l'H.E puisse être libérée (**Garnero, 1991**).

Elle constitue le plus simple des procédés (**figure 5**), mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (**Roux, 2008**).

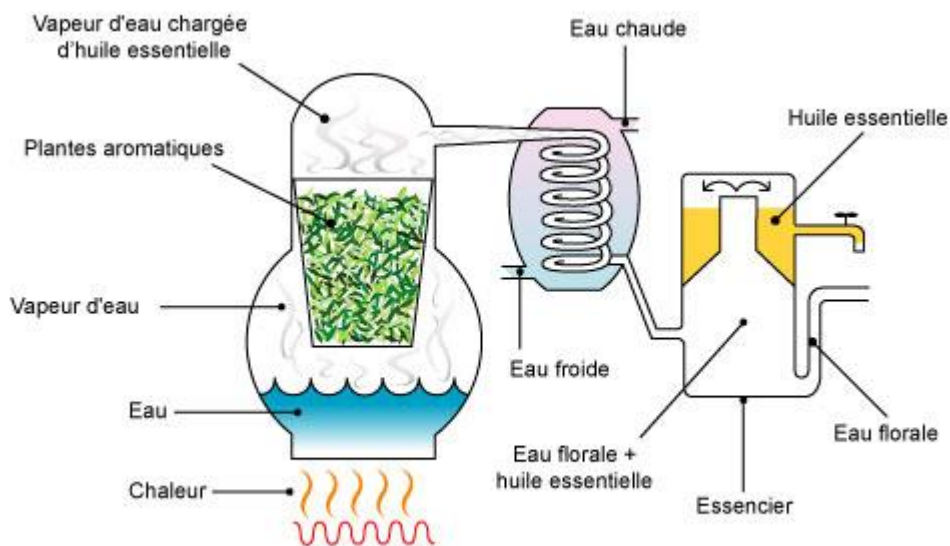


Figure 5 .Schéma représente la distillation par expression à froid (**Roux,2008**).

2.12.5. Extraction par macération

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner une plante dans un solvant à froid (**figure 6**) pour en extraire les composés solubles (arômes, principes actifs). La macération peut se faire dans une solution alcoolique, de l'eau, une saumure, de l'huile... Cette technique préserve les espèces chimiques fragiles car elle est pratiquée à froid mais elle n'est pas toujours aussi efficace que les techniques qui utilisent un chauffage (**Roux, 2008**).

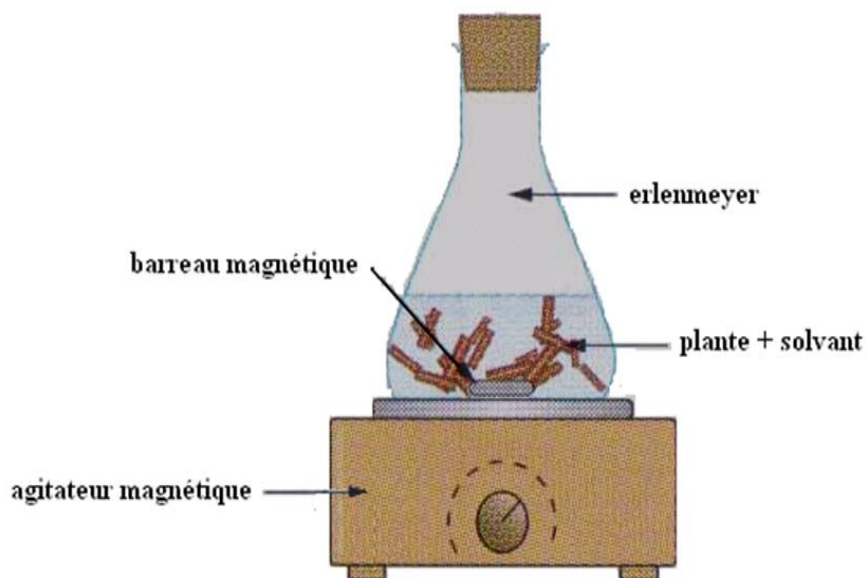


Figure 6. Schéma représente la macération de la matière végétale(**Roux,2008**).

Les avantages et les inconvénients des différents procédés d'extraction sont illustrés dans le tableau suivant (**tableau 3**)

Tableau 3. Avantages et Inconvénients des différents procédés d'extraction.

Procédé d'extraction	Avantages	Inconvénients
Hydro distillation	<ul style="list-style-type: none"> -Rendement en HE très élevé. -Essence de bonne qualité. -Contact direct entre matière végétal-eau. 	<ul style="list-style-type: none"> -Altération de certaines substances odorantes à la température d'ébullition de l'eau. -Perte d'une partie d'essence par évaporation, oxydation, dissolution et cyclisation.
Entrainement à la vapeur	<ul style="list-style-type: none"> -Réduit l'altération des constituants d'HE. -Economie d'énergie, de temps d'extraction. -Efficacité d'extraction. 	<ul style="list-style-type: none"> -Agglutination de la charge végétale sous l'effet de la vapeur d'eau. -Mauvaise qualité d'huile. -Réaction secondaire hydrolyse et formation d'artéfacts.
Expression à froid	<ul style="list-style-type: none"> -Essence de très bonne qualité non trop altérable. 	<ul style="list-style-type: none"> -Procédés non généralisé. -Rendement très faible en HE.
Solvants organique volatils	<ul style="list-style-type: none"> -Procédé universel. -Procédé doux, non violent. Principe actif olfactivement proche du végétal lui-même. 	<ul style="list-style-type: none"> -Danger sur l'homme et l'environnement en cas du manque de la prévention. -Impossible de contrôler les paramètres de pressions et de température.

Source :(Lucchesi,2005).

2.13. Critères de qualité des huiles essentielles

L'obtention d'une huile essentielle de qualité se révèle être un processus particulièrement délicat car cette huile essentielle doit impérativement répondre à de nombreux critères de qualité

- a) **La certification botanique** : l'appellation de la plante aromatique doit mentionner le genre, l'espèce et la sous-espèce afin d'éviter la confusion pouvant naître des noms vernaculaires.
- b) **L'origine géographique** : ce terme spécifie le nom du pays ou de la région qui constitue l'habitat naturel de la plante aromatique et caractérisera sa composition chimique particulière.
- c) **Le mode de culture et de récolte** : cette précision indique s'il s'agit d'une plante sauvage, semi sauvage, de culture biologique ou non.
- d) **Le stade de développement** : les caractéristiques des huiles essentielles dépendent parfois du stade de développement de la plante au moment de sa cueillette : avant, pendant ou après la floraison.
- e) **L'organe distillé ou exprimé** : la composition biochimique de huiles essentielles varie selon la partie distillée ou exprimée.
- f) **Le mode d'extraction** : la composition biochimique peut varier selon le mode d'extraction utilisé.
- g) **La spécificité biochimique ou chémotype** : L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse indique les molécules fondamentales pour une bonne utilisation des huiles essentielles.

Ces contrôles permettant de garantir des huiles essentielles 100% pures et naturelles. Les HE doivent répondre aux normes ISO ou AFNOR. Le suivi de ces règles assure une sécurité d'usage des huiles essentielles (Lucchesi, 2005).

1.3. Vue d'ensemble sur les polyphénols

Les polyphénols sont des phyto micronutriments synthétisés par les végétaux et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales (Gee et Johnson, 2001).

Les polyphénols, qui forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories : les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols ; les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes ; les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables (tableau 4) (Dacosta, 2003).

De nombreuses études sont en faveur d'un impact positif de leur consommation sur la santé. En effet, les polyphénols pourraient permettre de prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer (**Brown et al., 1998**). Les maladies dégénératives et cardio-vasculaires (**Paganga et al., 1999**).

Un encouragement à la consommation d'aliments d'origine végétale riche en polyphénols constitue désormais une des principales recommandations en santé publique. Parmi les antioxydants végétaux, les polyphénols apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme (**Gee et Johnson, 2001**).

Tableau 4. Les principales classes des composées phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Pomme de terre, pomme Citrus
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, kaki

Source : (Macheix et al., 2005).

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**figure 7**). Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules (**figure 8**). En effet plus de 6500 structures ont été identifiées (**Harborne et Williams, 2000**).

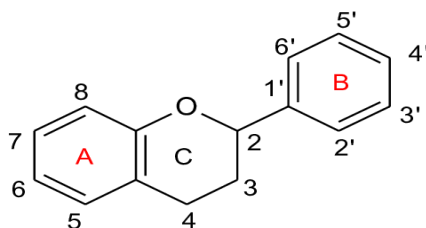
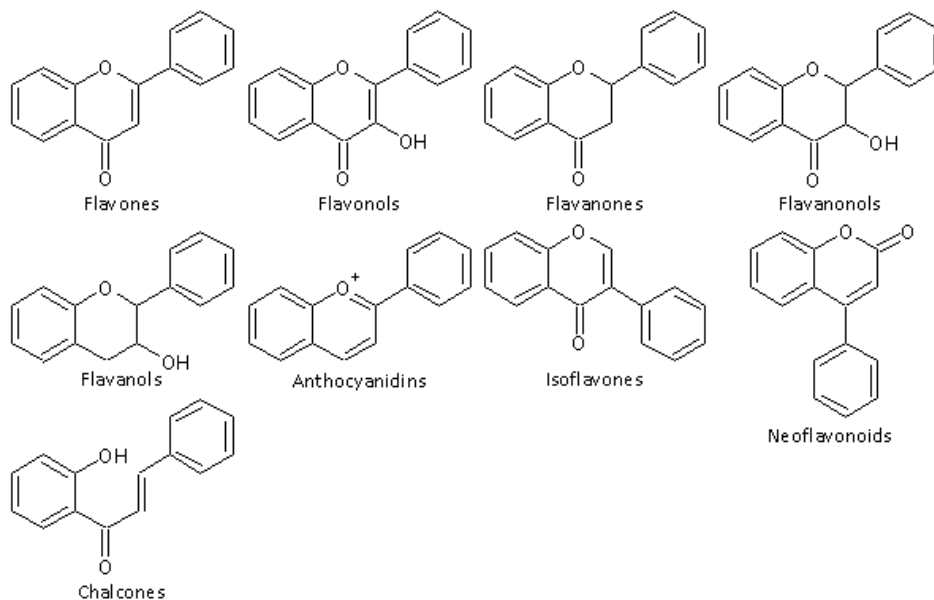


Figure 7. Structure de base d'un flavonoïde

Les effets santé des flavonoïdes ne dépendent pas seulement de leurs niveaux de consommation mais aussi de leur biodisponibilité. Peu d'études systématiques ont été menées sur la pharmacocinétique des flavonoïdes chez l'homme. Toutefois, d'après des expériences menées sur des flavonoïdes provenant de l'alimentation, il apparaît que seuls les flavonoïdes sous forme de génines (ou aglycones) sont susceptibles d'être absorbés. L'hydrolyse des liaisons hétérosidiques (reliant la génine à la chaîne sucrée) n'intervient que dans le côlon où les micro-organismes dégradent simultanément les flavonoïdes d'origine alimentaire. Le foie est largement impliqué dans le métabolisme des flavonoïdes absorbés (Walle, 2004). Une meilleure connaissance de la



biodisponibilité des flavonoïdes est indispensable pour expliquer leurs effets protecteurs sur la santé.

Figure 8. Les principales classes de flavonoïdes (**Macheix et al., 2005**).

De nos jours, les propriétés thérapeutiques des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités biologiques et pharmaceutiques.

Les flavonoïdes sont bien reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels. Ils sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (**Fuhrman et al., 1995**). L'action antioxydant de ces phytonutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation des traces d'ions métalliques responsables de la production de ROS (**Cotelle, 2001**).

Les propriétés antimicrobiennes des flavonoïdes vis-à-vis de différents micro-organismes pathogènes ont été mises en évidence par plusieurs auteurs (**Thuille et al., 2003**).

Les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes ont été rapportés posséder une activité antimicrobienne (**Essawi et Srour, 2000**). Beaucoup de groupes de recherche ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié la structure des flavonoïdes qui possèdent l'activité antimicrobienne ou ont mesuré l'activité des flavonoïdes disponibles dans le commerce (**Hamilton-Miller et Shah, 2000**).

Les propriétés antibactériennes de propolis ont été attribuées à sa teneur élevée en flavonoïdes. Une étude a aussi montré le pouvoir antibactérien d'un flavonoïde glycoside contre des souches de bactéries gram (+) et gram (-).

En raison de la capacité répandue des flavonoïdes d'inhiber la germination des spores pathogènes des plantes, on les a proposés pour l'usage contre les microbes fongiques pathogènes de l'homme (**Williams, 2000**).

Les flavonoïdes sont capables également de moduler le fonctionnement du système immunitaire, mais leur action est complexe et demeure encore mal élucidé. A doses élevées, les flavones et flavonols sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T ;mais, à concentrations plus faibles, ils pourraient agir comme immunostimulants chez les sujets immunodéprimés (**Ong et Khoo, 2000**).

Les flavonoïdes peuvent prévenir le diabète ou au moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase. Une étude à d'ailleurs récente montrée que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques (**Ong et Khoo, 2000**).

Les flavonoïdes ont été également étudiés pour leurs propriétés anti-tumorales (**Birt et al., 2001**). Parmi les flavonoïdes naturels anticancéreux, la catéchine témoigne d'une activité remarquable (**Brown et al., 1998**).

1. Présentation de la famille des Lamiacées

1.1. Présentation

La région méditerranéenne d'une manière générale et notamment l'Algérie, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales. La production des huiles essentielles à partir de ces plantes pourrait constituer à ce titre une source économique importante pour notre pays.

La famille des Lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal (**Naghbi, 2005**).

C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydante(**Gherman et al., 2000 ; Bouhdid et al., 2006**).

Cette famille comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres (**Miller et al., 2006**).

La région méditerranéenne a été le centre principal pour la domestication et la culture de Labiatae. Les genres les plus cités dans la littérature sont : Menthe, Origan, Romarin, et le Basilic (**Lee et al., 2005**).

1.2. Botanique

La famille des lamiacées une très grande variété comprenant les espèces de menthe, sauge et thym. Un bon nombre de ces espèces sont des plantes médicinales et d'épices. Cette famille comprend plus de 3000 espèces qui caractérisent les climats de type méditerranéen. Ce sont des plante odorantes et herbacées à tige quadrangulaire pouvant devenir des arbrisseaux (Romarin, Thym); leurs feuilles opposées par deux, leurs fleurs bisexuées, irrégulières, à calice tubuleux ou en cloche persistant, à corolle à tube très développé et leur fruit sec se séparant en quatre articles contenant chacun un graine (**Hilan et al., 2005**).

2. Description du genre *Thymus*

2.1. Le thym

L'origine du nom le thym est sujette à diverses propos. Le Thym proviendrait du mot latin "thymus" qui signifie "parftimé". Le Thym à partir du mot grec "thumus" qui signifie "courage". Le thym appartient à la famille des labiées, environ 215 espèces sont cultivées dans le monde (**Ebrahimi et al., 2008**).

2.2. Les différentes appellations de *thymus*:

Nom vulgaire : thym/ djertil

Nom arabe : zaater

Nom anglais : headedthyme

Nom berbère : azoukni

Le *Thymus vulgaris* L. est indigène de l'Europe du sud. il est rencontré depuis la moitié orientale de la péninsule ibérique jusqu'au sud-est de l'Italie, en passant par la façade méditerranéenne française (**Özcan et Chalchat, 2004 ; Amiot, 2005**).

Il est maintenant cultivé partout dans le monde comme thé, épice et plante médicinale. Le *Thymus vulgaris* L. (**figure 09**) se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines, comme la lavande, le romarin, la sauge et beaucoup d'autres plantes sauvages (**Kaloustian et al., 2003**).

En Algérie, il est représenté par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination. Citant ainsi quelques espèces connues en Algérie *Thymus vulgaris*, *Thymus serpyllum*, *Thymus algeriensis*, *Thymus hirtus*, *Thymus fontanésii*. (**Quezel et Santa, 1963**).



Figure09 .Le *Thymus vulgaris*L.

Tableau 5 .Classification botanique de *Thymus vulgaris L.*

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Labiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i>

Source (morales,2002).

3. Usage traditionnel du Thym

Le thym est utilisé fréquemment par les populations autochtones grâce à ses diverses propriétés importantes. C'est une plante aromatique très odorante, utilisée dans la cuisine algérienne pour faire les différents plats ; recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les affections de la bouche, les contusions (lésion produite par un choc sans déchirure de la peau), et les accidents articulaires(Hans, 2007).

Il est considérée aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe, et angine. Il contribue également dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies, et aussi l'expulsion des gaz intestinaux (Hans, 2007).

4. Description botanique :

*Thymus vulgaris*L., est un sous arbrisseau, vivace, touffu et très aromatique de 7-30 cm de hauteur, d'un aspect grisâtre ou vert grisâtre. Ses tiges ligneuses à la base, herbacées supérieurement sont presque cylindriques, ces tiges ligneuses et très rameuses sont regroupées en touffe ou en buisson très dense. Ses feuilles sont très petites (**figure 10**), ovales, à bord roulés en dessous à nervures latérales distinctes, à pétioles extrêmement courts et blanchâtres à leur faces inférieures. Ses fleurs sont presque roses ou presque blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, sont pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles supérieures. Le limbe du calice est bilabié,

un peu bossu. La corolle de taille variable, un peu plus longue que le calice mais la partie tubulaire de la corolle ne dépasse pas celle du calice, les étamines sont incluses. La période de la floraison commence en mai-début de juin (Iserin,2001).



Figure 10. Aspect morphologique du *Thymus vulgaris* L. (Iserin,2001).

Glandes pluricellulaire secrétant l'huile

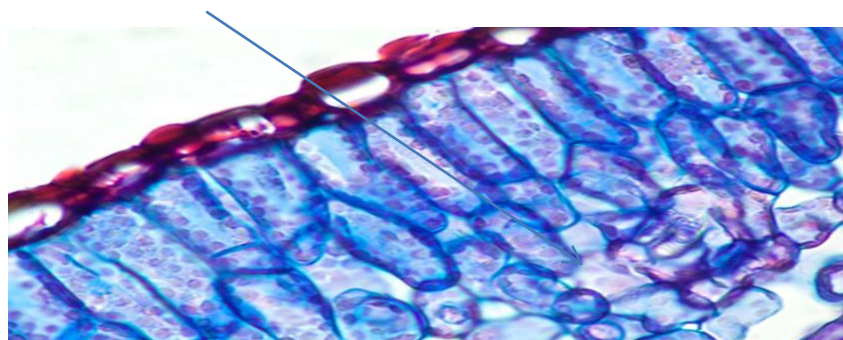


Figure 11 .Coupe transversale d'une feuille de thym observé au microscope photonique (*800).

5. Distribution géographique :

Le thym préfère un sol légèrement acide, bien drainé et rocailleux (calcaire), en plein soleil et au sec, mais la plante se développe également sur un sol alcalin filtrant, léger ou compact (d'argile et de limon) ou très poreux (sableux), un peu humide et frais. La capacité de cette plante à résister à de très forte chaleur provient de son huile essentielle qui est produite la nuit et s'évapore la journée ; c'est par cette action que la chaleur sera consommée (**Takeuchi et al, 2004**).

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris L.* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection). L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité intra spécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits chimique (**Amiot, 2005**).

5.1. Le thym dans le monde

Le genre thymus est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, il existe près de 350 espèces de thym réparties entre Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée.

C'est une plante très répandue dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye). Elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte .Il est retrouvé également en Serbie et même en Himalaya (**Sardj , 2006**).

5.2. Le thym en Algérie

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le thym de la famille des lamiacées ou labiées, comprend plusieurs espèces réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides. Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement .Sa répartition géographique est représentée dans le tableau (**tableau 6**).

Tableau 6 .Localisation des principales espèces du thym en Algérie.

Espèce	Découverte par	Localisation	Nom local
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et link	Rare dans la région du Tlemcen	Auteure
<i>Thymus fontanessi</i>	Boiss et renter	Commun dans le tell endémique Est Algérie- Tunisie	Auteure
<i>Thymus comutatus</i>	Battondier	Endémique Oran	
<i>Thymus nmidicus</i>	Poiret	Assez rare dans la grand kabylie , de Skikda à la frontière tunisienne	Tizaatare
<i>Thymus vulgaris L.</i>	Desfontaine	Très commun dans le secteur de l'atlas tellien (teni de Médéa et dans le sous-secteur des haut plateaux algérois, oranais et constantinois.	Zaateur
<i>Thymus algériens</i>	Biss et renter	Très commun dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois et oranais.	Djertil Zaitra

Source :(Sardj , 2006).

6. Propriétés du thym

Les principales propriétés du thym sont :

- ❖ Assaisonnement des aliments et des boissons.
- ❖ Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures. Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicides(**Bazytko et Strzelecka, 2007**) .

- ❖ Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes ; une étude même a montré que les extraits au méthanol et à l'hexane des parties aériennes de *Thymus vulgaris* L. inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) .
- ❖ Propriétés anthelminthiques .
- ❖ Propriétés antioxydantes, le thym est ainsi utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons durant leur stockage (**Selmi et Sadok, 2008**).

7. Principes actifs du thym :

Les principaux composés bioactifs du thym sont :

- * Les acides phénoliques, l'acide caféique (**Cowan, 1999**) et l'acide rosmarinique (**Takeuchi et al, 2004**).
- * Les flavonoïdes représentés surtout par l'hespéridine, l'eriortécine ,le narirutine (**Takeuchi et al, 2004**). Et le lutéoléine.
- * Les polyphénols : tanin (**İzcan et Chalchat, 2004**).

8.L'huile essentielle de Thym

L'huile essentielle de thym a un goût fort piquant, épicé, herbeux et une odeur qui est maintenue par le séchage soigneux. Elle contient du thymol à des proportions variables suivant l'origine de l'espèce notamment. En pharmacie, le thymol et le carvacrol sont employés en collutoires, dans les dentifrices, les savons, les onguents, les lotions, les pastilles pour la gorge et les remèdes antigrippes.

En aromathérapie, les indications de l'huile essentielle de thym sont nombreuses: abcès, arthrite, brûlures cystite, diarrhée, eczéma, oedème, maladies infectieuses, morsures d'insecte, insomnie, l'obésité, circulation insuffisante, sinusite, blessures, entorses et l'infection de l'appareil urinaire, soulage les maux de tête et les migraines.

Grâce au thymol, l'huile essentielle de thym fonctionne comme expectorant et est fréquemment employé en sirops contre la toux.

8.1. Composition chimique de l'huile essentielle du thym

Les huiles essentielles de thym sont largement utilisées comme agents antiseptiques dans plusieurs domaines pharmaceutiques et comme aromatisants pour de nombreux types de produits alimentaires (Amarti et al., 2010).

Le genre *Thymus* englobe de nombreuses espèces et variétés et la composition chimique de leurs huiles essentielles a été étudiée depuis longtemps (Tumen et al., 1998). Les huiles essentielles de plusieurs espèces de thym ont déjà prouvé leurs propriétés antibactériennes et antifongiques.

8.2. Le thymol et le carvacrol

Les excellentes capacités curatives de l'huile essentielle de thym sont dues à la présence de deux composés souvent majoritaires dans le genre thymus (figure 12). L'un des ingrédients actifs de l'huile essentielle de thym est le carvacrol. La présence de cette substance est confirmée par de nombreuses expériences de laboratoire et des recherches effectuées dans plusieurs universités aux États-Unis.

L'autre ingrédient actif est le thymol. Ces deux substances chimiques agissent ensemble comme de puissants agents antibactériens, antifongiques, antiviraux et antiparasitaires (Amarti et al., 2010).

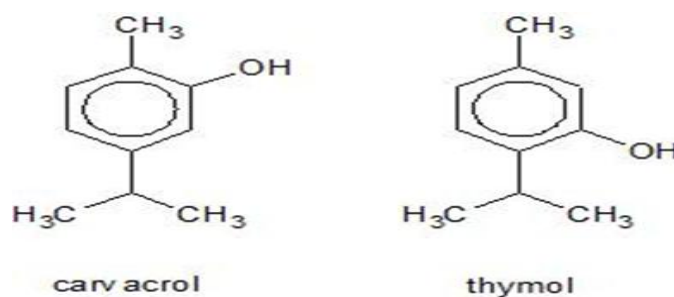


Figure 12 .Structure de base du thymol et du carvacrol(Bruneton, 1999).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (Bruneton, 1999).

Tableau 7. Pourcentages relatifs de molécules majoritaires d'huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L.

Huile essentielle chimotype	P -Cymène	terpinène/carvacrol	Thymol	Références
<i>Thymus vulgaris</i> L.carvacrol	10.6	13.5 73	NS	Kaloustian et al.,2008
<i>Thymus vulgaris</i> (Non précisé)	34		52.9	Gutierrez et al.,2008
<i>Thymus vulgaris</i> (thymol)	18.7	1.9 2.8	57.7	Rota e al., 2008
<i>Thymus vulgaris</i> L.CH	15.3	5.63 7.96	6.48	Sacchetti et al.,2005

9. Etude des composants du thym

l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*L.a été analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie de masse (SM), 30 composés ont été identifiés et caractérisés, les plus abondant sont respectivement : thymol (44,4 - 58,1 %), p-cymene (9,1 - 18,5%), Ū-terpinène (6,9 - 18,0 %), carvacrol (2,4 - 4,2 %), linalol (4,0 – 6,2 %). La caractéristique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. était sa teneur élevée du thymol (**Bouhdid et al., 2006**).

Le contenu phénolique total, flavonoïdes, catéchine, et anthocyanine dans l'infusion aqueuses préparée du *Thymus vulgaris*L.a été déterminé par des méthodes spectrophotométriques (**tableau 8**)(Kulišic et al., 2006).

Tableau 8 .Teneur en polyphénol (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris*L.

Plante	Phénols totaux	Flavonoïde	Non-flavonoïde	Catéchine	Anthocyanine
<i>Thymus vulgaris</i>	33.3	25	8.3	1.2	6.7

Source :(Kulicic et al.,2006)

La méthodologie habituelle pour étudier les dérivés flavonoidiques (**tableau 9**) dans les plantes implique les extractions successives employant plus d'un solvant, plusieurs étapes de fractionnement et différentes techniques de chromatographie (figure 19) pour extraire, séparer, isoler, épurer et identifier les composés d'intérêt. De nombreuses études ont confirmé que les espèces qui appartiennent à la famille des Lamiacées sont une bonne source d'acide rosmarinique, l'identification des composés poly phénoliques dans l'infusion aqueuse de *Thymus vulgaris* L. par analyse HPLC a montré une présence dominante d'acide rosmarinique (17,45 mg/g = 1,7 % de la masse sèche de *Thymus vulgaris*) et un autre composé significatif est l'eriodictin (1,96 mg/g) (Kulišič et al., 2006).

D'autres composants ont été détectés seulement en traces, l'acide caféique (0,02 mg/g) et l'acide p-hydroxy benzoïque. La composition en vitamines a été déterminée et révèle la présence de la vitamine E (α-tocophérol) (4,4 mg/Kg) (Kulišič et al., 2006).

Tableau 9 . Les flavonoïdes trouvés par plusieurs auteurs dans les feuilles du *Thymus vulgaris* L.

Flovonoides	Référence
Cirsilineol(5,4'-dihydroxy-6,7,3'triméthoxyflavone	Adzet et al., 1988 Morimitsu et al., 1995
Thymonine(5,6,4trihydroxy-7,8,3'triméthoxyflavone)	Morimitsu et al., 1995
Eriodictyol(5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone)	Adzet et al., 1988 Morimitsu et al., 1995
Sideritoflavone(5,3',4'-trihydroxy-6,7,8,3'triméthoxyflavone)	Adzet et al., 1988 Manzanos, 1998
Desmethylnobiletine(5-hydroxy-6,7,8,3',4'pentaméthoxyflavone	Adzet et al., 1988 Manzanos, 1998
Apigénine(5,7,4'-trihydroxyflavone)	Kulišič et al., 2006
Lutéoline(5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone)	Adzet et al., 1988 Kulišič et al., 2006
Xanthomicrol(5,4'-dihydroxy-6,7,8-triméthoxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998
Desmethylinensetine(5-hydroxy-6,7,3,4'tetraméthoxyflavone	Kulišič et al., 2006

10. Travaux antérieurs sur les effets bénéfiques de la plante

De nombreuses études se sont succédées s'intéressant surtout à la composition chimique de l'huile extraite du thym ainsi qu'à ses propriétés antibactériennes, antimicrobiennes antifongique et antioxydantes.

10.1. Effets antioxydants

*Thymus vulgaris*L. situe parmi les fines herbes séchées contenant les plus grandes capacités antioxydantes. Différents composés lui permettent de posséder un tel statut, comme les phénols (thymol et carvacrol), les flavonoïdes, l'acide rosmarinique, l'acide caféique et la vitamine E (**Kulišiiu et al., 2006**).

Ces constituants inhibent la peroxydation lipidique induite in vitro au niveau des mitochondries et des microsomes. Ils inhibent également partiellement la production de l'anion superoxyde(**Bruneton, 1999**).

Des recherches menées dans les années 1990 en écosse ont établi les vertus potentielles de la plante et de son huile essentielle, en prévention du vieillissement. Des études récentes indiquent que *Thymus vulgaris*L.est un puissant antioxydant (**Iserin, 2001**).

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris*L.a été testée pour son activité antioxydante par deux méthodes différentes : la technique de décoloration de la ù carotène et le test du DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl). Les résultats obtenus montrent que l'huile de *Thymus vulgaris*L.témoigneune grande activité antioxydante in vitro (**Bouhdid et al., 2006**).

A côté de l'huile, qui a été largement étudiée pour ses propriétés antioxydantes, l'extrait aqueux des feuilles de *Thymus vulgaris* L .a présenté une activité antioxydante importante, et les caractéristiques antioxydantes observées n'étaient pas entièrement liées à la teneur en phénols de l'huile essentielle dans n'importe quelle méthode analytique, mais vraisemblablement fortement dépendantes de l'acide rosmarinique, composé phénolique principal dans l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* L.(**Thuille et al., 2003**).

10.2. Effets antimicrobiens

L'huile essentielle de thym, riche en phénols, est douée de propriétés antibactériennes facilement mises en évidence in vitro (**Bruneton, 1999**). L'huile essentielle de trois plantes dont *Thymus vulgaris*L.a été testée, pour leur activité antibactérienne, l'huile de *Thymus vulgaris*L.témoigne d'une activité antibactérienne intéressante sur les bactéries gram positives comme sur les bactéries gram négatives (**Bouhdid et al., 2006**).D'autre part, ces mêmes auteurs ont trouvé que cette grande activité de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*L.est reliée au thymol qui est majoritaire de cette huile.

L'activité antibactérienne de 11 huiles essentielles de plantes aromatiques contre la souche bactérienne *Bacillus cereus* INRA L2104, microbe pathogène développé en bouillon de carotte à 16°C, a été étudiée. Une inhibition totale de la croissance des spores bactériennes a été observée pour l'agent antimicrobien *Thymus vulgaris* L. (Valero et Salmerón, 2003).

En outre, l'extrait organique entier de *Thymus vulgaris* L. est avéré être actif contre différentes souches bactériennes ; alors que l'extrait aqueux indiquait la meilleure activité contre *Helicobacter pylori* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 3,5 mg/ml (Iserin, 2001).

L'activité améliorée de l'extrait alcoolique du thym comparée à l'aqueux peut être expliquée par la présence du thymol, un phénol alkylique qui cause la perforation des membranes bactériennes et le flux rapide des composants cytosoliques (Thuille et al., 2003).

De même, l'extrait acétonique de *Thymus vulgaris* L. a montré une activité inhibitrice à une concentration de 0.5 mg/ml contre la *Mycobacterium tuberculosis*.

L'extrait hydrosol (extrait aqueux sans huile essentielle) de *Thymus vulgaris* L. a été examiné pour ses effets inhibiteurs contre quatre bactéries pathogènes (*Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* et *Yersinia enterocolitica*). Basé sur les résultats de cette étude, les hydrosols de thym ont semblé empêcher la croissance des quatre microbes pathogènes examinés. Les hydrosols de thym à concentration de 50 à 75ml/100ml étaient complètement prohibitif sur la croissance bactérienne dans la culture de bouillon. Les résultats de cette étude ont confirmé la possibilité d'employer des hydrosols de thym dans la conservation des aliments et des boissons. Ces hydrosols peuvent être utilisés dans différentes concentrations pour stocker et protéger les produits alimentaires contre les microbes pathogènes.

En plus de l'activité antibactérienne, des études (réalisées in vivo et in vitro) ont prouvé que l'huile essentielle (surtout le thymol) de *Thymus vulgaris* L. possède des propriétés antifongiques contre un certain nombre de mycètes. Le potentiel antifongique élevé de l'huile volatile de *Thymus vulgaris* L. est utilisé comme agents protecteurs des fruits de fraise (*Fragaria ananassa*) contre la détérioration causée par les mycètes *Botrytis cinerea* et *Rhizopus stolonifer*. (Lall et Meyer, 1999).

1. Les laits fermentés

Les laits fermentés sont préparés depuis une époque très lointaine en Asie centrale, dans les pays méditerranéens et dans la plupart des régions d'élevage où ils constituent un mode de protection et de conservation du lait grâce à l'abaissement du pH en même temps qu'ils sont un aliment apprécié pour sa saveur. Longtemps restés traditionnels, certains de ces produits connaissent depuis quelques années un développement considérable grâce, d'une part, à l'intérêt qu'y trouvent les consommateurs sur le plan organoleptique, nutritionnel, voire thérapeutique et, d'autre part, à la mise en œuvre de procédés de fabrication industriels et aux progrès de la distribution (Hui et al., 2004).

La fermentation modifie les composants du lait et les caractères organoleptiques de celui-ci. Certaines de ces transformations sont communes aux divers laits fermentés; c'est le cas de l'acidification et de la gélification. D'autres sont spécifiques de chaque type de lait fermenté, comme la formation de composés aromatiques, de gaz, d'éthanol et l'hydrolyse des protéines (Bylund, 1995).

Les laits fermentés se différencient les uns des autres par leur état final ; coagulum (ou gel) plus ou moins ferme, crème plus ou moins visqueuse, liquide, Le produit peut aussi être mousseux. Selon l'origine du lait: celui-ci peut provenir d'une seule espèce (vache, bufflonne, chèvre, brebis, jument, chamelle, yack, etc.) ou de plusieurs espèces. La composition du lait en matière grasse et en matière sèche peut être plus ou moins écrémée ou enrichie en matière grasse (Hui et al., 2004).

Ces produits présentent un grand intérêt dans les pays en développement en raison de leur acidité qui en fait des aliments hygiéniques, sans inconvénients pour les consommateurs intolérants au lactose. De plus, ils présentent une bonne valeur nutritionnelle, des qualités organoleptiques généralement très bien acceptées ainsi qu'une relative facilité de préparation et de distribution (Saxelin et al., 2003).

2. Présentation du yaourt

2.1. Définition

D'après le *codex alimentarius*, le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* sous espèce *bulgaricus* (*Lb. Bulgaricus*) et de *Streptococcus salivarius*, sous- espèce *thermophilus* (*St. Thermophilus*) à partir du lait frais ainsi que du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition

de substances (lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines lactosériques concentrées ou non , la caséine alimentaire...etc.). Les micro-organismes du produit final doivent être viables et abondants.

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

2.2. Histoire

Originnaire d'Asie, le mot yaourt (yoghourt ou yogourt) vient de 'yoghumark', mot turc signifiant «épaissir »

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

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

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

3. Matière utilisées pour la fabrication du yaourt

3.1. Lait frais

Le lait est un produit de forte valeur nutritionnelle .C'est l'un des rares aliments à contenir une teneur équilibrée en nutriments de base (glucides, lipides et protéine). C'est aussi l'un des rares à convenir à toutes les tranches d'âge (nourrissons, enfants, adolescents, adultes, personnes âgées) qui le consomment tel quel à l'état liquide (lait frais) ou sous forme de produits dérivés (fromages, yaourt, crèmes glacées...etc.). Avec une valeur énergétique de l'ordre de 700Kcal/l , le lait de plusieurs espèces animales est une source importante , relativement bon marché, d'apport quotidien

en acides aminés et acides gras essentiels ,ainsi qu'en calcium alimentaire. Le lait est aussi riche en d'autres sels minéraux (notamment phosphore et magnésium) et en vitamines du groupe B (B1,B2 ,B5et B12) et en vitamine A.

3.2. La poudre du lait

Composé essentiellement de matière sèche du lait et d'une très faible quantité d'eau (de 2 à 5g), la poudre de lait a l'avantage de pouvoir se stocker et se transporter aisément pour être utilisée via la recombinaison comme matière première pour la production des fromages ,de laits fermentés , de crèmes glacées...etc. (brule,2003).

4. Les bactéries caractéristiques du yaourt

4.1. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles sont Gram +, généralement immobiles, asporulées et ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (Brule,2003).

Douze genres bactériens figurent dans la catégorie des bactéries lactiques : *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissela*. Elles ont des formes en bâtonnets ou en coques, elles ont également un métabolisme aérobie facultatif. Les bactéries lactiques ont en commun la capacité de fermenter les sucres en acide lactique. Certaines sont dites «homofermentaires» car elles produisent majoritairement de l'acide lactique alors que d'autres sont dites « hétérofermentaires » et produisent de l'acide lactique en même temps que d'autres composés (acétate, éthanol et CO₂) (Brule,2003).

Parmi les principales bactéries lactiques probiotiques utilisées(**figure 13**) on trouve :

4.1.1. Le genre *Lactobacillus*

Les lactobacilles sont les microorganismes probiotiques, les plus en vue par l'association de leur différente population, avec les produits laitiers fermentés. Il s'agit en général de bâtonnets non flagellés, non sporulés, l'absence de catalase mais parfois une pseudo-catalase est détectée, Gram-positifs faisant partie des BAL. Elles sont importantes pour l'industrie alimentaire, notamment dans les fermentations laitières (Corrieu, 2008).

Elles sont anaérobies (mais aérotoles) et obtiennent leur énergie du métabolisme fermentatif ; mais elles peuvent survivre en présence d'oxygène grâce à leur activité peroxydase capable d'inactiver le peroxyde d'hydrogène. Elles ont également la capacité de survivre à des pH bas dans les milieux qu'elles acidifient par la production d'acide lactique, produit final de la fermentation des carbohydrates. Cette capacité à produire de l'acide lactique donne aux *lactobacilles* un avantage compétitif dans les environnements riches en nutriments, ce qui peut en partie expliquer leur potentiel probiotique (**Ait-Belgnaoui, 2006**).

Une grande variété de lactobacilles sont utilisées comme probiotiques, parmi lesquelles *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, sont les espèces les plus étudiées.

4.1.1.1. *Lactobacillus bulgaricus*

Lactobacillus bulgaricus est un bacille Gram positif, immobile, asporulé, 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 (**Marty-Teyssset et al, 2000**).

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

4.1.2. Le genre *Streptococcus*

Les cellules de streptocoques sont des coques ou coccobacilles chimioorganotrophes (**Corrieu et Luquet, 2008**). Généralement groupées en paires et surtout en chaînes, de longueur variable. L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), par son caractère non pathogène et ses propriétés probiotiques et technologiques (**Guiraud et Rodec, 2004**).

4.1.2.1. *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus est un cocci Gram positif, anaérobie facultative, non mobile. Il est trouvé dans les laits fermentés et les fromages. C'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (Dellaglio et al, 1994).

Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposées en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C. Son métabolisme est du type 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. Elle augmente la viscosité du lait par production d'exopolysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose) (benoit, 2004).

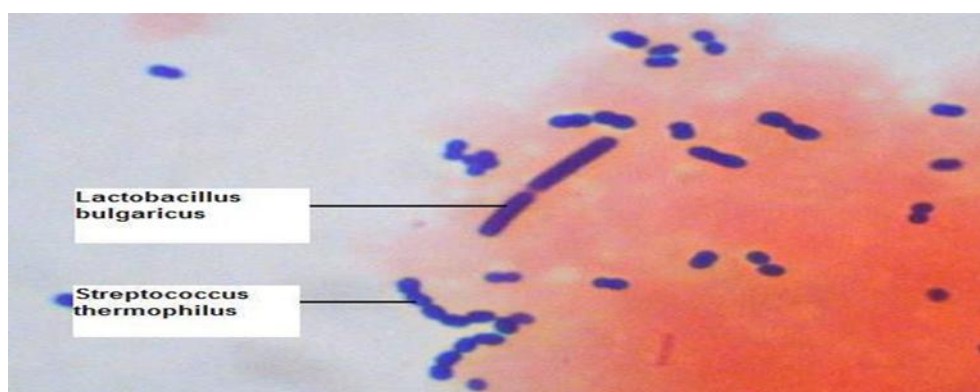


Figure 13. Les bactéries lactiques du yaourt. (Vue microscopique) (benoit, 2004).

4.1.3. Bifidobactéries

Les bifidobactéries sont des bâtonnets aux formes variées (bifide ou ramifié) dont la caractéristique principale est une forme en Y. Les bifidobactéries sont Gram +, immobiles, non sporulées, non productrices de gaz, anaérobies strictes (sauf quelques espèces pouvant tolérer l'oxygène), catalase négatives (excepté *B.indicum* et *B.asteroides*) hétérofermentaires et saccharolytiques, ayant un pourcentage de bases G+C compris entre 55 et 67%, et dont la composition de leurs peptidoglycanes est très variable. La température de croissance des bifidobactéries varie respectivement de 36 à 38°C

et de 41 à 43°C et à des valeurs de pH comprises entre 6,5 à 7. Les espèces les plus utilisées comme probiotiques, sont *Bifidobacteriumlactis* et *Bifidobacteriumlongum* (Dong *et al.*, 2000).

4.2. Activité antimicrobienne des bactéries probiotiques

Les bactéries probiotiques doivent essentiellement maintenir de bonnes conditions sanitaires au niveau du tractus digestif(**figure 14**), il est donc important qu'elles soient aptes à inhiber le développement des germes indésirables, soit par la production de substances antagonistes de type bactériocines, ou autres, tels que les acides organiques et le peroxyde d'hydrogène ; en empêchant l'adhésion des germes pathogènes aux cellules de la paroi intestinale (Simon *et al.*, 2005).

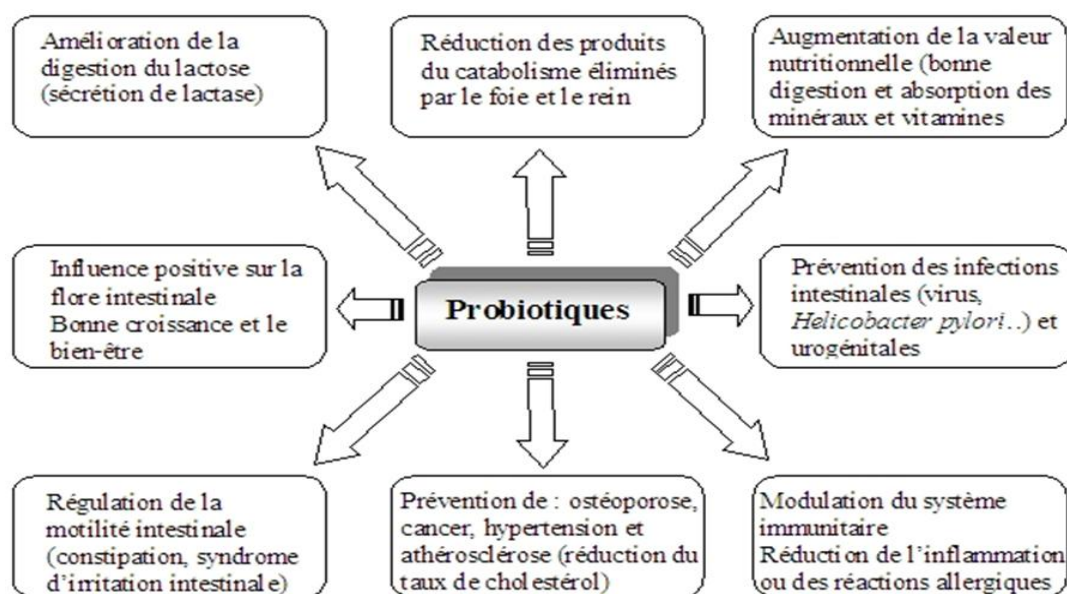


Figure 14. Effet des probiotiques sur la santé humaine (simon *et al.*, 2005).

4.3. Propriétés des bactéries lactiques

4.3.1. Propriété acidifiante

La fonction acidifiante est la plus recherchée des bactéries lactiques qui a pour effet une production importante d'acide lactique conduisant à une acidification rapide et durable. Les conséquences d'ordre physicochimique et microbiologique sont récapitulées :

Coagulation du lait ;

Synérèse du caillé et solubilisation du calcium micellaire ;

Participation aux qualités organoleptiques des produits laitiers fermentés et inhibition de la croissance de microorganismes nuisibles (**surta et al., 1998**).

4.4. Emploi des bactéries probiotiques dans les produits laitiers

Les produits laitiers probiotiques appartiennent à la catégorie des produits laitiers fonctionnels qui ont montré une croissance impressionnante au cours des dernières années(**Menrad, 2003**). Ainsi, le nombre des produits disponibles et la connaissance du consommateur du concept probiotique a évolué, et, en conséquence, la recherche sur ces produits a également augmenté. Plus de 600 produits alimentaires probiotiques sont commercialisés par l'industrie laitière depuis 2006 comprenant : les crèmes glacées, les fromages, beurre, laits en poudre, desserts glacés et mayonnaise (**Sveje, 2007**). Cependant, les exemples les plus connus des produits laitiers probiotiques sont le lait fermenté et les yaourts, qui sont généralement consommés après quelques jours ou semaines de leur fabrication (**Nagpal et al., 2007**).

Le yaourt a longtemps été reconnu comme un produit avec de nombreuses caractéristiques appréciées par les consommateurs, ce qui en fait un choix évident en tant que porteur de souches probiotiques. Au cours de ces dernières années, la popularité de bio-yaourts, contenant des ferments *S. thermophilus*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. acidophilus* et des espèces de *bifidobacterium* a augmenté de manière significative (**Farnworth, 2008**).

Selon le British Journal of Nutrition (**Guarner et al., 2005**) le concept de «probiotiques » a évolué vers une notion simple et directe: Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates confèrent un avantage sur la santé de l'hôte ». La consommation de yaourt montre des avantages mesurables sur la santé liés à la présence de bactéries vivantes, par rapport aux produits avec des bactéries tuées. Ainsi, les levains du yaourt remplissent clairement le concept actuel des probiotiques au moins pour ses effets bénéfiques sur la digestion du lactose in vivo " (**Guarner et al., 2005**).

Les cultures probiotiques de lactobacilles et de bifidobactéries restent viables dans le yaourt au cours du stockage réfrigéré à des niveaux supérieurs à 10^6 UFC/g. Cependant, des problèmes de stabilité des bactéries probiotiques dans le yaourt et les produits laitiers fermentés ont été rapportés (**Farnworth, 2008**).

4.5. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt

4.5.1. Production d'acide lactique

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien .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°D pour un yaourt brassé et entre 80 à 90°D pour le yaourt ferme (**Loones, 1994**).

L'importance de l'acide lactique durant la fabrication du yaourt peut se résumer comme suit : il aide à déstabiliser les micelles de caséines, ce qui conduit à la formation du gel ; Il donne au yaourt son goût distinct et caractéristique, comme il contribue à la saveur et l'aromatisation du yaourt (**singh et al.,2006**),Il intervient comme inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes indésirables (**leory et al., 2002**).

4.5.2. Activité protéolytique

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

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

St. Thermophilus est considérée comme ayant une faible activité endopeptidasique. Elle dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique. Elle dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique en acides aminés libres.

4.5.3. Activité aromatique

Divers composés volatils et aromatiques interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt. C'est principalement le lactose qui intervient dans la formation de ces composés dans une fermentation de type hétérofermentaire .Parmi ceux- ci, l'acide lactique confère au yaourt son goût acidulé. L'cétaldéhyde, qui provient en grande partie de la thréonine, joue le rôle essentiel dans ces

caractéristiques organoleptiques recherchées. La concentration optimale de ce métabolisme 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 ; de la thréonine par l'action de la thréonine aldolase.

Le diacétyl contribue à donner un goût délicat qui est dû à la transformation de l'acide citrique et, secondairement, du lactose par certaines souches de streptocoques. D'autres composés (acétone, acétone, etc) contribuent à l'équilibre et à la finesse de la saveur. Ceci résulte d'un choix avisé des souches, de la 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.

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

4.5.4. Activité texturante

La texture et l'onctuosité sont, pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt. Certaines souches bactériennes produisent, à partir du glucose, des polysaccharides qui, en formant les filaments, limitent l'altération du gel par les traitements mécaniques et contribuent à la viscosité du yaourt.

L'augmentation de la viscosité du yaourt est en général attribuée à la production d'exopolysaccharide (EPS) qui, selon une étude portant sur plusieurs souches serait essentiellement composé de rhamnose, arabinose et mannose(**Tamine,1999**).

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

4.6. Comportement associatif des deux souches

St. Thermophilus et *Lb. Bulgaricus* se développent en association (appelée protocoopération) dans des cultures mixtes ayant un intérêt à la fois d'ordre technologique et nutritionnel (**figure 15**).

Ces bactéries, par leur activité acidifiante, ont un effet bénéfique du point de vue qualitéhygiénique 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).

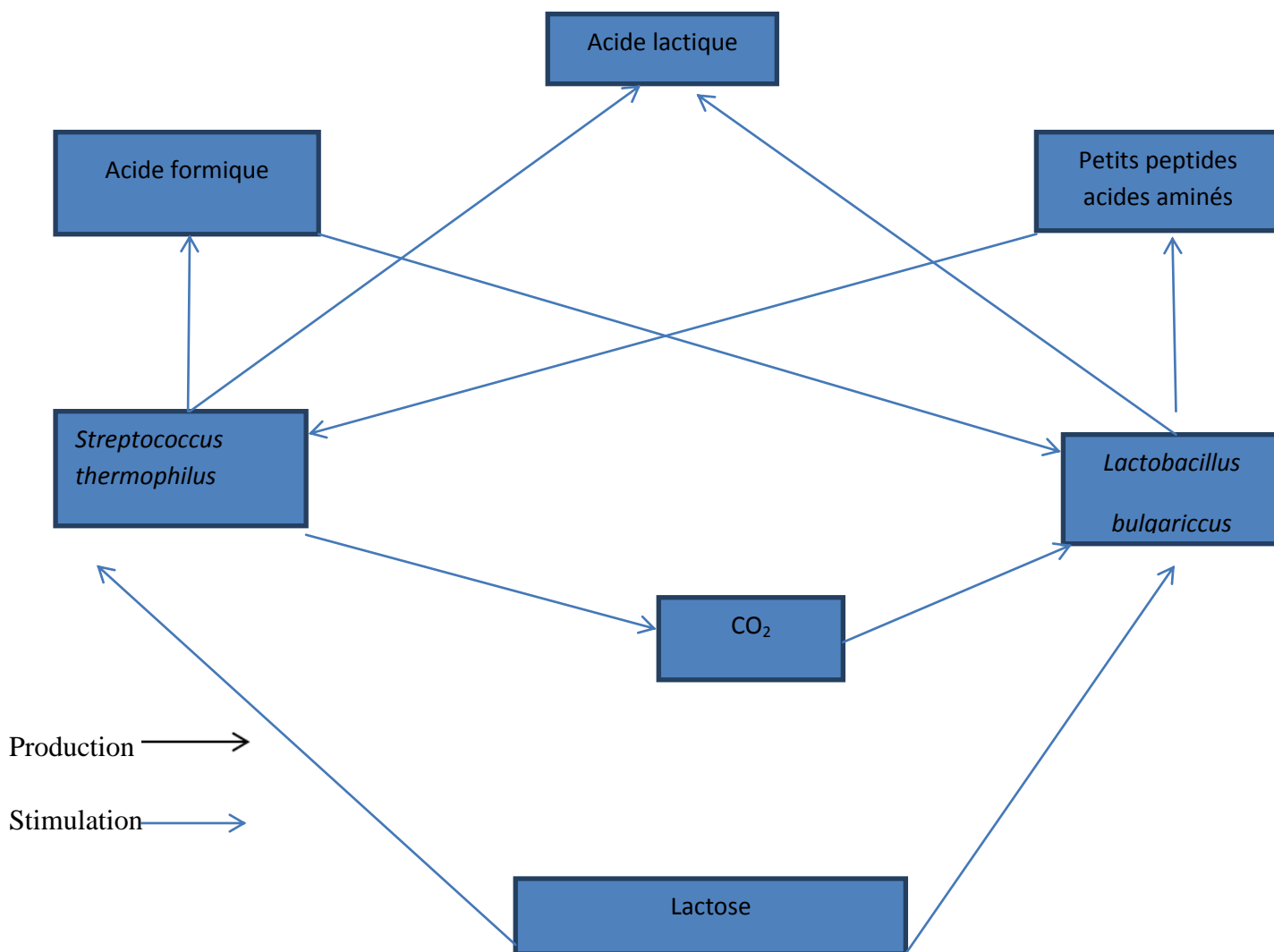


Figure 15. Schéma illustrant les interactions de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* en culture mixte dans le lait (Mahaut et al, 2000).

5. Les différents types de yaourts

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

Le yaourt à boire ou liquide est battu après avoir été brassé puis conditionné et stocké au froid. Le yaourt « ferme » est conditionné en pot après mélange des ingrédients, passage à l'étuvage à 45° C puis en chambre froide pour arrêter l'acidification.

6. Technologie du yaourt

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

Les étapes de fabrication (**figure16**) peuvent différer selon qu'on a affaire à un yaourt « étuvé » dont la fermentation se fait après conditionnement en pots et le yaourt « brassé », dont la fermentation se fait en cuve. Le coagulum obtenu dans ce dernier cas est dilacéré et brassé pour être rendu plus ou moins visqueux, puis conditionné en pots.

Globalement, il est distingué dans le processus d'élaboration les étapes énumérées ci- dessous.

6.1. Standardisation du mélange

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

La teneur en matière grasse du yaourt est variable. Généralement, elle est ajustée de sorte que le produit entre dans l'une des catégories ci-après :

- yaourt entier : au minimum 3% (en poids) de matière grasse.
- Yaourt partiellement écrémé : moins de 3 % de matière grasse.
- Yaourt écrémé : au maximum 0.5 % de matière grasse.

L'homogénéisation (à des pressions de 250 atmosphères) réduit le diamètre des globules gras et permet ainsi une meilleure dispersion de celles-ci dans le produit, limite sa remontée au cours de l'incubation et donne une consistance plus uniforme au yaourt fabriqué (**Lee et al 2005**).

La consistance et la viscosité du yaourt sont pour une grande partie sous la dépendance de la matière sèche du lait. La matière grasse confère de l'onctuosité, masque l'acidité et améliore la saveur. Les protéines améliorent la texture et masquent aussi l'acidité. Selon le code de recommandations FAO/OMS (1975), la teneur minimale en matière sèche laitière non grasse doit être de 8.2% (en poids) quelle que soit la teneur en matière grasse.

6.2. Traitement thermique

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

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

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

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

6.3. Ensemencement

Elle se fait à l'aide d'un levain comprenant exclusivement chacune des deux bactéries spécifiques du yaourt : *Streptococcus Thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. La culture utilisée estensemencée à raison de 2 %. Une bonne agitation est nécessaire pour rendre parfaitement homogène le mélange lait/ ferment.

6.4. Réchauffage

Le lait reconstitué ainsiensemencé est amené à une température généralement voisine de 45 °C par passage à travers des réchauffeurs à plaques. La température optimale de développement du streptocoque est de 42-45 °C , celle du lactobacille est de 47-50 °C.

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

6.5. Etuvage / brassage

6.5.1.Phase d'incubation (étuvage)

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

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

L'acidification dépend de la température et de la durée d'incubation. Les pots sont maintenus dans l'étuve jusqu'à l'obtention d'une acidité de 0.75 (au minimum) à 1% environ d'acide lactique, soit 75 à 100° Dornic. Le caillé obtenu dans ces conditions doit être ferme, lisse et sans exsudation de sérum.

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

6.5..2. Brassage

En vue de fabriquer des yaourts brassés, le laitensemencé est maintenu en cuve à la même température que dans le cas des pots (entre42 et 46 °C) jusqu'à obtention de l'acidité voulue. On procède par la suite au découpage et au brassage du caillé pour le rendre onctueux. Ce traitement, qui

doit se faire avec précaution pour ne pas induire des transformations indésirables, a pour but de rendre le caillé onctueux.il doit être réalisé avec précaution en optant par l'un des procédés suivants :agitation mécanique à l'aide d'un brasseur à turbine ou à hélice ; passage du gel avec un tamis et homogénéisation à basse pression.Une fois ce traitement opéré, le caillé est immédiatement et rapidement refroidi à une température inférieure à 10°C. Le yaourt est ensuite conditionné en pots et conservé entre 2 à 4 °C. L'addition éventuelle d'arômes, de pulpes de fruits, etc., se fait au moment du remplissage des pots.

7. Conservation des yaourts

Préparés selon une technologie rigoureuse et dans des conditions hygiéniques strictes, le yaourt peut se conservé environ 3 semaines jusqu'à la vente au consommateur sous réserve d'être maintenu au froid (entre 4 et 8°C).

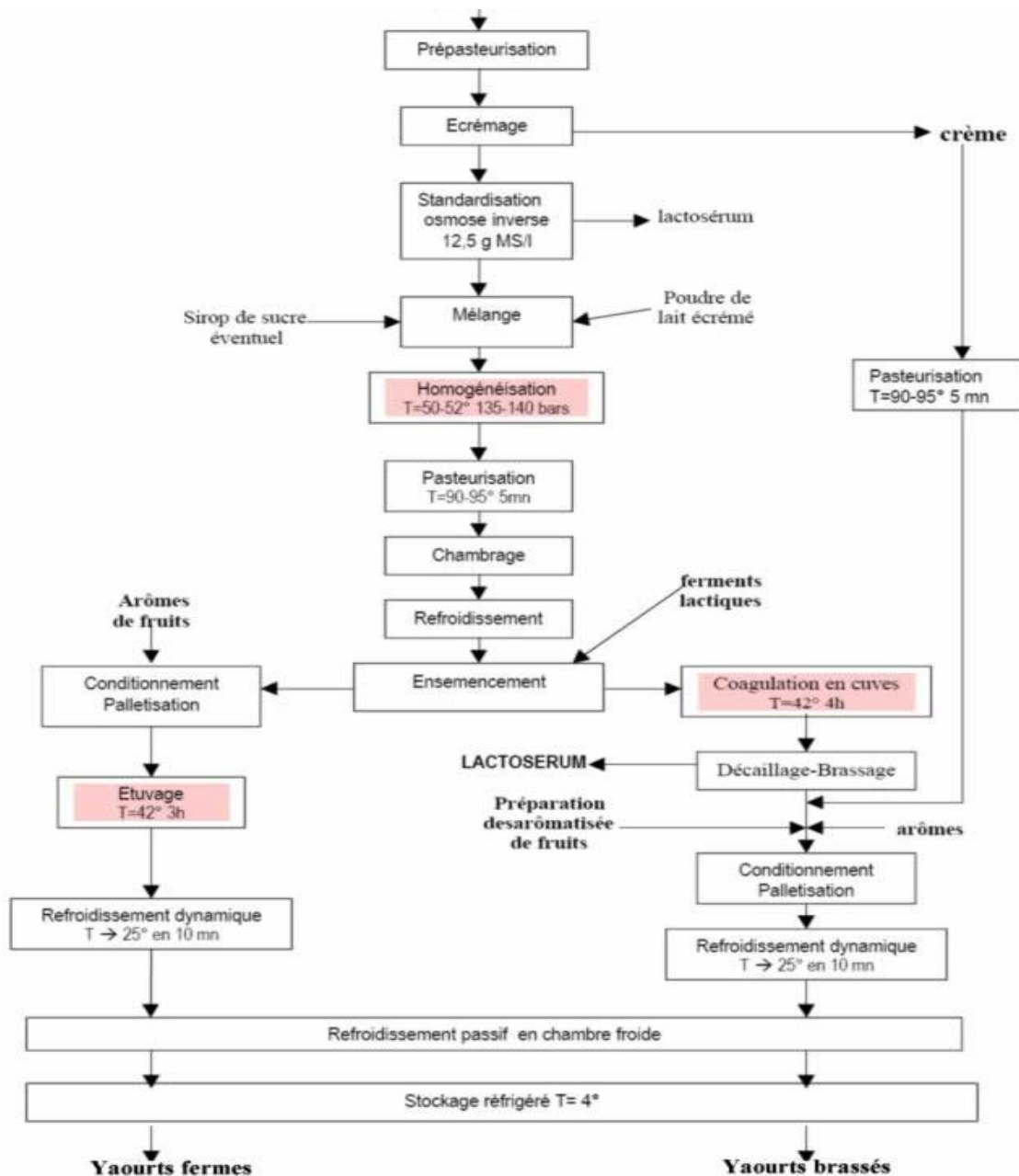


Figure 16. Diagramme de fabrication des yaourts (Tamine,2006).

8. Qualités du yaourt

8.1. Aspects physico-chimiques

Le yaourt doit répondre aux caractéristiques suivantes : Couleur franche et uniforme ; Goût franc et parfum caractéristique ; texture homogène (pour le yaourt brassé) et ferme (yaourt étuvé (Tamime& Robinson, 2007).

8.2 .Aspects hygiéniques

Selon la norme nationale de 1998, N°35 parue au Journal Officiel, les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène. Le traitement thermique appliqué sur le lait avant fabrication du yaourt est suffisant pour détruire les micro-organismes non sporulés pathogènes ou non. Leur présence dans le yaourt ne peut être que de manière accidentelle. Le pH acide du yaourt le rend hostile aux germes pathogènes, comme pour la plupart des autres germes indésirables. Les levures et les moisissures peuvent se développer dans le yaourt. Ces dernières proviennent principalement de l'air ambiant dont la contamination se situe au stade du conditionnement (**Bourgeois et al ., 1980**).

8.3 Qualité organoleptique

La qualité organoleptique des aliments regroupe les propriétés d'un produit perceptibles par les organes de sens

L'odeur et l'arôme sont perceptibles par l'organe olfactif. Pour l'arôme 'yaourt', l'acétaldéhyde est considéré comme le principal composé d'arôme.

La saveur correspond à la sensation perçue par l'organe gustatif lorsqu'il est stimulé par certaines substances solubles. le yaourt est caractérisé par une saveur acide due à la présence d'acide lactique, ainsi que la saveur sucrée est due à la présence du lactose non hydrolysé et du galactose produit au cours de la fermentation.

La texture est définie comme l'ensemble des propriétés mécaniques, géométriques et de surface d'un produit, la texture en bouche des yaourts est caractérisée le plus fréquemment par le caractère épais, nappant et 'mouthfeel' qui est une sensation relative à la densité et la viscosité. Elle est faible pour les produits liquides et importante pour les produits qui replissent et restent en bouche (**norme ISO 5492 ,1992**).

1. Objectifs

Les objectifs fixés à travers cette étude expérimentale s'articulent autour de 04 points essentiels :

- 1- Procéder à une extraction des principaux composés bioactifs de la plante par usage d'un solvant polaire à savoir, le Méthanol ;
- 2- Faire une caractérisation phyto-chimique des principaux composés bioactifs de la plante autochtone sauvage de *Thymus vulgaris*L. (Thym) prélevée de la région de Naama ;
- 3- Suivre les effets antimicrobiens dans l'extrait de *Thymus vulgaris*L. sur les germes spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* en vue d'optimiser la manière dont il faut l'incorporer au cours du processus de fabrication d'un lait fermenté type yaourt étuvé ;
- 4- Essayer d'incorporer l'extrait de *Thymus vulgaris* L. à différentes doses dans la fabrication d'un lait fermenté yaourt ferme en vue de suivre leurs effets sur la stabilité et la qualité des produits transformés (laits fermentés) durant 21 jours de conservation au froid à 4 °C .

2. Matériel végétal

Le matériel végétal ,objet de l'étude, le Thym (*Thymus vulgaris* L.) a été prélevé le mois de Mars 2017, dans la Wilaya de Naama au sud d'Algérie. Un échantillon de 2 à 3 kg pris uniquement sur la partie aérienne de l'espèce étudiée a été récolté d'une manière aléatoire dans la région de Mechria relevant de la Wilaya de l'étude (**figure 17**). La matière végétale a été ensuite étalée sur du papier aluminium, puis séchée à l'air ambiant durant 2 semaines. Les échantillons séchés sont enfin broyés dans un broyeur à lame de cuisine ,puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à sec (température ambiante) à l'abri de l'humidité.

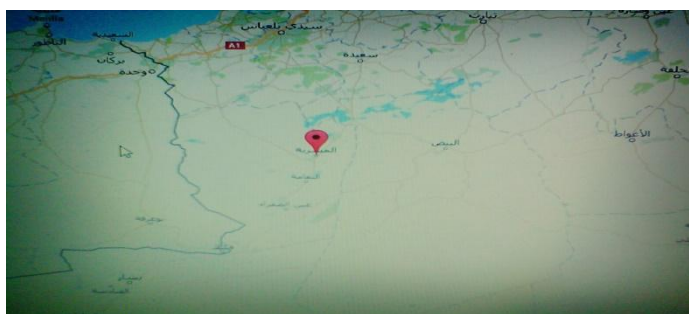


Figure 17.Région d'étude (mechria ,Naama)(google Maps,2017).

2.1. Extraction des composés bioactifs

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

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

En général, l'extraction des composés bioactifs à partir de la matière végétale dépend de leur structure chimique, du type de solvant utilisé, de la méthode d'extraction de la granulométrie et du temps de macération. Les extraits phénoliques des plantes sont généralement des mélanges des différentes classes de composés phénoliques qui sont solubles dans le solvant utilisé. La solubilité de ces derniers dépend du type de solvant utilisé (polarité) et de leur degré de polymérisation.

L'extraction des composés bioactifs de la plante a été réalisée par usage de Méthanol aqueux comme solvant d'extraction. le méthanol (80%) , donne généralement de meilleurs rendements d'extraction et de ce fait il est très utilisé par rapport aux autres solvants d'extraction (**Castaneda et al., 2009**).

L'extraction solide-liquide utilisée et l'état physique de la plante, réduite en poudre, permet au solvant, méthanol de franchir la barrière de l'interface solide-liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide (matière végétale) et ressortir le soluté (Matière organique) du solide. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion.

L'extraction 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 a été laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction favorisera ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante

telles que la lignine ainsi que les substances pectiques et permet une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs.

L'extraithydrométhanolique obtenu a été filtré en utilisant un papier filtre Whatman n°2 ayant une porosité de 0,2µm et il a été enfin débarrassé du solvant par évaporation sous vide à 45 °C.

Pour éviter toute dégradation de l'extrait due à l'action de l'air et de la lumière, Les échantillons ont été conservés jusqu'à leur utilisation au réfrigérateur à 4° dans des tubes fumés en verre stériles et bien fermés.

3. Étude chimique et phyto-chimique de *thymus vulgaris*

3.1. Teneur en eau

Le taux d'humidité des échantillons de la plante a été déterminé par le procédé de dessiccation à une température de 105° C durant 24 heures ,dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'un poids constant (**Linden et Lorient, 1994**).

$$T\% = \frac{x-y}{x} \times 100$$

X : Poids de l'échantillon

Y : Poids de l'échantillon après déshydratation

T% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage

3.2. Rendement

Le rendement en principes bioactifs de la plante est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait obtenue et la masse végétale sèche à traiter (**Carré, 1953**). Le rendement en principes bioactifs est exprimé par la formule suivante :

$$R (\%) = m_1 \cdot 100 / m_0$$

R(%) : Rendement exprimé en pourcentage (%) ;

M₁ : masse en (g) d'extrait

M₀ : masse en (g) de la matière végétale trait

3.3. Etude phyto-chimiques de extrait hydrométhanolique

Dans le but de caractériser les extraits préparés à partir du broyat de matière végétale de *Thymus vulgaris* des analyses qualitatives et quantitatives ont été effectuées.

3.3.1. Flavonoïdes

La présence ou l'absence des flavonoïdes dans un extrait peut être mise en évidence par un test simple et rapide appelé " réaction de Shinoda" (**Lock et al., 2006**). Le test consiste à ajouter à 1ml de l'extrait, quelques gouttes d'HCl concentré (2N) et environ 0,5g de magnésium métallique. Laisser agir 3 min et regarder le changement de couleur. La présence de flavonoïdes est confirmée par la coloration rouge, orangée, rosée ou rouge violacé.

3.3.2. Tanins et autres composés phénoliques

L'extrait organique de masse 100mg est dissout dans 25mL d'eau distillée bouillante, puis additionné de quatre gouttes de solution aqueuse de NaCl à 10%. La solution ainsi obtenue est filtrée sur papier Whatman n°5. Le filtrat refroidi est alors réparti dans quatre tubes à essai, le 4ème tube servant de témoin (**Ranarivelo, 2004 ; Rizk, 1982**).

_ Tube n°1: addition de cinq gouttes de gélatine à 1%. L'apparition d'un précipité éventuel indique la présence de polyphénols.

_ Tube n°2: addition de cinq gouttes de gélatine salée (mélange volume à volume de gélatine à 1% et de solution NaCl à 10%). L'apparition d'une précipitation par la gélatine salée signifie la présence de tanins.

_ Tube n°3: addition de cinq gouttes de FeCl₃ dilué à 1% dans le méthanol.

- La présence de tanins galliques et ellagiques (tanins hydrolysables) est indiquée par l'apparition d'une coloration bleue noire.
- La présence de tanins catéchiques (tanins condensés) s'observe par l'apparition d'une coloration brune verdâtre.
- Une réaction négative à la gélatine salée accompagnée d'une coloration verte ou bleue noire avec FeCl₃, est due à la présence d'autres types de composés phénoliques.

3.3.3. Alcaloïdes :

A 500 mg d'extrait hydrométhanolique sec sont ajoutés 10 ml de HCl 2N aqueux. Le mélange est ensuite porté au bain marie bouillant pendant 5 mn tout en agitant avec une baguette de verre. Après refroidissement, on y ajoute 500mg de NaCl. Le mélange est alors agité puis filtré sur papier Whatman n°5. Le volume du filtrat est ensuite ramené à 10ml par addition de HCl 2N puis réparti dans quatre tubes à essai dont l'un servira de témoin et les trois autres sont testés respectivement par addition de 5 gouttes de réactif d'alcaloïde. La réalisation de trois tests au minimum est nécessaire pour pouvoir affirmer la présence d'alcaloïdes dans le matériel végétal testé et éviter des réactions faussement positives (**Bruneton, 1999**).

- Test au réactif de Mayer : la présence d'alcaloïde est indiquée par l'apparition de flocon de précipité blanc lors de l'addition de tétraiodomercurate de potassium (solution mélange de HgCl₂ et de KI) dans l'extrait acide.
- Test au réactif de Wagner : la présence d'alcaloïde se révèle à l'apparition de précipité rouge orangé lors de l'addition de réactif iodo-ioduré (solution mélange de I₂ et de KI) dans l'extrait analysé.
- Test au réactif de Dragendorff : la présence d'alcaloïde est révélée par l'apparition de précipité orange lors de l'addition de tétraiodobismuthate de potassium (solution mélange de sous-nitrate de bismuth et de KI) dans l'extrait testé.

3.3.4. Caractérisation des composés bioactifs de thym par chromatographie sur couche mince (CCM)

L'analyse des extraits bruts par chromatographie sur couche mince (CCM, TLC en anglais) nous permet dans un premier temps d'avoir une idée sur les différentes classes de composés contenus dans les extraits testés.

Principe

La CCM est une technique analytique simple, rapide et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur les phénomènes d'adsorption et de partage, où les molécules à séparer s'adsorbent à la surface d'un support (phase stationnaire) et seront entraînées à travers ce dernier par un éluant (phase mobile), donc la séparation est fonction des différences d'adsorption des composants de l'échantillon sur la

phase stationnaire et des différences de leur solubilité dans la phase mobile (**Braithwaite et Smith, 1999**).

Méthode

Les analyses sont effectuées en phase normale, avec des plaques de silice (Silicagel 60 F254, de 0,25 mm d'épaisseur) déposées sur feuille d'aluminium, ce qui constitue la phase stationnaire. Sur les plaques préparées, on a déposé 10 µl de chaque extrait (100 mg/ml) et standard (5 mg/ml) et les plaques sont ensuite introduites dans des cuves conventionnelles en verre préalablement saturée par la phase mobile, qui peut être généralement un mélange binaire ou ternaire des solvants, selon le type de séparation recherchée (**Biallo et al., 2004**).

Dans notre cas, le système de solvants qui a été utilisé est le n-Butanol - Acide acétique - Eau (60 : 15 : 25 V/V/V) (**Biallo et al., 2004**).

Après développement, les plaques CCM sont séchées, observées sous lampe UV à 254 nm et 366 nm, pulvérisées par un mélange vanilline sulfurique, puis séchées à 60°C pendant 5 minutes afin de révéler les spots issus de la séparation.

À 254 nm, les tâches sont encerclées en trait plein et à 366 nm, elles sont encerclées en pointillés, ce sont les substances UV actives. La vanilline sulfurique (réactif de Godin) est un réactif à spectre large permet de caractériser des terpenoïdes, des dérivés de type phénylpropane et des phénols. Elle est formée d'un mélange (V/V) d'une solution éthanolique d'acide sulfurique (V/V) et d'une solution éthanolique de vanilline à 1%.

Les R_f sont comparés à ceux des témoins disponibles facilitant ainsi l'identification de quelques constituants des différents extraits. La valeur du R_f est définie comme suit :

$$R_f = D_i / D_S$$

D_i : Distance entre l'origine et la tâche du produit après élution.

D_S : Distance entre l'origine et le front du solvant après élution.

Chaque substance a été identifiée par sa fluorescence sous UV, par son rapport frontal (R_f) dans le système de solvant précis et par sa couleur après révélation avec le réactif de la vanilline sulfurique.

3.3.5. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux de *Thymus vulgaris* a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au réactif de FolinCiocalteu(Singleton *et al.*, 1999).

Principe

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu(Daels-rakotoarison, 1999).

Mode opératoire

A 0.2 ml d'extrait est ajouté à 0.8 ml de la solution de Na_2CO_3 (75 mg/ml). Après agitation, 1ml de la solution de FolinCiocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) est ajouté à l'ensemble. Après 2h d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc sans extrait.

Le taux de polyphénols totaux dans les extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0-200 $\mu\text{g/ml}$), comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait en poudre de la plante ($\mu\text{g Eq AG/mg}$).

Le total des composés phénoliques est déterminé selon :

L'équation suivante :

$$T=C.V/M$$

T : Représente le total des composés phénoliques (mg EAG / g d'extrait sec de la plante)

C : Concentration d'extrait exprimé en équivalent d'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml)

V : Le volume d'extrait au méthanol (ml)

M : Poids sec d'extrait du l'extrait hydrométhanolique de la plante (g).

3.3.6. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Yi et al., 2007) est employée pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait de feuilles de *Thymus vulgaris*L. . 1 ml de l'échantillon (préparé dans le méthanol avec les dilutions convenables) est ajouté à 1ml de la solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol), le mélange est vigoureusement agité. Après 10 mn d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage ($y=ax+b$) établie par la quercétine (0-40µg/ml), réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait de feuilles en poudre).

3.3.7. Caractérisation des composés bioactifs du thym par chromatographie liquide à haute performance

La technique de séparation la plus appréciée en analyse phyto-chimique est la chromatographie liquide à haute performance (pression).

Principe

La méthode de séparation fait appel aux mêmes éléments de base que ceux employés pour la chromatographie classique sur colonne, soit un ou plusieurs solvants et une colonne remplie avec une phase stationnaire, mais avec un appareillage plus sophistiqué. La grande différence par rapport à la chromatographie classique réside dans la durée d'élution. Cette vitesse est obtenue par l'application d'une pression élevée grâce à une pompe qui maintient constant le débit de l'éluant, elle se distingue également de la chromatographie classique par l'utilisation d'un détecteur dont le message est enregistré puis exploité par un détecteur relié au système (Braithwaite et Smith, 1999).

Mode opératoire

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe HPLC-RP-C18, équipé d'éléments suivants :

- Une colonne C 18 (d'une longueur de 15 cm et d'un diamètre interne de 4,6 mm) contenant la phase stationnaire apolaire (phase inverse). Cette dernière est constituée de silice modifiée chimiquement par greffage de résidus (C-18) . Ces colonnes en phase inverse permettent la séparation des composés polaires, solubles dans l'eau ou dans les mélanges hydro-alcooliques.

- Un système de pompage, utilisant une Pompe (VARIAN 9010), pour déplacer la phase mobile à hautepression (plusieurs dizaines de bars).
- Un injecteur (VARIAN 9100), pour introduire l'échantillon, dans le système à hautepression ;
- Un détecteur monochrome:(VARIAN 9065).
- Un logiciel informatique permettant de visualiser les signaux enregistrés par le détecteur.

-Les conditions opératoires sont les suivantes:

- Débit: 1 ml/minute
- Pression de travail : 57 bars
- Volume d'injection: 5 μ l
- Longueur d'onde: 254 nm
- Concentration de l'échantillon: 1–5 mg/ml
- Temps d'analyse : 60 minutes.
- Température :15 °C
- Phase mobile est de composition constante (mode isocratique), elle est composée d'un mélangeEau- méthanol (98 : 2 V/V).

4. Etude des effets antimicrobiens des extraits de thym au méthanol récolté de la région de Naama.

4.1. Activation des inocula microbiens

L'étude a concerné les deux souches pures de références et spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Chaque espèce lactique a été tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale. Une prise de 0.25 g de la souche lyophilisée conservée au froid à 4 °C est au préalableensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 03 heures. 0,1 ml de cette dernière solution constituant la solution mère a été pris pour êtreensemencée en surface d'une boîte de Pétri contenant un milieu spécifique gélosé de croissance pour chaque espèce microbienne (MRS ou M17) puis le mélange a été incubé à 37°C pendant 24 heures.

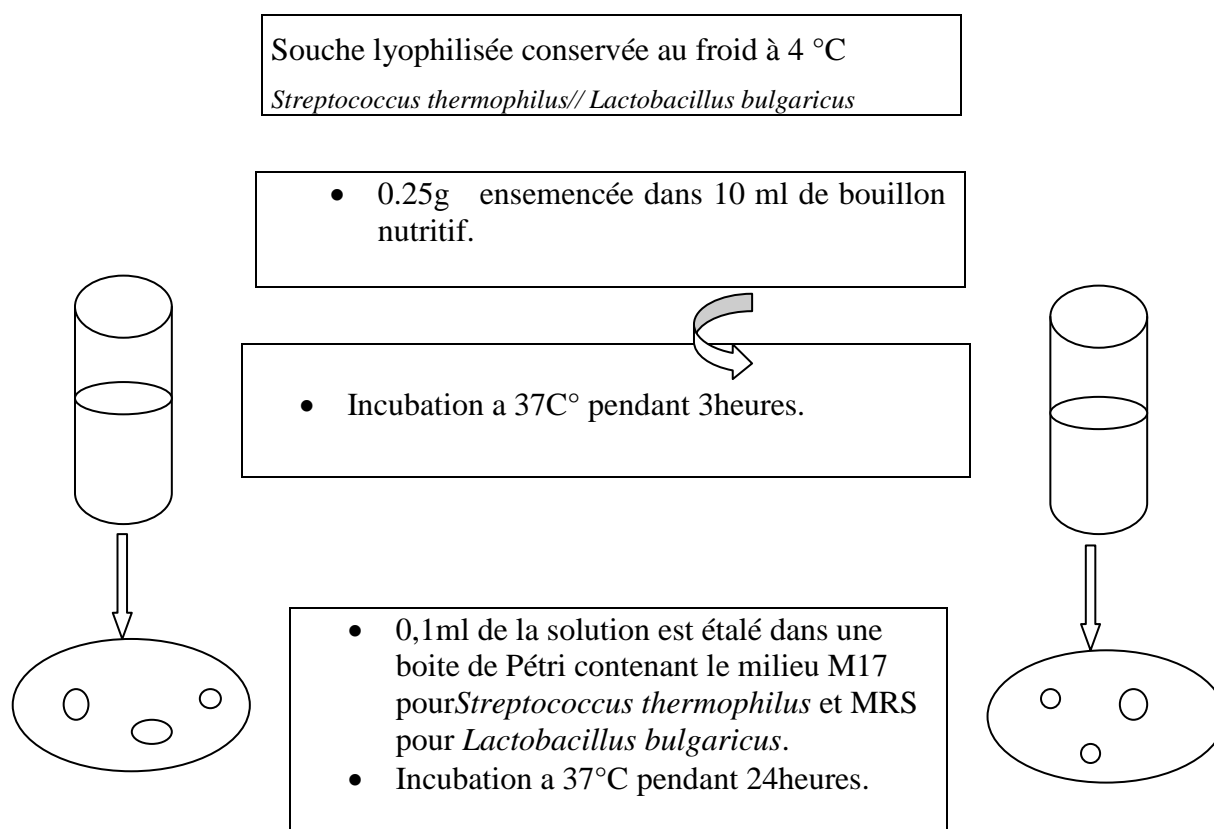


Figure 18. Méthode d'activation des deux souches (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*).

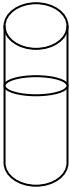
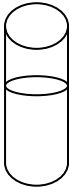
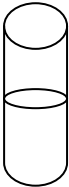
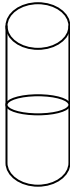


4.2 Méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980)

Une colonie issue d'une culture jeune de chaque espèce microbienne activée comme préalablement sur milieu solide gélosé spécifique a été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, chacune a été ensuite ensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de ces dernières solutions dont chacune constitue une solution mère d'une espèce de bactérie lactique donnée, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique ont été effectuées ; allant à 10^4 pour respectivement les *Streptococcus thermophilus* et les *Lactobacillus bulgaricus*. Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait de thym dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% (**tableau10**).

Les mélanges des solutions ont été enfin ensemencés en triple essais (03 boîtes de Pétri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu spécifique de croissance pour chaque espèce microbienne. La

lecture du nombre de colonies développées a été effectuée après incubation des milieux ensemencés à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

Tableau 10 .Concentrations des extraits de *Thymus vulgaris*L.obtenus par macération.

Solution	0%	20%	40%	60%	80%	100%
Quantité d'extrait aqueux pure riche en composé bioactif	00ml	02ml	04ml	06ml	08ml	10ml
Quantité d'eau distillée	10ml	08ml	06ml	04ml	02ml	00ml
Ajoutée dans des tubes stériles						

4.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n°2), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination 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 est 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 Pénicilline, 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 fait après incubation des boites de Pétri à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures à l'aide d'une règle.

4.4. 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 du thym obtenus par extraction aux différents solvants 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* prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif a été incubée pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inocula. Des prises de 0,2 ml de chaque inoculum ont été 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 séparément chaque extrait préparé à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum de bactérie lactique ont été ensuite incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures(**figure 19**).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI a été 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 di sera égale à df (di = df)(Moroh et al., 2008).

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

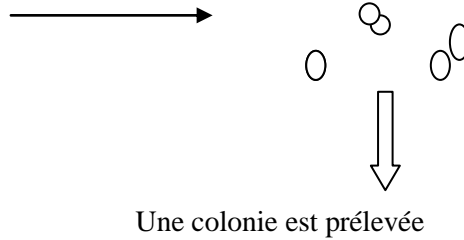
$$S = (df - di) / (Df - Di)$$

-S : Taux de survie du microorganisme en %.

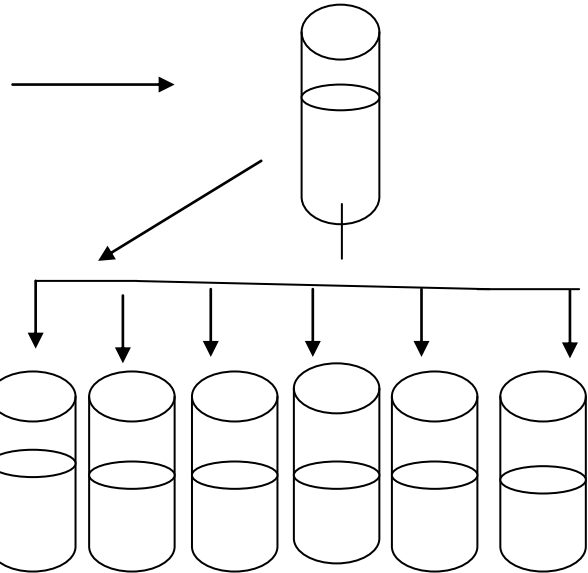
-df-di : différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

-Df-Di : différence de densité optique sans extraits avant et après incubation à 37°C durant 18 heures (Zrihi et al., 2007).

Colonie jeune de la souche étudiée formée après activation sur bouillon nutritif et culture sur milieu spécifiques à 37°C durant 24 heures.



- Ensemencement dans 10ml de bouillon nutritif.
- Incubation à 30°C durant 3 heures.



- Des prises de 0,2ml d'inoculum sont mises respectivement dans 2ml de chaque extrait pur dilué avec le bouillon Muller Hinton.
- Incubation à 37°C durant 18 à 24 heures.

00 20% 40% 60% 80% 100%

Figure 19. Méthode de détermination de la CMI des extraits de thym.

4.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

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

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} , Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures (Figure 20). Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum, également ensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 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.

Souche activée et diluée dans 10ml du milieu Muller Hutton

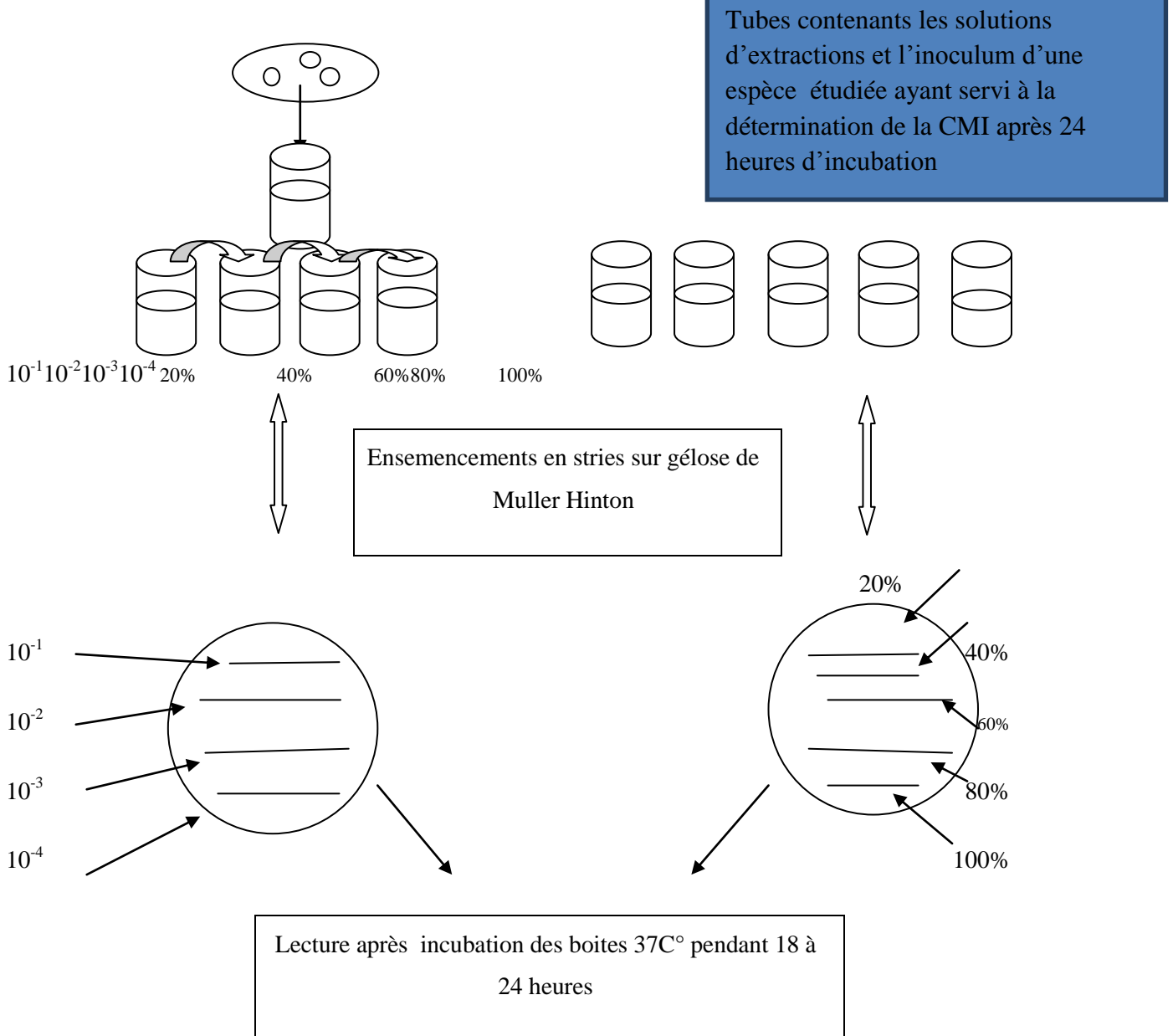


Figure 20. Méthode de la détermination de la CMB de l'extrait hydrométhanolique chez *streptococcus thermophilus* et *lactobacillus bulgaricus*.

5. Essai de fabrication d'un lait fermenté alicament enrichi de l'extrait hydrométhanolique de thym.

5. 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 hydroalcoolique de la plante (*Thymus vulgaris*) récoltée dans la région de (Naama) a été incorporé au cours du processus de fabrication d'un lait fermenté type yaourt étuvé (directement dans le lait cru pasteurisé refroidi et maintenu chauffé à 45 °C) à des taux variables, respectifs de 0,2,4,6 et 8%.

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

Chaque traitement étudié a été représenté par un nombre de répétitions de trois pots d'une capacité de 100ml ; soit un nombre total de 32 échantillons expérimentaux.

5.2 Préparation des levains :

Un litre de lait servant à la préparation du ferment a été préparé à un taux de 130g/l de poudre de lait « écrémé », puis il a subi un traitement thermique durant 2 minutes à 100°C, et un refroidissement à 45°C.

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

Le levain prés a l'emploi avec un rapport de souches de 2 *Streptococcus thermophilus* pour 1 *Lactobacillus bulgaricus* (2S/1L, v/v) a été enfin incorporé dans les laits destinés à la fabrication des laits fermentés alicaments a un taux de 3% (3ml de levain dans 100 ml de lait cru pasteurisé enrichi d'extrait de thym et maintenu durant environ 4 heures à 45 °C) .

5.3 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 additionnés à chaque extrait de *Thymus vulgaris* à raison de 0, 2, 4, 6 et 8%, respectivement. Les échantillons ont été enfinensemencés a 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 sertis par du papier aluminium et orientés vers la fermentation pendant 4 heures dans une étuve réglée à 45°C (**figure 21**).

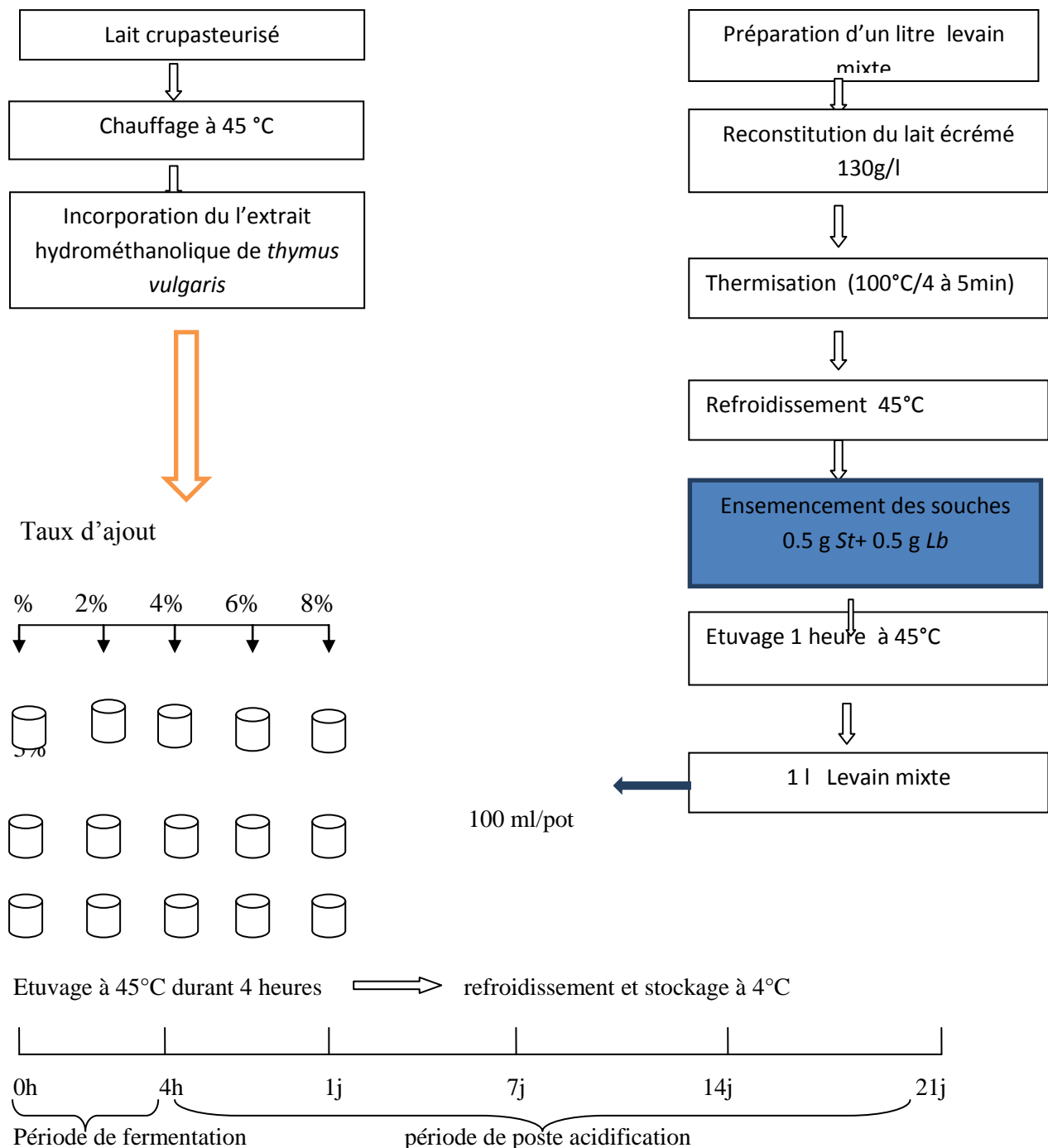


Figure21. Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux.

5.4 Mesures et contrôles des laits fermentés

Les analyses expérimentales ont été réalisées en triples essais, dans chaque pot de lait fermenté expérimental.

5.4.1 Paramètres physicochimiques

5.4.1.1. 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

5.4.1.2 pH

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

5.4.1.3. Viscosité

La viscosité est établie par l'utilisation d'un tube en verre de 2cm de diamètre et de 18cm de longueur équipé d'un chronomètre et d'une bille normalisée

Le yaourt est défini comme un fluide viscoélastique. Il possède donc à la fois les propriétés visqueuses d'un liquide et les propriétés élastiques d'un solide. Le comportement rhéologique du yaourt est de type non Newtonien, dans ce sens où la viscosité du produit dépend de la vitesse de cisaillement ou de la contrainte exercée. La viscosité est déterminée comme suit :

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

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

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

Avec μ : viscosité dynamique ($\text{Kg.m}^{-1} . \text{s}^{-1}$) ; K : constante, tel que $K = 8,175.10^{-4} \text{ m}^{-2}$.

R : rayon de la bille tel que, $r = D/2 = 7,7 \text{ mm}$.

x : la distance d'écoulement de la bille, $x = 16 \text{ cm}$.

g : la force de pasteur, tel que $g = 9.8 \text{ m/s}^2$.

$\xi \text{ bille}$: la masse volumique de la bille $= 7861,27 \text{ Kg.m}^{-3}$.

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

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

5.5 Analyses microbiologiques :

- *Streptococcus thermophilus* : Le dénombrement des germes *Streptococcus thermophilus* a été réalisé par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « M17 » incubé à 37°C pendant 48h.
- *Lactobacillus bulgaricus* : Le dénombrement des germes *Lactobacillus bulgaricus* a été effectué par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « MRS » incubé à 30°C pendant 48h.

5.6. 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 choisis au hasard, qui ont apprécié les produits selon une échelle de notation variable de 1 à 10 en tenant compte des critères suivants :

- Goût 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 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 du produit lors d'une prise d'échantillon ;
- Odeur : Le dégustateur est appelé à apprécier l'existence d'une odeur désagréable dans les produits conservés au froid à 4°C ;
- Arrière-goût : Le dégustateur est appelé à apprécier la sensation d'un arrière-gout amère dans les produits présentés ;
- Couleur : Consiste à apprécier le niveau d'acceptabilité de la couleur des produits chez les consommateurs (**Annexe 3**).

6. 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, les données relatives aux tests organoleptiques ont été analysées statistiquement par le test non paramétrique de Friedman (**STAT BOX 6.4**).

Chapitre I : Caractérisation quantitative et qualitative de l'extrait hydro-alcoolique de *Thymus vulgaris* L.

1-Résultats

1.1. Analyses organoleptiques :

L'examen organoleptique a porté sur des tests olfactifs et gustatifs complétés par une description de l'aspect et de la couleur de l'extrait du thym (*Thymus vulgaris* L.) récupéré après évaporation du solvant d'extraction après macération durant 6 heures de 10 g de matière végétale dans 100ml d'un mélange de solvant formé de 80 ml de MetOH et 20ml d'Eau.

L'extrait hydro-méthanolique du thym se présente sous forme liquide, d'une couleur verte foncée, possédant une odeur aromatique ainsi qu'une saveur forte et piquante (**Tableau 11**).

Tableau 11. Caractéristiques organoleptiques de l'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris* L.

Critères organoleptiques	Couleur	Odeur	Saveur	Aspect
	Verte	Aromatique	Forte et piquante	Liquide

1.2. Composition chimique du thym

La teneur en eau de *Thymus vulgaris* L. déterminée par la perte de masse par dessiccation à l'étuve à une température de 105 °C pendant 24 heures a révélé un taux d'humidité moyenne de 9.4% dans les échantillons de la plante analysés (**Tableau 12**)

Le rendement d'extraction au méthanol aqueux des principaux composés actifs de thym est estimé à 2 %MB (de la matière brute) de la partie aérienne de la plante. Le résultat exprimé en pourcentage de matière sèche de la partie aérienne utilisée de *Thymus* révèle aussi un rendement très intéressant ; de l'ordre de 2.21 %MS (**Tableau 12**).

Tableau12. Composition chimique et rendement d'extraction hydrométhanolique de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* L.

Eau %	Matière sèche %	Rendement d'extraction % MB	Rendement d'extraction en %MS
9,4 ± 1,75	90.6 ± 1,75	2 ± 0,17	2.21 ± 0,17

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, suivies des écarts types correspondants ; MB : Matière brute ; MS : Matière sèche.

1.3 Etude phyto-chimique qualitative

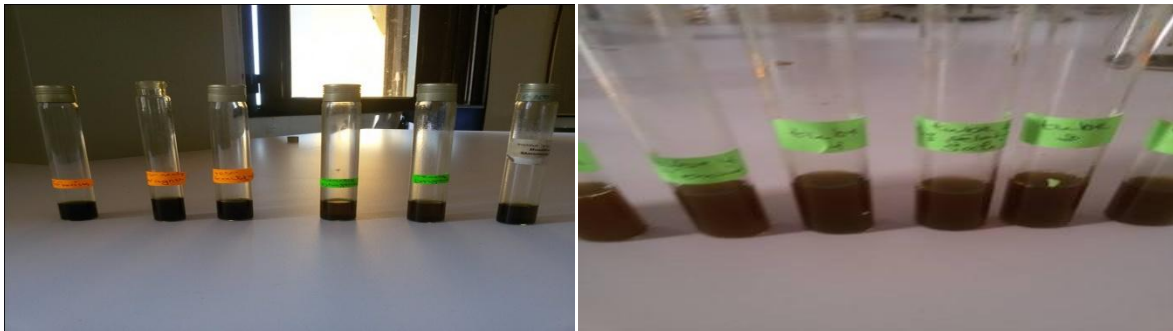
Les résultats de la caractérisation qualitative phytochimiques et par chromatographie couche mince des principaux composés bioactifs de *Thymus vulgaris* L. sont mentionnés dans le (Tableau 13).

Tableau13. Caractérisation phytochimique des principaux composés bioactifs de l'extrait hydro-alcoolique de *Thymus vulgaris* L.

Composés bioactifs de l'extrait de Thym	Poly-phénols	Flavonoïdes	Tanins	Alcaloïdes	Rutine	Quercétine
<i>Caractérisations</i>	+++	++++	++	+++	Présence	Présence

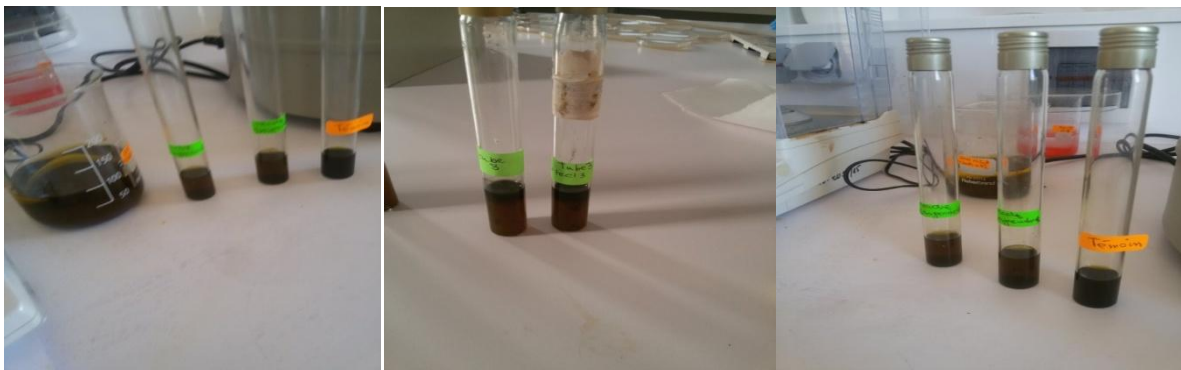
++++ : Très abondant ; +++ : Abondant ; ++ : Moyen

Les tests phyto-chimiques ont montré une faible teneur en tanins, une relative richesse en composés alcaloïdes, ainsi qu'en polyphénols et une présence très abondante de flavonoïdes dans l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris* L. prélevé dans la région de Naama-Algérie (Figure 22).



a/ Flavonoïdes.

b/ Tanins.

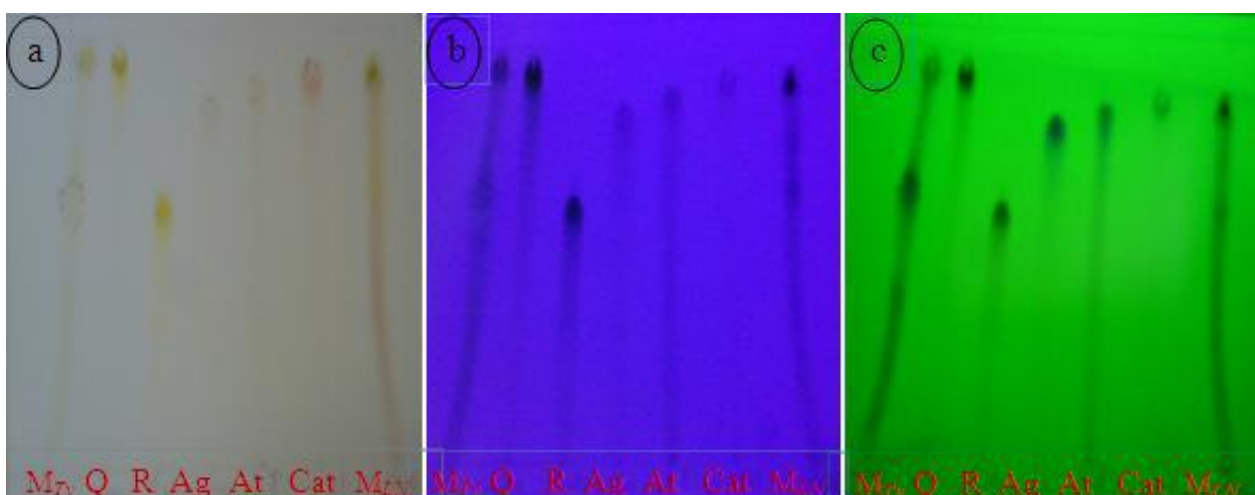


c/Polyphénols

d/ Alcaloïdes

Figure 22 . Caractérisation(en tube) des composés bioactifs (polyphénol, flavonoïdes, tanins et alcaloïdes) du *thymus vulgaris*L.

La chromatographie couche mince a permis de détecter l'existence dans l'extrait expérimental de thym de la rutine et des flavonoïdes dont notamment la quercétine(**Figure23**).



a : Chromatogramme après révélation b: Chromatogramme sous UV à 366 nm. c : Chromatogramme sous UV à 254 m. avec le réactif de Godin.

Figure 23. Chromatogrammes des principaux composés bioactifs de l'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris*L.

Le Flavonols 5,6,7 tri OH libres, le Flavones 5 OH-et 4 OH ; l'ISO flavones, le Flavonols 3-OH libre, le Dihydroflavonols comptent parmi les principaux composés flavanoides recensés dans l'extrait de thym (**Tableau 14**).

Tableau 14. Relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes de *Thymus vulgaris*

Spot coloré	Types de flavonoïdes
Noir	Flavonols 5,6,7 tri OH libres
Brun	3-OH absent ou 3-OH substitué
Violet	Flavones 5 OH-et 4 OH / ISO flavones
Bleu claire (fluorescent)	Flavones sans 5-OH libre
Jaune terne	Flavonols 3-OH libre avec ou sans 5 OH libre
Jaune pale	Dihydroflavonols

Source :(Lahouel,2005)

1.4. Etude quantitative des composés bioactifs de l'extrait de *Thymus vulgaris* L.

1.4.1. Poly-phénols et flavonoïdes

L'extrait pur hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris* L. récolté à la fin du mois de mars dans la région de Naama-Algérie s'avère contenir de fortes proportions de polyphénols totaux estimées à 20.2 µg EAG/mg, en moyenne. L'extrait semble aussi riche en flavonoïdes ; 39,83 µg EQ/mg d'extrait (**Tableau 15**).

Tableau 15. Teneurs en poly-phénols et en flavonoïdes de l'extrait hydro-alcoolique de *Thymus vulgaris* L.

Mesures	Composition de l'extrait hydro-alcoolique
Polyphénols totaux (µg EAG/mg d'extrait)	20.20 ± 0,57
Flavonoïdes (µg EQ/mg d'extrait)	39.83 ± 4,75

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, suivies des écarts types correspondants, avec un nombre n de répétitions égal à 3 ; EAG : Equivalent d'acide gallique ; EQ : Equivalent quercétine.

1.4.2. Profil en composés bioactifs

Les résultats de l'analyse par HPLC-RP-C18 des principaux composés bioactifs de l'extrait hydrométhanolique de la plante aromatique de *Thymus vulgaris* L. sont présentés dans le (Tableau 16 et Figure 24).

L'extrait de thym collecté à Naama-Algérie a montré de fortes proportions en apigénine glycosylée et en fisétine ; 37.46 et 33.82% CB (des composés Bioactifs). L'acide benzoïque et l'acide rosmarinique ont été marqués des taux variables de 6.87 et 7.18, en moyenne. Quant à l'hésperidine, elle a été trouvée à de faibles taux ; 2.19%CB, en moyenne. Le reste des composés qui n'ont pas été identifiés ont constitué une faible part n'ayant dépassé guère 7 % de l'ensemble des composés bioactifs identifiés.

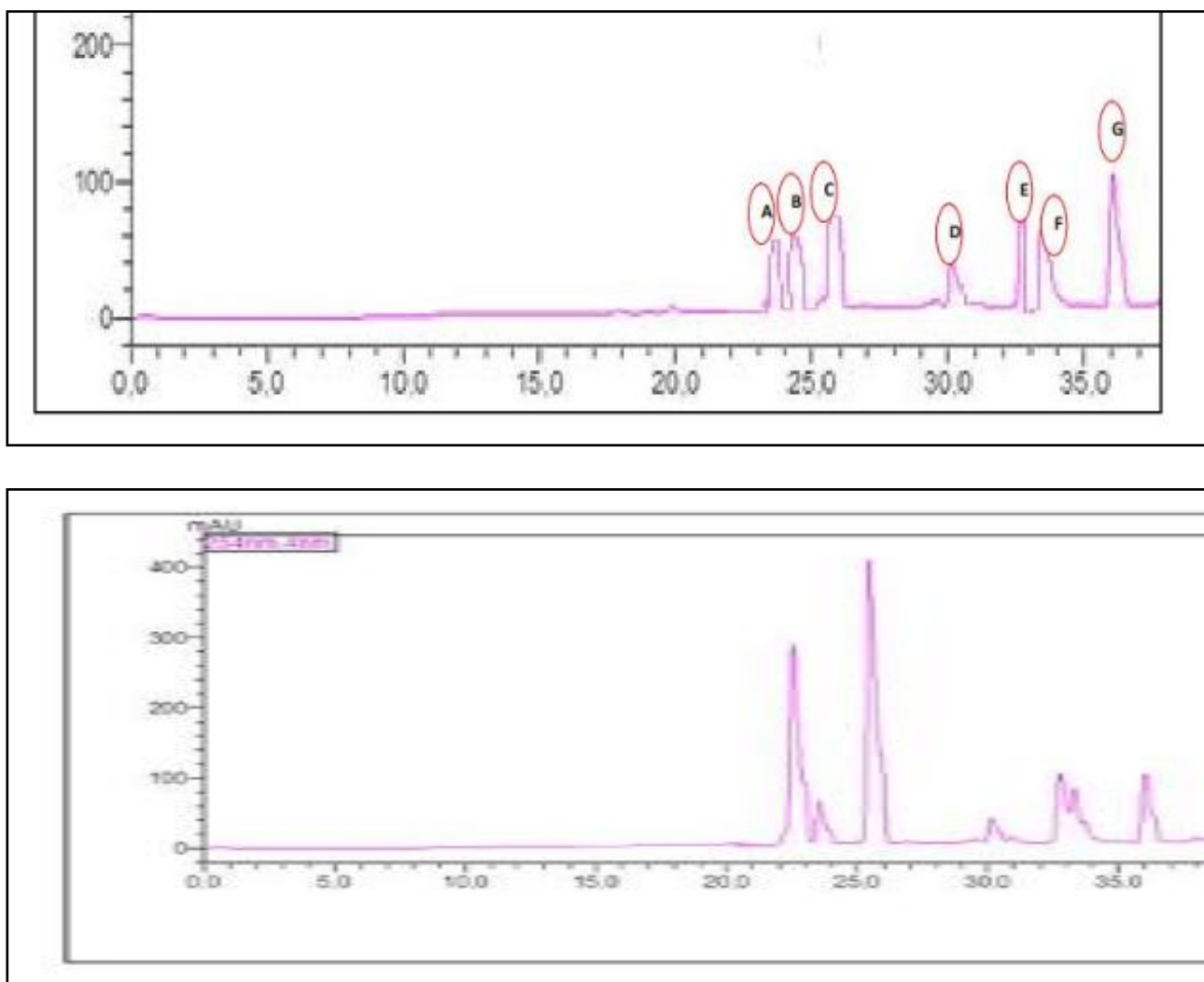


Figure 24. Chromatogramme des principaux composés bioactifs de l'extrait hydrométhanolique du *Thymus vulgaris* L.

L'extrait de ce thym a montré de fortes proportions en apigénineglycosilée et en fisétine ; 37.46 et 33.82% CBP (des composés Bioactifs). La quercitrine, l'acide benzoïque et l'acide rosmarinique ont été marqués des taux variables de 6.24, 6.87 et 7.18% CBP, en moyenne. Quant à l'hésperidine, elle a été trouvée à de faibles taux ; 2.19%CBP, en moyenne. Le reste des composés qui n'ont pas été identifiés ont constitué une faible part n'ayant dépassé guère 7 % de l'ensemble des composés bioactifs identifiés.

Tableau 16. Caractérisation des principaux composés bioactifs de l'extrait de *Thymus vulgaris* L.

Composés	Temps de rétention (mn)	Teneurs en % CB de l'extrait
Fisétine (A)	22,30	33,82
Quercitrine (B)	23,30	6,24
Apigénineglycosilée (C)	25,30	37,46
Hésperidine (D)	30,25	2,19
Acide benzoïque (E)	33,00	6,87
Acide rosmarinique (F)	33,30	7,18
Composés inconnus (G)	36,25	6,24

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes ; CBP : Composés bioactifs Polyphénoliques de l'extrait.

2. Discussion

L'extrait hydro-méthanolique de ce thym, se présente comme étant un liquide, volatil, caractérisé par une forte odeur, de couleur verdâtre et d'une densité moindre que celle de l'eau (Miguel, 2010).

L'essai olfactif apporté à l'analyse de l'extrait est un élément d'une très grande importance puisqu'il constitue l'approche la plus simple à entreprendre pour apprécier les principaux constituants chimiques qu'offre la plante. L'odeur de l'extrait de la plante est le premier caractère organoleptique déterminant de sa grandeur en éléments bioactifs. D'après (Sangwan et al., 2001), c'est plutôt les composés minoritaires de la plante qui jouent un important rôle dans la différenciation de l'odeur. Quant à la saveur de l'extrait de la plante dont les dégustateurs ont apprécié qu'elle était forte et piquante, ceci résulte certainement de la combinaison de ses multiples constituants chimiques. A ce propos il est bien établi que le thymol et le carvacrol sont les composants principaux du thym, à côté du para-cymène, du 1,8-cinéol (eucalyptol), du linalol, ainsi que d'autres monoterpènes, triterpènes et flavonoïdes (Amarti et al., 2010 ; Andersen et al., 2006). Les changements organoleptiques d'un aliment additionné de grandes concentrations d'extraits de thym riches notamment en huiles essentielles, capable d'éliminer la croissance bactérienne, ne sont pas généralement acceptés par le consommateur (Solomakos et al., 2008). Ce constat limite l'utilisation de ces extraits à de faibles concentrations et auxquelles il faudrait associer impérativement un autre moyen de conservation des aliments, comme les emballages, la congélation et le froid afin de les préserver au mieux des altérations microbiennes (Lang & Buchbauer, 2012).

Les végétaux sont riches en eau et les plantes médicinales ayant des vertus thérapeutiques cueillies fraîchement peuvent en renfermer jusqu'à 60 à 80 % (Bruneton, 1999). Pour assurer une bonne conservation de ces plantes et préserver les composés bioactifs constitutifs durant de longues périodes, du moins jusqu'au moment de l'extraction, il est important de les sécher juste après récolte et de rabattre les concentrations en eau initiales à des niveaux inférieurs ou égaux à 10 % (Paris et Moïse, 1965). Le *Thymus vulgaris* L. étudié, après séchage, s'avère contenir de faibles proportions d'eau (moins de 9.4%) et semble donc s'appuyer à une meilleure conservation de ses constituants chimiques qui ont fait l'objet d'une extraction par macération au méthanol aqueux. Ceci, justifie les bons rendements d'extraction en principes bioactifs (composés phénoliques) de la plante enregistrés (2 à 2.21 : p/p) et qui ont été beaucoup plus élevés que celui rapporté par Amarti et al. (2010) pour la partie aérienne de *Thymus vulgaris* L. (1.2% : P/P) et relativement proche à celui trouvé par le même auteur chez *Thymus algeriensis* (3% : P/P). Néanmoins, des rendements compris entre 3.0 et 5.1% (P/P) ont été obtenus par (Bousmaha-Marroki et al., 2007) à partir de *Thymus ciliatus* ssp. *Eu-ciliatus*.

récolté dans différentes régions de Tlemcen. Dans une étude faite sur différents espèces du genre de *Thymus* existant en Algérie (**Hazzit et al.,2006**) ont obtenu des rendements variables en huiles essentielles(HES) chez *Thymus munbyanus*, *Thymus numidicus*, *Thymus vulgaris*L., et *Thymus pallezensis* ; de l'ordre respectivement de 1.8, 2.4, 1.5 et 3.7% (P/P). Dans le même cadre, (Houmani et al.,2002) ont obtenu des rendements variables de 2.2 à 4.0 % (P/P) pour *Thymus vulgaris*L. est de 1.4 à 4.2 % (P/P) pour *Thymus algeriensis*. Dans une autre étude sur les mêmes genres, (Elajjouri et al.,2008) ont constaté que le rendement moyen en huiles essentielles des échantillons de *Thymus capitatus* et de *Thymus vulgaris*L. était d'environ 2.05 et 1.75% (P/P).(Giordani et al., 2008) ont rapporté aussi des rendements en extrait d'Huiles Essentielles (HES) de l'espèce *Thymus vulgaris*L.originaire de Djebel Ansel (Guelma) variables entre 2 et 3% (P/P). (Haddouchi et al.,2009) ont enregistré un rendement en HES de 2 % (P/P) chez *Thymus fontanesii* ; par contre, (Dob et al.,2006) ont obtenu à partir des tiges et des feuilles de la même espèce végétale un rendement plus faible de l'ordre de 0.9% (P/P). D'après (Garnero, 1975 ; Bounatirou et al.,2007), le rendement en composés bioactifs varie essentiellement selon la nature et l'origine géographique de la plante utilisée, ainsi que le matériel et la méthode d'extraction.De même, (Kholkhal,2014) a constaté qu'il y a des différences de rendement en HES selon le stade de collecte de la plante, et a enregistré des teneurs de l'ordre de 2% (P/P) avant floraison, 3.40% (P/P) en pleine floraison et des teneurs variables de 1.50 à 1.72% (P/P) en post- floraison. En outre, il apparait qu'une longue journée associée à une forte intensité lumineuse et une température élevée favorise la production de certains composés bioactifs (**Burbott et Loomis,1987**). De leur côté, El-Keltawi et Croteau (1986^a et 1986^b)ont montré aussi que les régulateurs génétiques sont responsables de l'activation d'enzymes biosynthétiques responsables de la synthèse métabolique des mono-terpènes. C'est pour cette raison que les connaissances de certains détails concernant la plante sont nécessaire pour une meilleur exploitation de ses composés à effets biologiques actifs tels la saison, la parties du végétal à utiliser et la région de collecte (l'altitude) (**Okunda, 2002**).

Il est nécessaire d'indiquer que la méthode d'extraction adoptée dans le cas de notre étude vise non pas à extraire les HES ; mais, plutôt les composés phénoliques solubles dans un milieu aqueux (**Sultana et al.,2009**). La 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 aqueux à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide. Il est probable qu'une partie des huiles essentielles de la plante dont le thymol et la carvacrol les plus abondons (**Giordani, 2008 ;Havsteen,2002**) puissent se solubiliser partiellement au cours de l'extraction.

Pour une caractérisation partielle de l'extrait au méthanol aqueux de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* L., une chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée suivant la méthode décrite par (Biallo et al., 2004). Il s'agit d'informations sur les facteurs de rétention des constituants chimiques, leur comportement à la lumière UV (à 254nm et à 366nm), et leur coloration après révélation avec le réactif de Godin. Les résultats ont montré après observation à l'UV (254 et 366 nm) et révélation par le réactif de Godin une richesse en constituants chimiques. A 254 nm, la majorité des spots apparaissent sombres. A 366 nm, les spots apparaissent en brun et en bleu clair et orange. Après révélation par le Godin, la majorité des spots apparaissent en bleuâtre, vert clair. Tout ce nombre de spots élevés et de couleurs variés constitue une indication sur la présence de plusieurs types de substances chimiques. Selon (Bruneton, 1993) la fluorescence à 366 nm pourrait indiquer la présence dans l'extrait, des stérols ou des triterpènes ; alors que, la coloration en vert ou en violet au Godin pourraient être des flavonoïdes.

Les différences de couleurs entre les spots issus de la séparation des extraits et leurs témoins correspondants peuvent être expliquées par le fait qu'un composé, présent dans un mélange complexe (extrait), acquière des propriétés différentes de celles du même composé pur ; ces résultats restent préliminaires devant ceux issus de techniques révérencielles plus élaborées de chromatographie et de spectrophotométrie. La CCM nous a permis tout de même de contrôler la qualité de l'extrait, même si elle n'est pas suffisante pour identifier un constituant d'une manière précise, elle nous a permis d'obtenir des renseignements utiles sur les éléments constitutifs de l'extrait étudié qui semble riche en rutine, en quercétine et en de nombreux composés flavonoïdes dont notamment le Flavonols 5,6,7 tri OH libres, le Flavones 5 OH-et 4 OH ; l'ISO flavones, le Flavonols 3-OH libre et le Dihydroflavonols.

L'étude quantitative de l'extrait, préparé à partir de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* L. au moyen des dosages spectrophotométriques montre bien que le thym récolté, renferme de fortes proportions de polyphénols totaux estimées à 20.2 µg EAG/mg d'extrait (p/p), en moyenne. L'extrait semble aussi riche en composé flavonoïdes ; 39,83 µg EQ/mg d'extrait. La comparaison entre la teneur en polyphénols trouvée dans le macéré aqueux des parties aériennes du végétal le *Thymus vulgaris* L. et celle de l'infusion aqueuse de la même plante étudiée par (Kulišić et al., 2006) nous a permis de remarquer des résultats similaires. L'extrait expérimental s'avère, toutefois, plus riche en flavonoïdes en comparaison à l'infusion aqueuse étudiée par (Kulišić et al., 2006) qui ont rapporté une plus faible proportion de 25.0 µg EAG/mg d'extrait.

L'identification par HPLC des principaux composés phénoliques constitutifs de l'extrait hydro-méthanolique du thym (*Thymus vulgaris* L.) a montré une composition très spécifique caractérisée particulièrement par des proportions dominantes d'apigénine glycosylée et de fisétine. La fisétine ou fisétol est un composé organique rencontré chez plusieurs espèces de thym (Mărculescu et al., 2007). Il appartient à la famille des flavonols et la sous-famille des flavonoïdes. Une étude rapportée par (Maher et al., 2006) a montré que la fisétine aurait une action bénéfique sur la mémoire à long terme. Une autre étude plus récente menée par (Maher et al. 2011) sur des souris Akita (génétiquement prédisposées au diabète) montre qu'un régime riche en fraises (un fruit riche en fisétine) réduit les symptômes de diabète et de l'activité inflammatoire liée au cancer. Roby et al. (2013) et Kulisic et al. (2006) ont étudié des échantillons de *Thymus vulgaris* L. d'Égypte (extrait méthanolique) et de Croatie (préparation par infusion), respectivement. Dans l'extrait méthanolique de *Thymus vulgaris* L. ; huit acides phénoliques ont été identifiés dont l'acide cinnamique qui n'a pas été identifié dans la plante autochtone étudiée. Ces auteurs ont également identifié cinq flavonoïdes et l'apigénine était le plus abondant. L'apigénine de la famille des flavones, de la sous-classe des flavonoïdes est rencontrée surtout dans les pétales des fleurs. Ce composé chimique possède des propriétés anti-inflammatoires très avérées (Pelzer et al., 1998).

Il est présent chez plusieurs espèces végétales à vertus médicinales dont le persil, le romarin, la camomille et aussi le thym (*Thymus vulgaris* L.) (Aguilar et Hernández-Brenes, 2015). Proestos et al. (2005) ont analysé un échantillon de *Thymus vulgaris* L. en provenance de Grèce, en utilisant de l'extrait aqueux de méthanol. Ces auteurs ont identifié trois flavonoïdes à savoir (apigénine, luteoline et épicatechine). Ils n'ont pas identifié l'acide rosmarinique qui est l'acide phénolique majeur souvent trouvé chez *Thymus vulgaris* L. En outre, Koşar et al. (2005) ont identifié quatre flavonoïdes (luteolin glucuronide, eriodictyol, luteoline et apigénine) et un acide phénolique (acide rosmarinique), dans un extrait méthanolique de *Thymus vulgaris* L. provenant de Finlande. L'acide rosmarinique était aussi le plus abondant composé phénolique trouvé. Les résultats de Kulisic et al. (2006) ont, identifié chez *Thymus vulgaris* L. trois acides phénoliques et six flavonoïdes dont l'acide rosmarinique trouvé, était éventuellement le composé le plus dominant, comme le confirme les études menées par plusieurs auteurs (Boros et al., 2010; Hossain et al., 2010; Miron et al., 2011; Nagy et al., 2011).

L'acide rosmarinique est un polyphénol que l'on retrouve dans plusieurs autres plantes de la famille des lamiales tels que le romarin, la mélisse, l'origan, la sauge, le thym ou encore la menthe. Dans ces plantes, l'acide rosmarinique agit comme un moyen de défense contre les agressions extérieures.

Cette molécule a beaucoup été étudiée, notamment pour ses effets antioxydants, anti-inflammatoires et antiviraux. À titre d'exemple, en tant qu'antiviral, l'acide rosmarinique a montré des effets contre l'herpès simplex (Astani et al., 2012). D'autres études en laboratoire ont montré que l'acide rosmarinique pouvait

éviter l'agglomération des protéines β -amyloïdes incriminées dans la maladie d'Alzheimer(Ono et al. 2012).Cependant, les teneurs en acide rosmarinique trouvées dans l'extrait aqueux au méthanol de *Thymus vulgaris*L. s'avèrent occuper à coté de la quercitrine et de l'acide benzoïque une faible proportion de l'ensemble des composés bioactifs identifiés. L'acide benzoïque, de formule chimique C_6H_5COOH (ou $C_7H_6O_2$) est un acide carboxylique aromatique dérivé du benzène.Il est utilisé comme conservateur alimentaire et est naturellement présent dans certaines plantes comme le thym (Aguilaret Hernández-Brenes, 2015). Dans ce cadre,Proestos et al. (2005) ont identifié et quantifié cinq acides phénoliques chez *Thymus vulgaris*L.dont l'acide génique, l'acidecaféique, l'acide p-coumarique, l'acidesyringique et l'acidep-hydroxybenzoïque.La quercitrine peut être présente à de faibles quantités dans les parties aériennes de la plante(Macheix et al., 2005).

Ce flavonoïde, est un agent anti-carcinogène, dont les activités antioxydantes et anti-inflammatoires au niveau de l'intestin des poumons, des seins, de la prostate et du foie ont été bien caractérisées (Camuesco et al., 2004 et Comalada et al., 2005).

Enfin, l'hespéridine,qui est un composénaturel contenu en général dans le flavéododes citrus, utilisé souvent pour le traitement de la fragilité des capillaires sanguins, a été retrouvé à de faibles concentrations dans l'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris*L.récolté dans la région de Naama- Algérie. Ce résultat corrobore l'étude de Aguilaret Hernández-Brenes, (2015)qui ont confirmé l'existence chez l'espèce *Thymus vulgaris*L.De ce type de flavonoïde. Il est important de souligner que l'utilisation de plantes d'origine géographique et climatique distinctes ainsi que des méthodes d'extraction et de dosage différentes réduisent la fiabilité des résultats de comparaison entre les études.

3. Conclusion

Au terme de cette étude, il apparaît que la teneur en eau, inférieure à 10% peut conférer à la poudre de la plante broyée de *Thymus vulgaris*L. une fois récolté et séchée, une meilleure conservation à long terme des principes actifs constituant la matière végétale.

La détermination des rendements d'extractions au méthanol aqueux des composés bioactifs de la plante a montré une rentabilité importante, de 2%, en moyenne.

L'extrait hydrométhanolique naturel issu de cette plante a été dévoilé à travers les tests phyto-chimiques qu'il contient une variété de composés bioactifs intéressants ; tanins, alcaloïdes, polyphénols et flavonoïdes.

La chromatographie couche mince a permis aussi de détecter l'existence dans l'extrait hydro-alcoolique expérimental de thym récolté, de la rutine ainsi que de nombreux flavonoïdes dont notamment : quercétine, Flavonols 5,6,7 tri OH libres, Flavones 5 OH-et 4 OH ; ISO flavones, Flavonols 3-OH libre et le Dihydroflavonols.

Par ailleurs, les teneurs en polyphénols totaux et en composés flavonoïdes dans l'extrait expérimental ont été estimées respectivement à 20,2 µgEAG/mg d'extrait et 39,83 µgEQ/mg d'extrait,

L'essai confirmatif par HPLC a permis d'identifier six composés phénoliques dans la partie aérienne de *Thymus vulgaris*L. à savoir: apigénine glycosylée, fisétine, quercitrine, acide benzoïque, acide rosmarinique et hespéridine.

Ces résultats préliminaires montrent que les extraits bruts au méthanol aqueux testés témoignent d'une diversité extraordinaire en principaux composés bioactifs chez l'espèce végétale étudiée (*Thymus vulgaris*L.). Néanmoins, d'autres études plus approfondies sont nécessaires et doivent être entreprises en particulier sur « l'isolement et la caractérisation des composés bioactifs dans les différentes parties de la plante en fonction de la saison et des régions de collecte ».

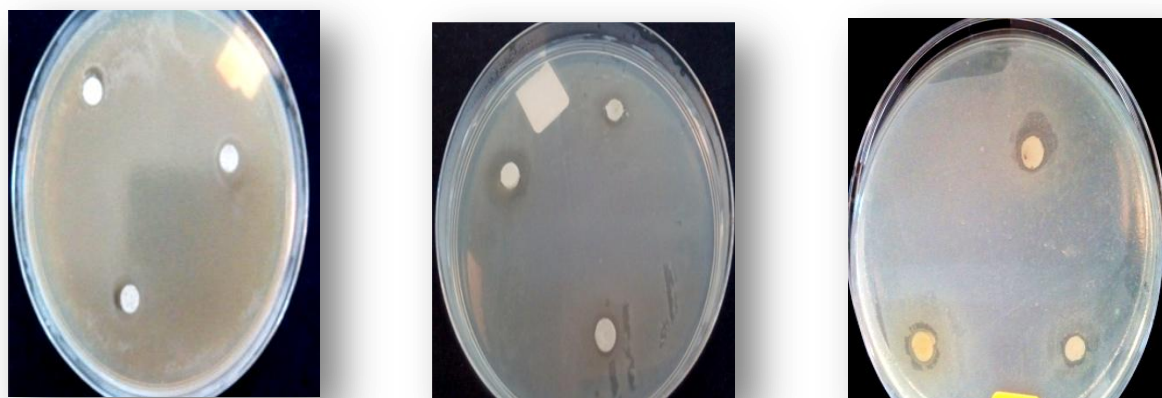
Chapitre II. Effet antimicrobien de l'extrait hydrométanolique de *Thymus vulgaris* L. chez *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

1-Résultats

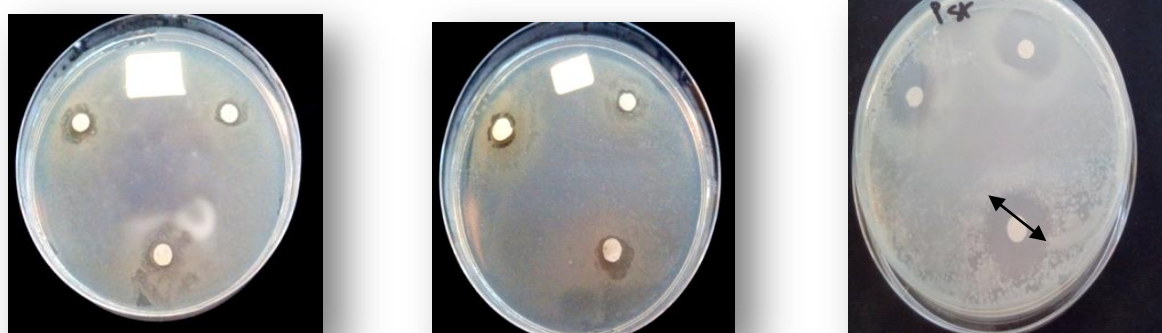
1.1.-*Streptococcus thermophilus*

1-1-1-Diamètres d inhibitions

Les diamètres d'inhibitions développés par les différentes solutions de l'extrait hydro-alcoolique riches aux composés bioactifs de *Thymus vulgaris* L. chez l'espèce microbienne spécifique du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* sont illustrés dans la (Figure 25).



a. Extrait à 20% b. Extrait à 40% c. Extrait à 60%



d.Extrait à 80% f.Extrait à 100% e.Disque imbibé de pénicilline

Figure 25. Effet des solutions d'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris* préparées à (20,40, 60, 80,100%) et de la pénicilline sur le diamètre d'inhibition chez *Streptococcus thermophilus*.

Les diamètres d'inhibition les plus élevés ($p < 0,01$) sont obtenus avec les extraits bioactifs de *Thymus vulgaris* préparés à 80 et 100% ; soit des valeurs de l'ordre de 08,20 et 08,86 mm, en moyenne. Au contraire, les plus faibles résultats ($p < 0,01$) sont obtenus avec les solutions de l'extrait hydrométhanolique diluées à 20, 40, 60 % ; soit des valeurs de l'ordre de 04, 06,80 et 07,83 mm, en moyenne, respectivement.

Cependant, les diamètres d'inhibitions développés à 20, 40, 60 et 80% d'extrait autour de l'espèce *Streptococcus thermophilus* après 24 heures de cultures s'avèrent statistiquement ($p < 0,05$) identiques.

Par ailleurs, la pénicilline a enregistré le meilleur diamètre d'inhibition (16,20 mm), par comparaison aux différents extraits expérimentaux.

L'analyse de variance montre l'effet prépondérant des différentes solutions de l'extrait de *Thymus vulgaris* sur les variations des diamètres d'inhibitions chez *Streptococcus thermophilus* (Tableau 17).

Tableau 17. Effet des différentes dilutions de l'extrait hydroalcoolique de *Thymus vulgaris* L. sur les variations des diamètres d'inhibition chez *Streptococcus thermophilus*.

Concentration d'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i>	Diamètre d'inhibition (mm)	Ecart type	Groupe homogènes			Effet de l'extrait hydrométhanolique de thym
100%	08,86	2,56		B		** ($P < 0,01$)
80%	08,20	1,60		B		
60%	07,83	2,08		B	c	
40%	06,80	0,57		B	c	
20%	04	1,60			c	
Pénicilline	16,20	0,27	a			

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts types correspondants ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentrations d'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*) ; P : Seuil de probabilité ; a, b, c : Groupe homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et keuls .

1-1-2-Taux d'inhibition

Les variations des taux d'inhibitions chez *Streptococcus thermophilus* en fonction des doses d'extrait de thym est marquée tout d'abord par des résultats relativement très élevés ($P < 0,01$) allant de 57,63 à 50 et à 36,98% respectivement pour les solutions d'extrait de *Thymus vulgaris* préparées à 100, 80 et 60%, successivement. Par contre, les faibles taux d'inhibition ($P < 0,01$) sont constatés à 40 et 20 % de l'extrait de la plante ; avec des valeurs respectivement de l'ordre de 31,50 et 13,69 %, en moyenne.

L'analyse de la variance dévoile l'effet majeur de la solution d'extrait de *Thymus vulgaris* sur les variations des taux d'inhibitions chez l'espèce bactérienne étudiée *Streptococcus thermophilus* (Tableau 18).

Tableau 18. Effet des différentes solutions de l'extrait de *Thymus vulgaris* L. sur le développement des taux d'inhibitions chez *Streptococcus thermophilus*.

Concentration d'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i>	Taux d'inhibition (%)	Groupes homogènes			Effet de l'extrait hydrométhanolique de thym
100%	57,53		b		* ($P < 0,05$)
80%	50,00		b		
60%	36,98		b		
40%	31,50		b	C	
20%	13,69			C	
Pénicilline	100	a			

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes; * : Effet significatif du facteur étudiée (concentrations d'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*); P:Seuil de probabilité ; a,b ,c :Groupe homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et keuls .

1-1-3-Méthode de contact direct

Les effets des différentes solutions de l'extrait hydrométhanolique du *Thymus vulgaris* L. sur la croissance de *Streptococcus thermophilus* sont mentionnés dans la figure suivante (Figure 26).

Les solutions de l'extrait hydrométhanolique de Thym préparées à 20 et 40% ont révélé de faibles taux ($P < 0,01$) de croissance de l'espèce *Streptococcus thermophilus* par rapport au témoin à base de l'eau distillée stérile $86. 10^4$ et $51. 10^4$ vs $111. 10^4$ UFC/ml. La prolifération de ce microorganisme continue à diminuer ($P < 0,01$) à 60% de l'extrait ; 44.10^4 UFC/ml, en moyenne. Par ailleurs, les solutions préparées à 80 et 100% de l'extrait hydrométhanolique du thym ont exercé une action bactéricide sur *Streptococcus thermophilus* ; ainsi à ces concentrations d'extrait de *thymus vulgaris* aucun développement de cette espèce microbienne n'a été observé.



a. Extrait à 00% b. Extrait à 20% c. Extrait à 40%



d. Extrait à 60% e. Extrait à 80% f. Extrait à 100%

Figure 26. Effet des solutions de l'extrait hydro-alcoolique de Thym sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

L'analyse de variance dévoile l'effet inhibiteur très significatif des solutions d'extraits de *Thymus vulgaris* L. sur la croissance de *Streptococcus thermophilus* (Tableau 19).

Tableau 19. Effet des différentes dilutions de l'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris* L. sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Concentration d'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i>	Nombre de colonies (UFC/ml)	Groupes homogènes				Effet de l'extrait hydrométhanolique de thym
100%	00				e	** (P<0,01)
80%	00				e	
60%	44. 10 ⁴				d	
40%	51. 10 ⁴			c		
20%	86. 10 ⁴		b			
00%	111. 10 ⁴	a				

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes; **: Effet hautement significatif du facteur étudiée (concentrations d'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*); P:Seuil de probabilité ;UFC : Unité Formant Colonie ; a,b ,c :Groupe homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et keuls .

1-1-4-Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Les solutions d'extrait hydro-alcoolique préparées à 20 et 40% laissent un taux de survie de l'espèce bactérienne de *Streptococcus thermophilus* d'environ 55,34 et 40,31% ; alors qu'à des taux d'extraits supérieurs, ce microorganisme s'avère incapable de survivre après 18 heures d'incubation à 37°C.

C'est à partir de l'extrait préparé à 60% que la croissance de *Streptococcus thermophilus* s'annule d'une manière absolue ; cette concentration est retenue comme étant la concentration minimale inhibitrice (Tableau 20).

Tableau 20. Evaluation de la Concentration Minimale Inhibitrice des solutions de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris* chez *Streptococcus thermophilus*.

Paramètres	Témoin	Concentration de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i>				
		20%	40%	60%	80%	100%
di(DO)	0,04	1,25	2,52	3,00	3,00	3,00
df (DO)	0,30	1,39	2,62	2,55	3,00	3,00
df-di (DO)	0,25	0,14	0,10	-0,44	00	00
S (%)	100%	55,34%	40,32%	00	00	00
CMI	CMI=60%					↓

df : Densité optique après incubation ; di : Densité optique avant incubation, CMI : Concentration minimale inhibitrice ; S(%) : Pourcentage de survie .

1-1-5. Concentration minimale bactéricide (CMB)

A travers la (Figure 27), il apparaît que l'extrait préparé à 20 et 40% n'a pas inhibé totalement la croissance de *Streptococcus thermophilus*. Cependant, l'extrait à 60% a engendré un pourcentage de survie proche de 0,01% de l'espèce bactérienne expérimentale ; cette solution à base des composés bioactifs de Thym constitue donc la CMB.

Il résulte enfin, à partir du rapport CMB/CMI obtenu et qui est égal à 01 que l'extrait hydro-alcoolique de thym exerce un effet inhibiteur de type bactéricide chez l'espèce étudiée *Streptococcus thermophilus* (Tableau 21).

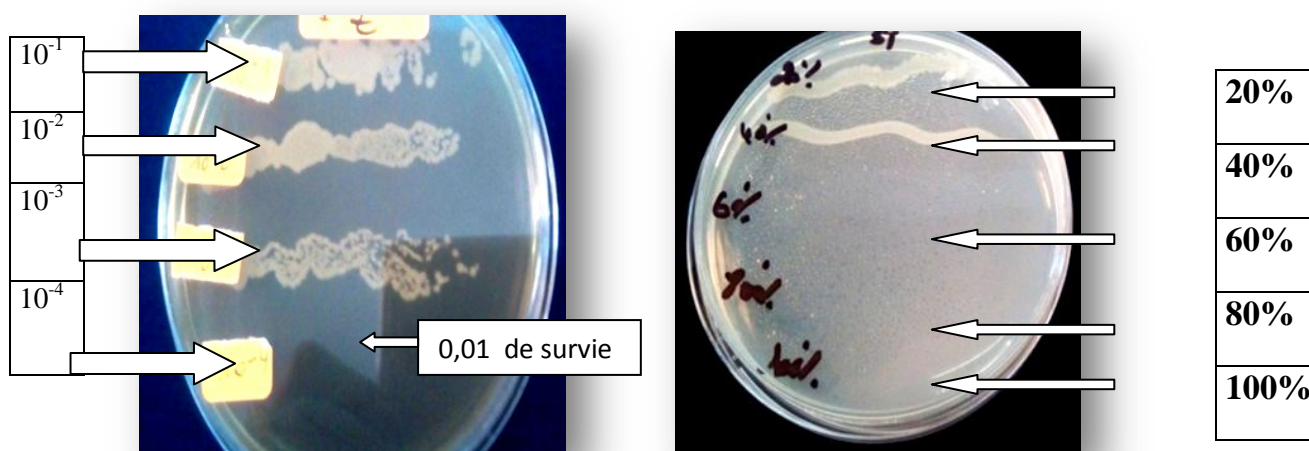


Figure 27. Déterminations de la CMB des solutions d'extrait de Thym chez *Streptococcus thermophilus*.

Tableau 21. Action inhibitrice de l'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris* chez *Streptococcus thermophilus*.

Désignation	CMB	CMI	CMB/CMI	Type d'inhibition de l'extrait hydro-méthanolique
Solutions actives d'extrait de <i>Thymus vulgaris</i>	60%	60%	01	Bactéricide
Normes	<ul style="list-style-type: none"> D'après (Oliver, 2007) : CMB/CMI ≤ 2 (Effet bactéricide). CMB/CMI ≥ 2 (Effet bactériostatique). D'après (Marmonier, 1990) : CMB/CMI ≤ 4 (Effet bactéricide). CMB/CMI ≥ 4 (Effet bactériostatique). 			

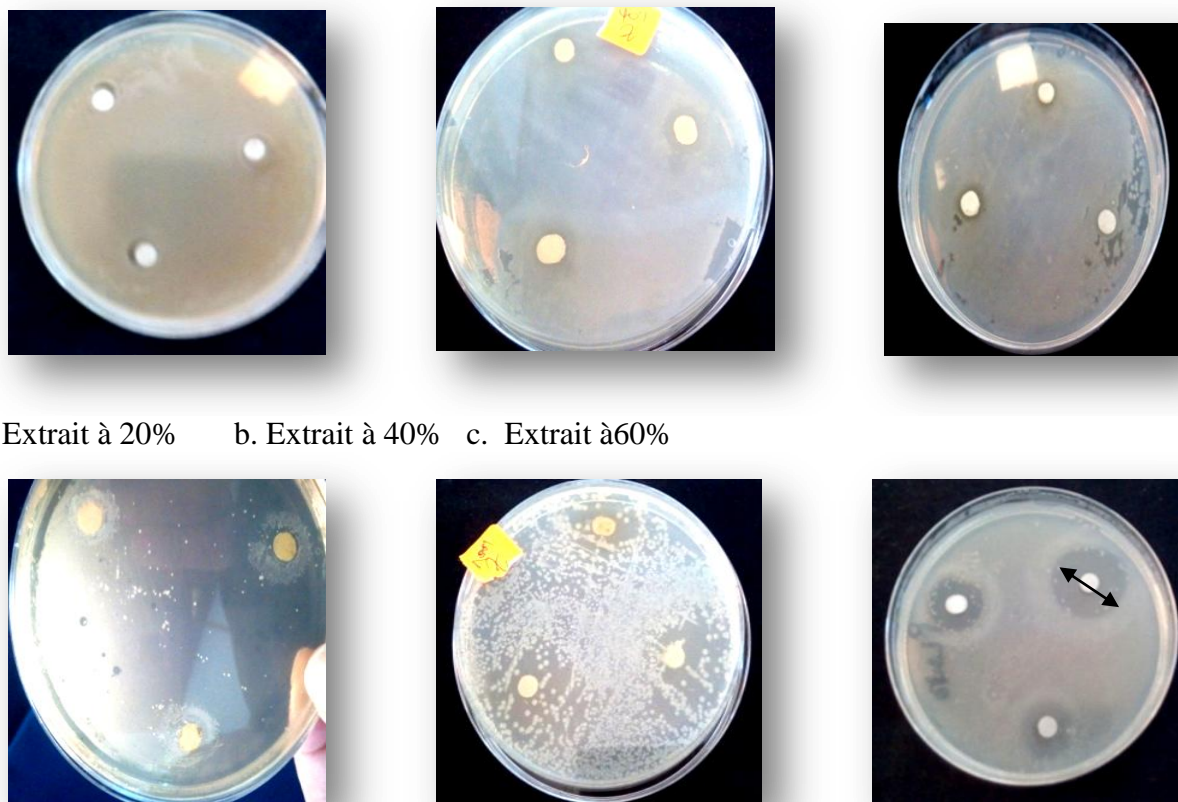
2-1-*Lactobacillus bulgaricus*

1-2-1 Diamètres d'inhibitions

Les diamètres d'inhibitions développés par les différentes solutions de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris* chez *Lactobacillus bulgaricus* sont illustrés dans la (Figure 28).

Le diamètre d'inhibition le plus élevé est réalisé avec l'extrait pur de *Thymus vulgaris* concentré à 100% ; 11 mm, en moyenne ($p < 0,01$). Le diamètre de cet extrait est comparable à celui de la pénicilline ($p > 0,05$) ; 11 vs 12,89 mm, en moyenne. Au contraire, les plus faibles résultats ($p < 0,01$) sont réalisés dans les solutions de l'extrait, concentrées à 20 et 40% ; 04,33 et 06,33 mm, en moyenne respectivement.

Par ailleurs, les diamètres d'inhibition développés à 60 et 80% de l'extrait chez *Lactobacillus bulgaricus* après 24 heures de cultures s'avèrent relativement proches de l'extrait pur ($p < 0,01$) ; 7,56 vs 7,74 vs 11, en moyenne.



a. Extrait à 20% b. Extrait à 40% c. Extrait à 60%

d. Extrait à 80% e. Extrait à 100% f. Disque imbibé de pénicilline

Figure 28. Diamètres d'inhibition des solutions hydro-alcooliques de l'extrait de thym, ainsi que de la pénicilline chez *Lactobacillus bulgaricus*.

L'analyse de la variance montre l'effet prépondérant des différentes concentrations d'extrait de *Thymus vulgaris* sur les variations des diamètres d'inhibition chez *Lactobacillus bulgaricus* (Tableau 22).

Tableau 22. Effet des différentes dilutions de l'extrait *Thymus vulgaris* sur les variations des diamètres d'inhibition chez *Lactobacillus bulgaricus*.

Concentration d'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i>	Diamètre d'inhibition (mm)	Ecart type	Groupes homogènes			Effet de l'extrait hydrométhanolique de thym
			a	b	c	
100%	11,00	2,99	a	b		** (P<0,01)
80%	07,74	1,2		b	c	
60%	07,56	0,57		b	c	
40%	06,33	0,74		c		
20%	04,33	0,57		c		
Pénicilline	12,89	0,60	a			

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts types correspondants ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentrations d'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*); P:Seuil de probabilité ; a,b ,c :Groupe homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et keuls .

1-2-2- Taux d'inhibition

Les variations des taux d'inhibition de l'espèce bactérienne *Lactobacillus bulgaricus* en fonction des taux d'extrait hydro-alcoolique de *Thymus vulgaris* sont caractérisées par des effets antimicrobiens très marquants (P<0,01) de 85,57, 60, 52 et 53,89% pour respectivement les solutions de *Thymus vulgaris* concentrées à 100, 80 et 60%. Par contre, de faibles taux de croissance de la bactérie (P<0,01) sont constatés à 20 et 40% de l'extrait; 31,20 et 42,69%, en moyenne.

L'analyse de la variance montre l'effet dominant de la concentration d'extraits de Thym (*Thymus vulgaris*) sur les variations des taux d'inhibitions chez l'espèce bactérienne *Lactobacillus bulgaricus* (Tableau 23).

Tableau 23. Effet des différentes dilutions de l'extrait bioactif de *Thymus vulgaris* L. sur les variations des taux d'inhibitions chez *Lactobacillus bulgaricus*.

Concentration d'extrait éthanolique de <i>Thymus vulgaris</i>	Taux d'inhibition (%)	Groupes homogènes			Effet de l'extrait hydrométhanolique de thym
100%	85,57	a	b		* (P<0,05)
80%	60,52		b	c	
60%	53,89		b	c	
40%	42,69			c	
20%	31,20			c	
Pénicilline	100	a			

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes; * : Effet significatif du facteur étudiée (concentrations d'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*); P: Seuil de probabilité ; a, b, c : Groupe homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et keuls .

1-2-3-Méthode de contact direct

Les effets des différentes solutions d'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* sont représentés dans la figure (**Figure 29**).

Les solutions d'extrait de Thym préparées à 20 et 40% révèlent de faibles ($P < 0,01$) taux de croissance de *Lactobacillus bulgaricus* par comparaison au témoin ; $85 \cdot 10^4$ et $64 \cdot 10^4$ vs $120 \cdot 10^4$ UFC/ml, en moyenne.

La prolifération de ce microorganisme continue à diminuer ($P < 0,01$) à 60% d'extrait de la plante ; $49 \cdot 10^4$ UFC/ml, en moyenne. Par ailleurs, les solutions préparées à plus de 80% de l'extrait de thym ont inhibé totalement la croissance microbienne des *Lactobacillus bulgaricus*.



a. Extrait à 00%. b. Extrait à 20%. c. Extrait 40%.



e. Extrait à 60% f. Extrait à 80% d. Extrait à 100%

Figure 29. Effets des solutions de l'extrait de Thym sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

L'analyse de variance dévoile l'effet inhibiteur très significatif des solutions de l'extrait de *Thymus vulgaris* L. sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* (**Tableau 24**).

Tableau 24. Effet des différentes dilutions de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris* L. sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

Concentrations d'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i>	Nombre de colonies (UFC/ml)	Groupes homogènes				Effet de l'extrait hydrométhanolique de thym
100%	00				d	** (P<0,01)
80%	00				d	
60%	49. 10 ⁴			c		
40%	64. 10 ⁴		b			
20%	85. 10 ⁴		b			
00%	120. 10 ⁴	a				

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes; **: Effet hautement significatif du facteur étudiée (concentrations d'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*); P:Seuil de probabilité; UFC : Unité Formant Colonie; a,b,c :Groupe homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et keuls .

1-2-4-Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Les solutions d'extrait de thym préparées à 20, 40 et 60% laissent un taux de survie de l'espèce bactérienne de *Lactobacillus bulgaricus* d'environ 89, 49, 50 et 0,50% respectivement ; alors qu'à des taux de l'extrait supérieurs ce microorganisme s'avère incapable de survivre après 18 heures d'incubation à 37°C.

Ainsi, à des taux d'extrait de 80%, aucune prolifération de *Lactobacillus bulgaricus* n'est remarquée; cette concentration est retenue comme étant la concentration minimale inhibitrice de l'espèce bactérienne lactique étudiée (**Tableau 25**).

Tableau 25. Evaluation de la Concentration Minimale Inhibitrice des solutions d'extrait de *Thymus vulgaris* L. chez *Lactobacillus bulgaricus*.

Paramètres	Témoin (00%)	Concentration de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i>				
		20%	40%	60%	80%	100%
di(DO)	0,021	2,622	2,628	2,898	3,000	3,000
df (DO)	0,221	2,800	2,727	2,900	3,000	2,811
df-di (DO)	0,200	0,178	0,099	0,001	00	-0,189
S (%)	100%	89%	49,50%	0,50%	00	00
CMI	CMI=80%					

df : Densité optique après incubation ; di : Densité optique avant incubation ; CMI : Concentration minimale inhibitrice ; S(%) : Pourcentage de survie.

1-2-5-Concentration minimale bactéricide (CMB)

A travers la (**Figure 30**), il apparaît que les solutions d'extrait hydro-méthanolique préparées à raison de 20,40,60% n'ont pas inhibé totalement la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*. Toutefois, celle préparée à 80% a engendré un pourcentage de survie proche de 0,01% de l'espèce bactérienne expérimentale ; cette solution à base des composés bioactifs de Thym représente donc la CMB chez *Lactobacillus bulgaricus*.

Il résulte enfin, à partir du rapport CMB/CMI égale à 1,00 que l'extrait expérimental de thym exerce un effet inhibiteur de type bactéricide vis-à-vis de La bactérie étudiée : *Lactobacillus bulgaricus*. (Tableau).

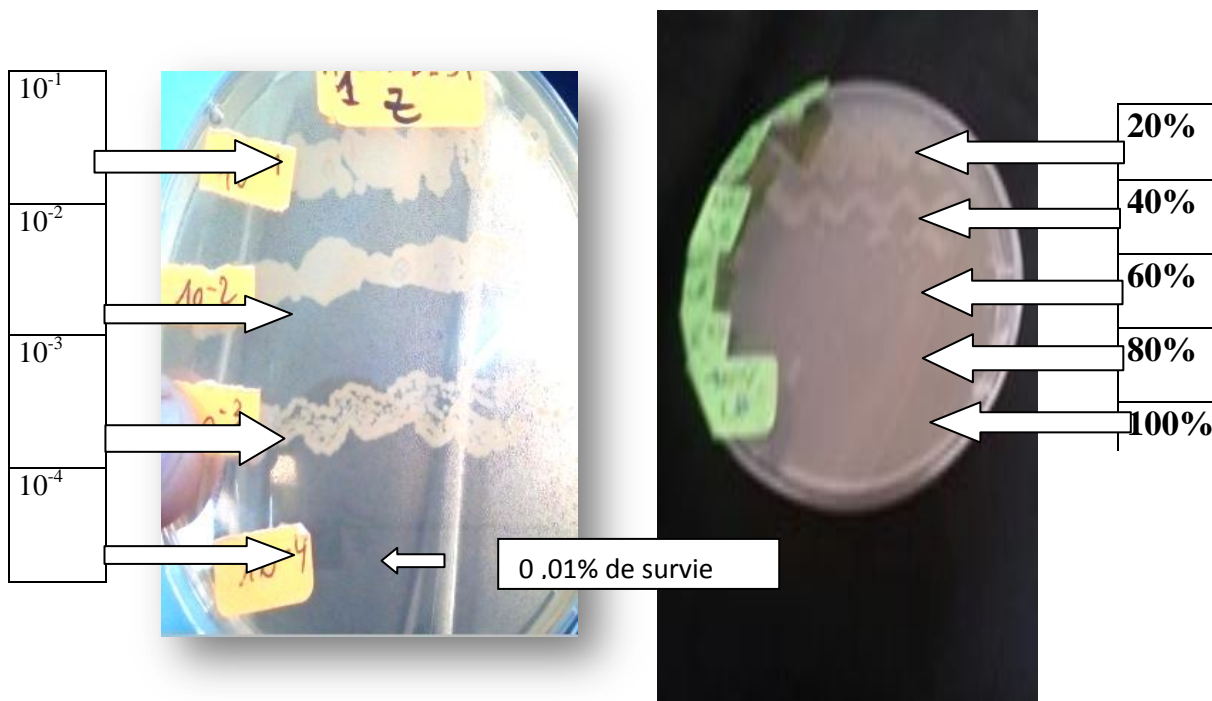


Figure 30. Déterminations de la CMB de l'extrait hydro-méthanolique de Thym chez *Lactobacillus bulgaricus*.

Tableau 26. Action inhibitrice de l'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris* L. chez *Lactobacillus bulgaricus*.

Désignation	CMB	CMI	CMB/CMI	Type d'inhibition de l'extrait de thym
Solutions actives d'extrait hydro-alcoolique de <i>Thymus vulgaris</i>	80%	80%	01,00	Bactéricide
Normes	<ul style="list-style-type: none"> D'après (Oliver, 2007) : CMB/CMI ≤ 2 (Effet bactéricide). CMB/CMI ≥ 2 (Effet bactériostatique). D'après (Marmonier, 1990) : CMB/CMI ≤ 4 (Effet bactéricide). CMB/CMI ≥ 4 (Effet bactériostatique). 			

2 -Discussion

L'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris* L. récolté dans la région de Naama- Algérie semble réduire significativement ($P < 0,01$) à de fortes concentrations la croissance des germes spécifiques du yaourt ; *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Par comparaison à la solution témoin standard, la régression de la croissance de ces deux espèces bactériennes étudiées commence à apparaître à 20 et 40% de l'extrait, devient importante à 60% et aucun développement des germes n'est observé à 80 et 100% d'extrait hydro-alcoolique de la plante. Ces réponses sont dues certainement à la grande richesse de l'extrait en principaux composés bioactifs de la plante ayant des effets antibactériens, certains contre les deux bactéries étudiées. A ce propos, plusieurs auteurs ((Amarti et al., 2010, Tumen et al., 1998, Bruneton, 1999, Gutierrez et al., 2008, Rota et al., 2008, Sacchetti et al., 2005, Thuille et al., 2003..)) ont rapporté l'existence dans la partie aérienne du thym (*Thymus vulgaris*) de nombreux composés bioactifs dont (les huiles essentielles, les flavonoïdes, les poly-phénols, le thymol...etc.) exerçant des actions inhibitrices remarquables à l'encontre de plusieurs bactéries pathogènes et banaux gram- et gram+ (*Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*,...etc).

Il est bien connu que les poly-phénols comptent parmi les composés possédant le plus large spectre antibactérien. Ces composés retrouvés largement dans la plante, objet de l'étude, le *Thymus vulgaris* L. constituent le réservoir de molécules guérisseuses d'un grand nombre de maladies connues (cancers, diabète, hypercholestérolémie, hypertension, infections urinaires, infections nosocomiales...etc.) et sont l'arme de défense du règne végétal contre de nombreux champignons, insectes verres et autres ravageurs nuisibles (Pibiri, 2006). Ces composés phénoliques entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes microbiennes et elles sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelque soit leur localisation (karuna, 2006.). Les autres composés antimicrobiens, souvent rencontrés dans le thym sont en particulier ; les huiles essentielles dont la différence d'activité biologique est liée étroitement à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effet synergiques (Lahlou, 2004).

Rota et al. (2008) ont montré par ailleurs dans une étude, une grande sensibilité spécifique de *Streptococcus thermophilus* vis-à-vis du thymol extrait de *thymus vulgaris*. En comparaison avec les travaux menés par plusieurs auteurs (Aouni et al., 2013 ; Cao et al., 2009) l'action antimicrobienne des composés bioactifs du thym peut être due ,non seulement à la concentration élevée du thymol ; mais aussi à d'autres composés majeurs tels l' α -terpinène et mineurs tels le carvacrol et le

bornéol considérés comme étant les principaux composés clés dans la différenciation d'activité antimicrobiennes des extraits bioactifs des plantes médicinales (Cao et al., 2009). D'après (Zohary et al., 2004 ; Friedman et al., 2002 ; Aligiannis et al., 2001 ; Dorman et Deans, 2000), le thymol et le carvacrol sont les plus bactéricides. Par ailleurs, l' α -terpinène assure aussi, l'inhibition de plusieurs espèces bactériennes (Dorman et Deans, 2000). Il a été aussi bien prouvé que le bornéol est doté d'un haut pouvoir antimicrobien du fait de sa grande solubilité dans l'eau, ce qui lui confère une haute capacité à traverser les membranes des cellules bactériennes (Tumen et al, 1998).

L'extrait pur du Thym accuse un pouvoir inhibiteur comparable à celui de la pénicilline chez particulièrement l'espèce microbienne *Lactobacillus bulgaricus*. Les composés bioactifs de la plante étudiée récoltée dans la région de Naama-Algérie apportent donc une alternative efficace et valable au plan antibactérien contre les germes pathogènes et banaux d'altérations. Leurs mélanges synergiques peuvent éliminer les germes sans possibilité de créer une résistance et peuvent aussi améliorer la qualité et la stabilité des produits transformés aux cours de la conservation. De plus, ces composés bioactifs naturels n'ont pas d'effets secondaires sur la santé, si on les compare aux antibiotiques synthétiques (Turbide, 2009).

Si l'on parle d'activité antimicrobienne d'un extrait d'une plante ou d'une quelconque substance active et/ou d'un antibiotique vis-à-vis d'un germe il est distingué deux sortes d'effets; une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. L'analyse de la CMI et la CMB montre que *Streptococcus thermophilus* est sensible à 60% d'extraits bioactifs de Thym avec un rapport de CMI/CMB=1 ; par contre, *Lactobacillus bulgaricus* est sensible à 80% avec un rapport de CMI/CMB=1. D'après, (Oliver, 2007) étant donné que ce rapport est inférieur ou égale à 2, l'extrait à l'éthanol aqueux de *thymus vulgaris* L. exerce donc un effet de type bactéricide chez les deux espèces bactériennes étudiées. (Marmonier, 1990), rapporte, d'autre part, que lorsque le rapport CMB/CMI d'une substance antibactérienne est inférieur ou égale à 4, ceci suppose qu'elle présente un effet bactéricide ; alors que si le rapport est supérieur à 4, elle présente plutôt un effet dit bactériostatique. Ainsi d'une façon globale, les solutions d'extraits hydroalcooliques de *Thymus vulgaris* semblent exercer un effet bactéricide très intéressant vis-à-vis de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Les principaux composés bioactifs du *Thymus vulgaris* ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures (Oussalah et al., 2010 ; Mhibel, 2006). Leur activité antimicrobienne est principalement en fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils

majeurs(Ming,2007).Le plus souvent, l'action de certains de ses composés bioactifs, comme les huiles essentielles ,est assimilée à un effet bactériostatique, malgré que certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides.Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines(Zhiri, 2006).En général, il est bien établi que les principaux composés bioactifs des plantes médicinales dont le thym possèdent plusieurs modes d'actions sur les différentes souches de bactéries et agissent :soit ,en détériorant la paroi bactérienne en provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ,soit,en acidifiant l'intérieur de la cellule en bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure et soit en détruisant le matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (Yang et al.,2008).

Il est bien prouvé que le thymol, l'un des composants principal du thym est impliqué dans l'inhibition des processus de transport des électrons, dans le transport intracellulaire des protéines, dans les étapes de phosphorylation et dans d'autres réactions enzymatiques chez de nombreuses espèces microbiennes(Burt, 2004). Le carvacrol est aussi considéré comme biocide, avec son précurseur, le p-cymène, un antibactérien faible, mais il agit probablement en synergie avec lui par l'expansion de la membrane, ce qui entraîne la déstabilisation de la membrane (Tapas,2008).

3. Conclusion

Les solutions d'extrait hydro-alcoolique de *Thymus vulgaris* L. ont montré in-vitro des effets inhibiteurs très intéressants vis-à-vis de la prolifération des deux bactéries spécifiques du yaourt, étudiées à savoir : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Le degré d'inhibition des deux souches lactiques s'avère dépendre de la concentration en extrait de thym utilisée. Ainsi, plus la concentration en extrait de la solution est importante, plus le degré d'inhibition ($p < 0.01$) des *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* est considérable. Apparemment, aucune prolifération de ces germes n'est observée à des concentrations d'extrait hydro-méthanolique de 80 et 100%.

Comparativement à la pénicilline, les *Lactobacillus bulgaricus* ont démontré une plus grande sensibilité à l'extrait hydro-alcoolique pur de thym que leurs équivalents les *Streptococcus thermophilus*.

Par ailleurs, l'étude a montré que cet extrait riche en composés bioactifs de la plante exerce un effet antimicrobien de type bactéricide sur la croissance des souches étudiées.

Chapitre III. Effet de l'extrait hydrométhanolique du thym sur la qualité des laits fermentés.

1. Résultats

1.1. Analyses physicochimiques

1.1.1. PH

D'une façon globale, le pH a marqué une évolution décroissante de 6,34 à 4,48, en moyenne durant les deux périodes de fermentation et de poste acidification (**Figure 31**).

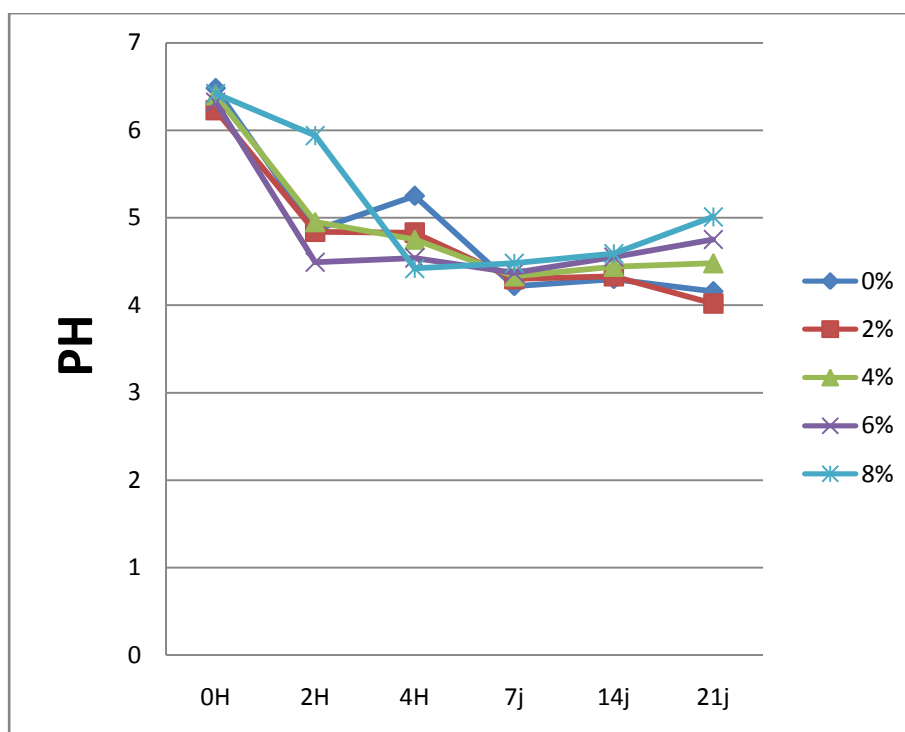


Figure 31. Evolution de pH des laits fermentés additionnés d'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*.

Par ailleurs, les valeurs de pH ont connu durant ces périodes une augmentation proportionnelle en fonction des doses d'extrait au méthanol de thym incorporé dans les produits ($p < 0,01$) ; soit des niveaux de pH variables de 4,88 à 5,14 en moyenne pour les taux d'extrait variables de 0 à 8%, respectivement dans les laits fermentés.

L'analyse de la variance montre l'effet prépondérant des doses de l'extrait méthanolique ajoutées sur les variations des valeurs de Ph des laits fermentés à 2 et à 4 heures de la période de fermentation et au 7^{ème}, 14^{ème} et 21^{ème} jour de la période de post acidification (**tableau27**).

Tableau 27. Evolution de pH des laits fermentés additionnés d'extrait hydrométhanolique de *thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait hydrométhanolique de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Fermentation	0H	6.34 ± 0.3	6.34 ± 0,33	6.36 ± 0,30	6.36 ± 0,27	6.37 ± 0,34	6,34	p>0.05 NS
	2H	4,86 ^c ± 0,08	4,84 ^c ± 0,06	4,95 ^c ± 0,13	5,49 ^b ± 0,38	5,94 ^a ± 0,15	5,22	** p<0.01
	4H (1J)	5,25 ^a ± 0,63	4,83 ^{ab} ± 0,09	4,75 ^{ab} ± 0,12	4,54 ^{ab} ± 0,08	4,42 ^b ± 0,1	4,76	* p<0.05
Poste-acidification (4°C)	7 ^{ème} J	4,22 ^b ± 0,04	4,3 ^{ab} ± 0,73	4,33 ^{ab} ± 0,03	4,37 ^{ab} ± 0,08	4,48 ^a ± 0,05	4,34	* P<0.05
	14 ^{ème} J	4,30 ^b ± 0,03	4,33 ^b ± 0,09	4,44 ^{ab} ± 0,13	4,55 ^a ± 0,06	4,59 ^a ± 0,1	4,44	** p<0.01
	21 ^{ème} J	4,16 ^{bc} ± 0,09	4,02 ^c ± 0,55	4,48 ^{abc} ± 0,04	4,75 ^{ab} ± 0,25	5,01 ^a ± 0,17	4,48	** p<0.01
Moyenne		4,88	4,75	4,89	5	5,14		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types ; NS : Effet non significatif du facteur étudié (concentration d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*) ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentration d'extrait de Thym) ; * : Effet significatif du facteur étudié (extrait de thym) ; H : heures ; J : Jours a, b, c : comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls.

1.1.2. Acidité

Durant l'expérimentation, la première période de fermentation a noté une augmentation explicite de l'acidité des laits fermentés de 17,31°D à 0 heure à 81,74°D au 1^{er} jour, après 4 heures de fermentation.

Au cours de la phase de poste acidification, il est remarqué une augmentation de l'acidité des laits fermentés de 87,09°D au 7^{ème} jour, puis les valeurs diminuent légèrement à 78,28°D au 14^{ème} jour, pour atteindre 88,28°D en moyenne, en fin de la période de conservation (**Figure32**).

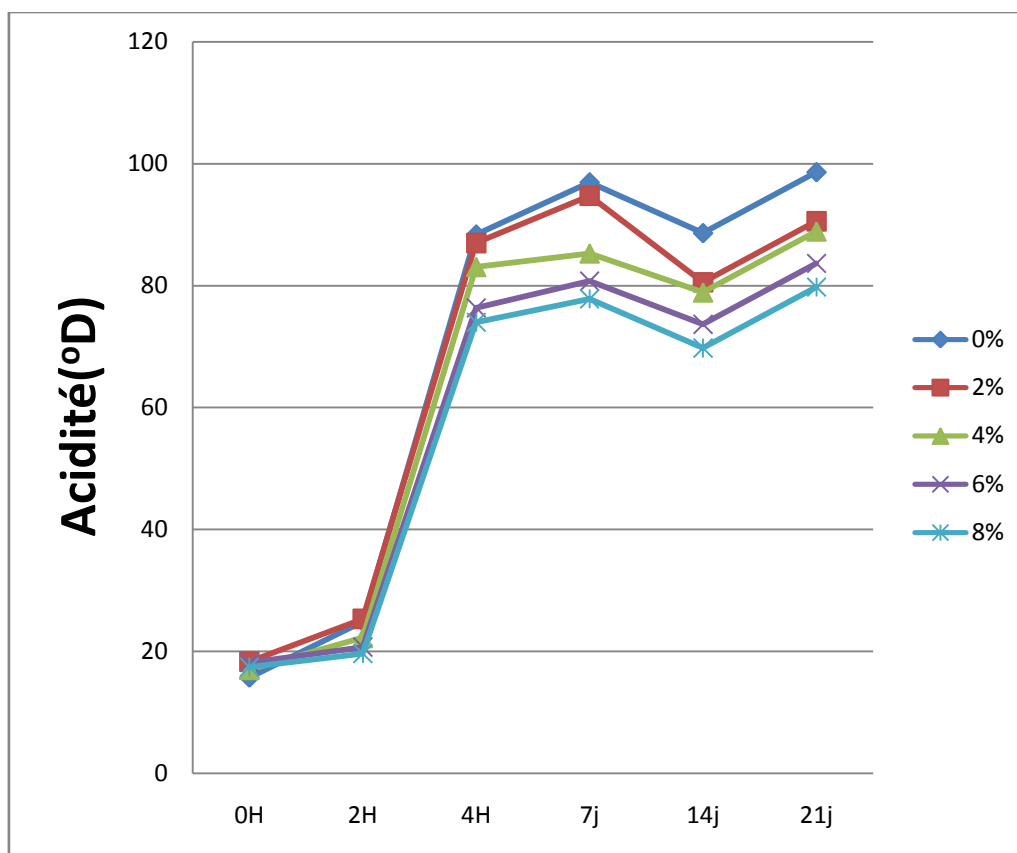


Figure 32. Evolution de l'acidité Dornic des laits fermentés additionnées de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*.

Durant les 2 heures de fermentation, l'acidité des laits fermentés reste invariable et comparable entre les échantillons expérimentaux ($p > 0,05$) ; 15,7 à 18,33°D à 0 heure et 19,6 à 25,33°D, en moyenne à 2 heure de fermentation.

A partir du 1^{er} jour, en fin de la période de fermentation et durant tout la phase de conservation de post acidification, l'acidité s'avère d'autant plus réduite ($p < 0,01$) de (68,84, à 66,06, à 62, 55, à 58,86 et à 56,37°D, en moyenne) que le niveau d'incorporation d'extrait au méthanol de thym est respectivement augmenté de (0, à 2, à 4, à 6 et à 8%) dans les essais de laits fermentés expérimentaux (**Tableau 28**).

Tableau 28. Evolution de l'acidité ($^{\circ}$ D) des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait hydrométhanolique de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Fermentation	0H	15,7 ± 2,07	18,33 ± 3,05	16,97 ± 2,001	18,17 ± 1,25	17,4 ± 3,53	17,31	p>0.05 NS
	2H	24,87 ± 0,95	25,33 ± 5,44	22,2 ± 0,3	20,7 ± 2,40	19,6 ± 0,7	22,54	p>0.05 NS
	4H (1J)	88,37 ^a ± 0,95	86,97 ^a ± 1,97	83,07 ^b ± 1,12	76,33 ^c ± 1,32	73,97 ^c ± 0,25	81,74	** p<0.01
Poste-acidification (4°C)	7 ^{ème} J	96,93 ^a ± 6,73	94,7 ^a ± 4,71	85,3 ^b ± 3,60	80,73 ^b ± 1,54	77,8 ^b ± 1,67	87,09	** P<0.01
	14 ^{ème} J	88,6 ^a ± 3,03	80,53 ^b ± 1,84	78,9 ^b ± 1,65	73,63 ^c ± 1,56	69,73 ^d ± 0,83	78,28	** p<0.01
	21 ^{ème} J	98,6 ^a ± 3,03	90,53 ^b ± 1,84	88,9 ^b ± 1,65	83,63 ^c ± 1,56	79,73 ^d ± 0,83	88,28	** p<0.01
Moyenne		68,84	66,06	62,55	58,86	56,37		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types ; H : heures ; J : Jours. NS : Effet non significatif du facteur étudié (concentration d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris*) ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentration d'extrait de Thym) ; a, b, c : comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls.

1.1.3) Viscosité

La viscosité a nettement augmenté du début de fermentation au 14^{ème} jour de post acidification; de 82,51 à 447,46 Kg/ms. Au 21^{ème} jour de conservation, la viscosité des échantillons connaît une légère baisse à 348, 09 Kg/ms, en moyenne (**Figure 33**).

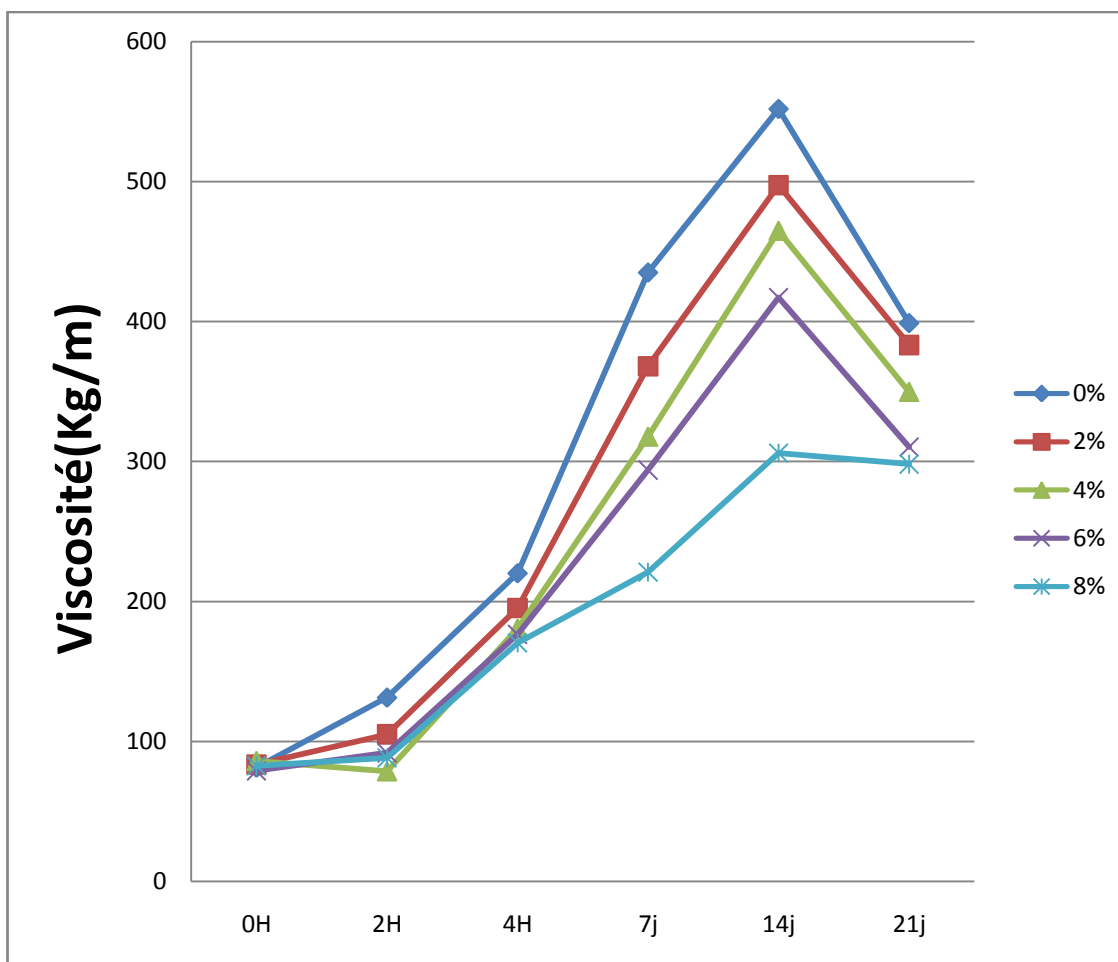


Figure33. Evolution de la viscosité des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*.

De plus, il est observé pendant les deux périodes de l'étude (fermentation-post acidification) une relation inversement proportionnelle, ($p < 0,01$) des variations des valeurs de la viscosité avec l'augmentation des taux d'incorporation d'extrait de thym de (0, à 2, à 4, à 6 et 8%), les résultats enregistrés dans les produits sont par ordres successifs comme suit : 297,33 ,272,10 , 249,64 , 228,13 et 194,42 Kg/ms en moyenne (**Tableau 29**).

Tableau 29. Evolution de la viscosité (Kg/ms) des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Fermentation	0H	81,35 ^{ab} ± 1,56	83,46 ^{ab} ± 3,005	86,09 ^a ± 2,93	79,06 ^b ± 0,54	82,6 ^{ab} ± 1,21	82,51	* P<0.05
	2H	131,39 ^a ± 1,50	105,06 ^b ± 5,69	98,70 ^c ± 0,35	91,89 ^d ± 0,48	88,34 ^d ± 0,91	103,08	** p<0.01
	4H (1J)	220,19 ^a ± 0,35	195,26 ^b ± 3,03	180,68 ^c ± 0,69	176,53 ^d ± 1,29	170,48 ^e ± 0,58	188,63	** p<0.01
Poste-acidification (4°C)	7 ^{ème} J	400,35 ^a ± 1,70	368,1 ^b ± 24,93	317,79 ^c ± 2,15	293,80 ^d ± 6,88	220,89 ^c ± 0,13	320,19	** P<0.01
	14 ^{ème} J	551,83 ^a ± 1,59	497,49 ^a ± 2,18	464,84 ^{ab} ± 4,54	417,11 ^{ab} ± 1,85	306,02 ^b ± 170,77	447,46	* p<0.05
	21 ^{ème} J	398,86 ^a ± 1,17	383,24 ^b ± 0,96	349,77 ^c ± 1,55	310,39 ^d ± 2,18	298,19 ^e ± 0,51	348,09	** p<0.01
Moyenne		297,33	272,10	249,64	228,13	194,42		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types ;H : heures ; J : Jours ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentration d'extrait de Thym) ; * : Effet significatif du facteur étudié (extrait de thym) ; a, b, c, d, e : comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls.

1.2. Analyses microbiologiques

1.2.1. *Streptococcus thermophilus*

Le nombre de *Streptococcus thermophilus* dans les essais expérimentaux a connu d'une façon globale une augmentation de 87.10^4 à 250.10^4 UFC/ml en moyenne de 0 heure jusqu'au 14^{ème} jour, puis la croissance microbienne diminue à 181.10^4 UFC/ml à la dernière semaine de conservation au 21^{ème} jours (Figure 34).

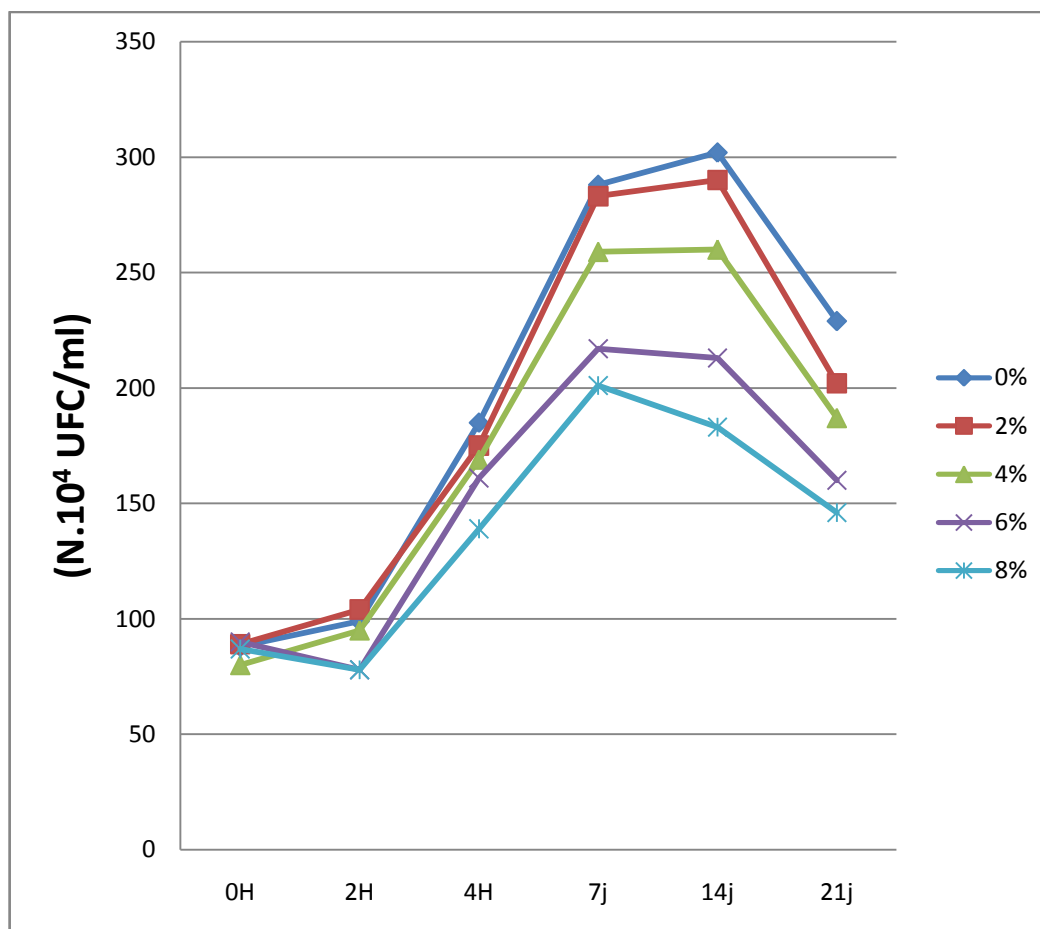


Figure 34. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* ($N \times 10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris* L.

Au cours de l'étude expérimentale, il est remarqué une évolution décroissante du nombre de *Streptococcus thermophilus* en fonction des doses incorporées d'extrait de thym ; avec un nombre de 198.10^4 UFC/ml pour l'échantillon témoin et 175.10^4 UFC/ml pour celui préparé à 4% d'extrait de thym vs 136.10^4 UFC/ml pour l'échantillon à 8% d'extrait de thym.

L'analyse de variance sur l'évolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* durant les périodes de fermentation et de post acidification a montré un effet hautement significatif du facteur étudié: taux d'incorporation d'extrait de thym (**Tableau 30**).

Tableau30. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* ($N \times 10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Fermentation	0H	88 ^a	89 ^a	80 ^b	90 ^a	87 ^a	87	** P<0.01
	2H	99 ^{ab}	104 ^a	95 ^b	78 ^c	78 ^c	91	** p<0.01
	4H (1J)	185 ^a	175 ^b	169 ^c	161 ^d	139 ^c	166	** p<0.01
Poste-acidification (4°C)	7 ^{ème} J	288 ^a	283 ^a	259 ^b	217 ^c	201 ^d	250	** P<0.01
	14 ^{ème} J	302 ^a	290 ^b	260 ^c	213 ^d	183 ^e	250	** p<0.01
	21 ^{ème} J	229 ^a	202 ^b	187 ^c	160 ^d	126 ^e	181	** p<0.01
Moyenne		198	190	175	153	136		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types ;H : heures ; J : Jours. ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentration d'extrait de Thym) ; a, b, c, d, e : comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls.

1.2.2. *Lactobacillus bulgaricus*

Durant les deux périodes de fermentation et de poste acidification, le nombre de *Lactobacillus bulgaricus* dans les différents laits fermentés expérimentaux s'avère augmenter de $14 \cdot 10^4$ à $111 \cdot 10^4$ UFC/ml en moyenne de 0 heure jusqu'au 14^{ème} jour, puis diminue à $82 \cdot 10^4$ UFC/ml au 21^{ème} jour de la période de conservation (**Figure 35**).

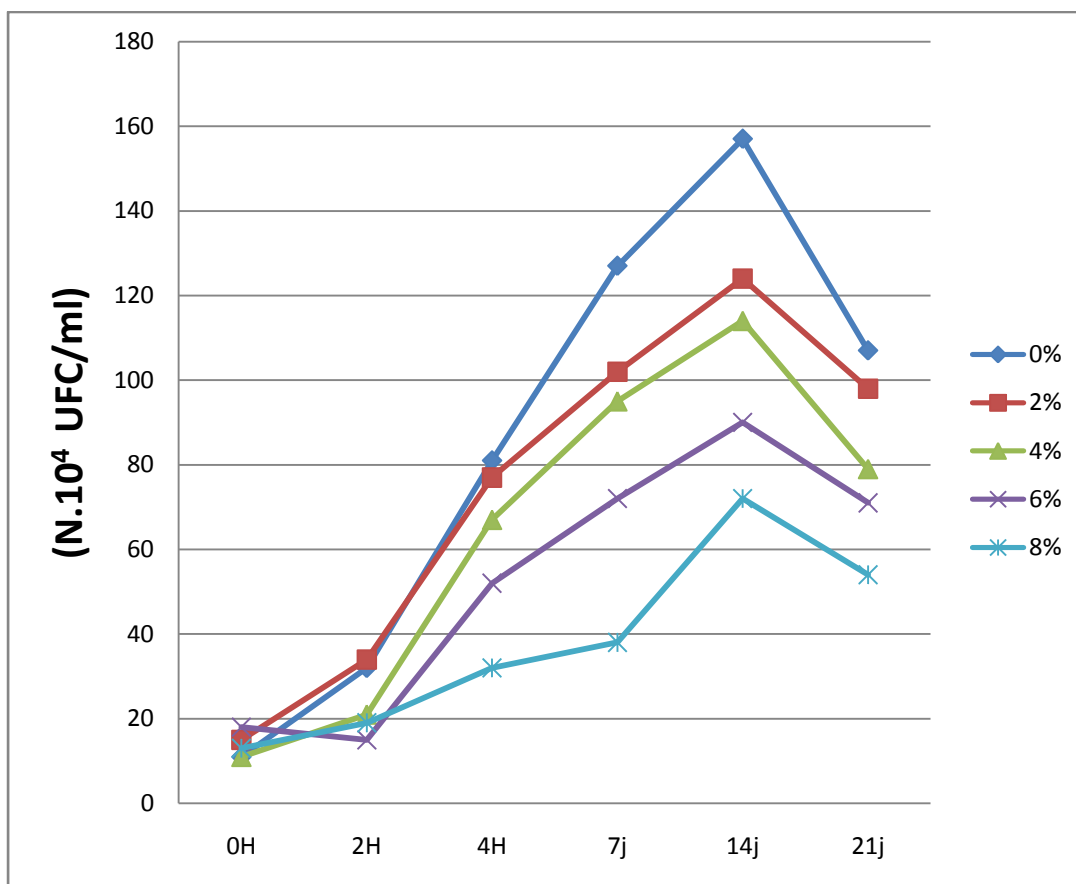


Figure 35. Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* ($N \times 10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnés d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris* L.

Pendant l'expérimentation, il a été constaté une relation inversement proportionnelle entre le nombre des *Lactobacillus bulgaricus* et l'élévation des taux d'extrait de *Thymus vulgaris* ($P < 0.01$) suite des baisses du nombre des germes de 86.10^4 à 65.10^4 à 53.10^4 et 38.10^4 UFC/ml pour les taux d'extrait incorporés de 0, 2, 4, 6 et 8% respectivement dans les produits.

L'analyse de variance dévoile l'effet hautement significatif d'incorporation d'extrait hydrométhanolique de thym sur les variations du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* au cours de la fermentation et la phase de poste acidification (**Tableau 31**).

Tableau 31. Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* ($N \times 10^4$ UFC/ml) des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris* L.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Fermentation	0H	11	15	11	18	13	14	p>0.05 NS
	2H	32 ^a	34 ^a	21 ^b	15 ^b	19 ^b	24	** p<0.01
	4H (1J)	81 ^a	77 ^a	67 ^b	52 ^c	32 ^d	62	** p<0.01
Poste-acidification (4°C)	7 ^{ème} J	127 ^a	102 ^b	95 ^b	72 ^c	38 ^d	87	** P<0.01
	14 ^{ème} J	157 ^a	124 ^b	114 ^b	90 ^c	72 ^d	111	** p<0.01
	21 ^{ème} J	107 ^a	98 ^a	79 ^b	71 ^b	54 ^c	82	** p<0.01
Moyenne		86	75	65	53	38		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types ; H : heures ; J : Jours. NS : Effet non significatif du facteur étudié (concentration d'extrait à méthanol de *Thymus vulgaris*) ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentration d'extrait de Thym) ; a, b, c, d : comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls.

1.3. Test organoleptique

1.3.1. Goût acide

Globalement, durant les 4 périodes de poste acidification, le yaourt témoin était classé au premier rang du point de vue goût acide avec une moyenne des sommes des rangs de 16,5 par rapport aux autres essais expérimentaux qui ont marqué, d'après les dégustateurs, un abaissement d'acidité avec des moyennes des sommes des rangs de 30,12 pour 4% et le moins acide de 2% avec 41,5 sommes des rangs.

L'analyse de variance sur l'évolution du goût acide des yaourts expérimentaux avec ou sans extraits de thym, a montré des effets hautement significatifs pendant toute la phase de post acidification (Tableau 32).

Tableau 32. Variation du goût acide des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris* L.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	33,5 ^{ab}	43,5 ^a	29 ^b	21 ^b	23 ^b	30	** p<0.01
	7 ^{ème} J	37,5 ^a	40,5 ^a	34 ^a	22,5 ^b	12,5 ^c	29,4	** P<0.01
	14 ^{ème} J	42,5 ^a	42 ^a	27 ^b	24 ^b	14,5 ^c	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	45,5 ^a	40 ^a	30,5 ^b	18 ^c	16 ^c	30	** p<0.01
Moyenne		39,75	41,5	30,12	21,37	16,5		

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison des sommes des rangs deux à deux.

1.3.2. Goût de fraîcheur

Au cours de la période de conservation, les dégustateurs ont bien appréciés le goût de fraîcheur des laits fermentés additionnés d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris* L. dont les meilleurs résultats ont été montrés pour l'échantillon de 2 et 4% d'extrait de thym avec des moyennes des sommes des rangs de 19,87 et 21,12, successivement par rapport aux autres essais préparés à 0, 6 et 8% qui n'ont pas été vraiment bien appréciés par les dégustateurs ; 30 vs 35 vs 44 somme des rangs, en moyenne.

L'analyse de variance marque des effets hautement significatifs des concentrations d'extrait hydrométhanolique de thym sur les variations de goût de fraîcheur des laits fermentés pendant toute les périodes de post acidification (**Tableau 33**).

Tableau33. Variation du goût de fraîcheur des laits fermentés additionnés d'extrait hydrométhanolique de *thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	33,5 ^b	19 ^c	13,5 ^c	38 ^b	46 ^a	30	** p<0.01
	7 ^{ème} J	40,5 ^a	21,5 ^b	19 ^b	28,5 ^b	41,5 ^a	30,2	** P<0.01
	14 ^{ème} J	30 ^{ab}	21 ^b	22,5 ^b	33,5 ^{ab}	43 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	16 ^c	18 ^c	29,5 ^b	40,5 ^a	46 ^a	30	** p<0.01
Moyenne		30	19,87	21,12	35,12	44,12		

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.3.3. Cohésivité

La cohésivité a tendance à diminuer avec l'augmentation de la dose de thym dans les yaourts expérimentaux; soit des moyennes de sommes des rangs qui varient de 16,12 pour le témoin à 46,75 sommes des rangs, en moyenne pour l'essai préparé à 8% d'extrait de thym.

L'analyse de variance démontre des effets hautement significatifs des doses de l'extrait hydrométhanolique incorporés sur les variations de la cohésivité des produits au cours de la période de post acidification (**Tableau34**)

Tableau34. Variation de la cohésivité des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	19,5 ^d	16 ^d	27 ^c	37,5 ^d	50 ^a	30	** p<0.01
	7 ^{ème} J	15,5 ^d	18,5 ^d	26 ^c	41 ^b	49 ^a	24	** P<0.01
	14 ^{ème} J	15 ^d	18,5 ^d	28,5 ^c	38,5 ^b	49,5 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	14,5 ^d	19 ^d	29 ^c	39,5 ^b	48,5 ^a	30,1	** p<0.01
Moyenne		16,12	18	27,62	39,12	46,75		

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.3.4. Adhésivité

Au cours de toute la phase de conservation, les dégustateurs ont noté nettement ($p < 0,01$) que l'adhésivité du témoin est meilleure par rapport aux autres échantillons ; avec des moyennes des sommes des rangs de 14 contre, 19 ; 26,75 ; 41,5 et 48 pour ceux préparés à 2, 4, 6 et 8% d'extrait au méthanol de thym. L'analyse de variance effectuée sur l'évolution de l'adhésivité des laits fermentés à base d'extrait de thym dévoile cette fois des effets hautement significatifs pendant toutes les phases de la période d'étude (**Tableau35**).

Tableau 35 .Variation de l'adhésivité des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	13 ^c	19 ^d	26,5 ^c	42 ^b	48 ^a	29,7	** p<0.01
	7 ^{ème} J	16,5 ^d	18,5 ^d	24 ^c	41 ^b	48,5 ^a	29,7	** P<0.01
	14 ^{ème} J	12 ^c	21,5 ^d	27,5 ^c	40 ^b	49 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	14,5 ^d	17 ^d	29 ^c	43 ^b	46,5 ^a	30	** p<0.01
Moyenne		14	19	26,75	41,5	48		

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d, e : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.3.5. Odeur

Selon les dégustateurs, l'odorat du 2^{ème} et 3^{ème} échantillon à 2 et 4% d'extrait de thym marquent les meilleures notes par rapport aux autres essais expérimentaux ; avec des moyennes des sommes des rangs de 19,25 et 21,62 ; respectivement (**Tableau 36**).

Tableau 36.Variation de l'odeur des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	36 ^b	16 ^c	16,5 ^c	32 ^b	48 ^a	29,7	** p<0.01
	7 ^{ème} J	33,5 ^a	20 ^b	18 ^b	33,5 ^a	45 ^a	30	** P<0.01
	14 ^{ème} J	17 ^c	24 ^c	21 ^c	39,5 ^b	48,5 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	14,5 ^d	17 ^d	31 ^c	38 ^b	47,5 ^a	29,6	** p<0.01
Moyenne		25,25	19,25	21,62	35,75	47,25		

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.3.6. Arrière-goût

Pendant les 4 périodes de conservation l'échantillon témoin a été spécifiquement mieux apprécié au plan de l'arrière-goût par les dégustateurs que les yaourts expérimentaux additionnés d'extrait de thym. Cependant, l'essai préparé à 2 et 4% s'avèrent proches du témoin ; 21 vs 25,75 vs 16,62 sommes des rangs, en moyenne (**Tableau 37**).

Tableau 37. Variation de l'arrière-goût des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	19,5 ^b	18,5 ^b	22,5 ^b	42 ^a	47,5 ^a	30	** p<0.01
	7 ^{ème} J	18 ^c	21,5 ^c	26,5 ^c	37,5 ^b	46,5 ^a	30	** P<0.01
	14 ^{ème} J	16,5 ^d	20,5 ^{cd}	25 ^c	39,5 ^b	48,5 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	12,5 ^c	23,5 ^b	29 ^b	40 ^a	45 ^a	30	** p<0.01
Moyenne		16,62	21	25,75	39,75	46,87		

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

1.3.7. Couleur

D'une façon générale, les dégustateurs ont bien accepté la couleur des laits fermentés additionnés d'extrait de thym notamment à 2 et 4% d'extrait de thym ; avec des moyennes des sommes des rangs de 16,75 et 20,62, successivement (**Tableau 38**).

Tableau38. Variation de la couleur des laits fermentés additionnés de l'extrait hydrométhanolique de *Thymus vulgaris*.

Facteurs Périodes		Doses de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thymus vulgaris</i> incorporées					Moyennes	Effets de l'extrait de Thym
		0%	2%	4%	6%	8%		
Poste-acidification (4° C)	1 ^{er} J	35,5 ^b	14 ^c	16 ^c	38,5 ^b	45 ^a	29,8	** p<0.01
	7 ^{ème} J	32 ^a	20 ^b	17 ^b	36 ^a	43 ^a	29,6	** P<0.01
	14 ^{ème} J	26 ^b	13,5 ^c	23,5 ^b	40 ^a	47 ^a	30	** p<0.01
	21 ^{ème} J	15 ^c	19,5 ^c	26 ^b	43 ^a	46,5 ^a	30	** p<0.01
Moyenne		27,12	16,75	20,62	39,37	45,37		

Les résultats sont présentés en somme des rangs ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié (doses d'extrait de Thym) ; J : Jour ; a, b, c, d : Comparaison de sommes des rangs deux à deux.

2. Discussion

Pendant les deux périodes de l'étude, du début de la fermentation et à la fin de la phase poste acidification après 21 jours de conservation au froid à 4° C, les valeurs de pH ont tendance à diminuer de 6,37 à 4,48. Ces réductions de pH résultent sans doute d'une production d'acide lactique suite à une fermentation du lactose du lait par les deux souches spécifiques ensemencées à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Alais et Lenden, 1984 ; Luquet, 1990).

Par ailleurs, les valeurs de pH ont connu une croissance remarquable en fonction des doses incorporées de l'extrait hydrométhanolique de thym dans les produits ($p < 0,01$) ; soit, des augmentations variables de 4,88 à 5,14 en moyenne pour des taux en extrait incorporés variables de 0 à 8%.

La fermentation modifie les composants du lait et les caractéristiques organoleptiques de celui-ci. Certaines de ces transformations sont communes aux divers laits fermentés; c'est le cas surtout de l'acidification et de la gélification. D'autres sont au contraire spécifiques à chaque type de lait fermenté, comme la formation de composés aromatiques, de gaz, d'éthanol et l'hydrolyse des protéines (Bylund, 1995).

La fonction acidifiante est la plus recherchée des bactéries lactiques qui a pour effet une production importante d'acide lactique conduisant à une acidification rapide et durable (Jones, 2004).

Contrairement au pH, l'acidité a marqué une augmentation durant toute la période expérimentale à partir de 17,31°D à 0 heures pour atteindre 88,28°D au 21^{ème} jour.

Il est bien connu que l'association symbiotique nommée actuellement « protocoopération » de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* se traduit par un effet synergique notable sur l'activité acidifiante du milieu. Le démarrage de la fermentation lactique est ainsi assuré par les *Streptococcus thermophilus* qui utilisent comme facteurs de croissance les acides aminés et les peptides se trouvant dans le milieu et libérés des caséines par hydrolyse partielle enzymatique des amino-peptidases sécrétés par les *Lactobacillus bulgaricus*. Durant cette première phase de la période de fermentation, l'acide lactique produit, abaisse le pH du milieu jusqu'à 5,4 où la croissance des *Streptococcus thermophilus* est freinée. La fermentation est ensuite relayée par les *Lactobacillus bulgaricus* qui utilisent comme facteurs de croissance le CO₂ et l'acide formique produit au préalable par les *Streptococcus thermophilus* (Ebenzer et Vedamuthu, 1991).

Au pH d'environ 4,6 de caillage correspondant à la fin de fermentation après 4 heures, les laits fermentés ont été stockés au froid à 4°C. Pendant 21 jours où la croissance notamment les *Lactobacillus bulgaricus* et donc la production d'acide lactique continue à se faire à de faibles quantités.

A ce propos plusieurs auteurs (tiwary et ponday,1981 ;garcia –ruiz et al.,2012 ; kivanc et al.,1991) ont constaté qu'en présence d'extrait de thym ,la croissance denombreuses bactéries lactiques dont *lactobacillus bulgaricus* est retardée.l'étude réalisée par (choliare et al.,2007)rapporte que l'extrait hydroéthanoïque du thym préparé à 4% peut manifester une baisse de la croissance des bactéries lactiques(tiwary et ponday,1981) dépassant6 log UFC par comparaison à l'extrait préparé à 0,1 qui a enregistré une inhibitiondes germes de l'ordre de 1,7 log / UFC.

Par ailleurs, il apparait que les huiles essentielles de *Thymus vulgaris*présentent un large spectre d'inhibition des germes lactiques (**Nair et al.,2015**).

Dans le travail réalisé par (Hayouni et al.,2008)*Lactobacillus bulgaricus* s'est montrée la plus sensible en enregistrant une inhibition totale après trois jours de contact avec 25,5 et 2,5 ul d'huiles essentielles de thym, vient par la suite*Lactobacillus casei* avec une absence de croissance après 72 heures de contacts avec 25 ul d' HES de la même plante étudiée.

Nair et al .,(2015) ont constaté par ailleurs que l'utilisation du carvacrol à 1% ,principal composé d'huile essentielle de thym, exerce une inhibition de lactobacillus dépassant 3 Log UFC après 14 jours de contact.

Les valeurs d'acidité enregistrées restent toutefois conformes aux normes requises pour un yaourt destiné à la consommation ; inférieures à 150°D pour l'acidité et supérieur à 4 pour le pH (**Blanc, 1984**).

Par ailleurs, durant la période expérimentale, il a été constaté une évolution décroissante de l'acidité en fonction des taux d'incorporation d'extrait du thym ; avec une moyenne de 68,84°D pour l'échantillon témoin et qui varie jusqu'à 56,37°D pour le lait fermenté préparé à 8% d'extrait de thym. Ceci suppose que les principaux composés antimicrobiens contenus dans le thym dont (huile essentielle, flavonoïdes, dérivés de l'acétophénone et triterpènes) (Theusher, 2005, Amarti et al.,2010) ont réduits à différents doses incorporées l'activité fermentaire des souches spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, ce qui s'est traduit par une baisse de production de lactate dans le milieu.

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 exopolysaccharides qui, en formant des filaments pouvant se lier au caséines, limitent l'altération du gel par les traitements mécaniques et contribuent à la viscosité du yaourt.

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

Par ailleurs, Il est couramment admis dans le yaourt que la production d'EPS est le résultat de l'action exercée surtout par *St.thermophilus* .Mais d'après Tamine, (1999).*L .bulgaricus* possède aussi une aptitude à produire des EPS composés de galactose, glucose, rhamnose à des rapports de 4/1/1.

Les laits fermentés additionnés ou non d'extrait de thym sont nettement visqueux. Quoique, cette viscosité s'avère diminuer avec les doses sévères de thym incorporés dans les produits.

Au cours des 1^{ères} heures de la phase de fermentation, Il est apparait donc que plus le taux d'incorporation d'extrait de thym est élevé ,moins est la viscosité des laits fermentés expérimentaux. Ces réponses sont certainement dues à l'effet antimicrobien inhibiteur des principes actifs (huile essentielle, flavonoïdes, dérivés de l'acétophénone et triterpènes) contenus dans le thym (Theusher, 2005) et qui s'avèrent capables de freiner la production par les germes spécifiques du yaourt ensemencés d'exopolysaccharide responsables de la viscosité des produits (**Biliaderis et al., 1994**).

En effet, le nombre de germes spécifiques du yaourt dont *Streptococcus thermophilus* a connu au fait une nette augmentation dans les essais expérimentaux, de 87.10^4 UFC/ml à 249.10^4 UFC/ml en moyenne de 0 heure jusqu'au 14ème jour, puis il est remarqué une légère diminution à 181.10^4 UFC/ml à la dernière semaine de conservation. En revanche, le nombre de *Lactobacillus bulgaricus* tendance à augmenter de 14.10^4 à 111.104 UFC/ml en moyenne de 0 heure jusqu'au 14ème jour, puis il a diminué à 82.104 UFC/ml au 21ème jour.Ceci, vérifie les variations d'acidité légèrement constatées dans les échantillons.

Apparemment, l'étude a révélé que , plus le taux d'incorporation d'extrait de thym est élevé plus le nombre des germes (*Streptococusthermophilus* et *Lactobacilusbulgarius*) est diminué dans les essais expérimentaux. Ces réponses peuvent être liées sans doute à l'effet inhibiteur des extraits de thym sur les germes spécifiques du yaourt. Apparemment, l'augmentation d'extraits de thym semble

réduire remarquablement le nombre des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* dans les échantillons expérimentaux. Ceci, justifie bien l'existence de substances bioactives dans la plante ayant un pouvoir d'inhiber la croissance des germes spécifiques du yaourt.

Globalement, durant les 4 périodes de post acidification, le yaourt témoin était classé au premier rang du côté goût acide par rapport aux autres essais expérimentaux. Cette acidité constaté lors de la dégustation ,estdûe assurément à une fermentation lactique du lactose constitutif du lait par le biais particulièrement des souches lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) ensemencées dans les laits fermentés (**William, 1989**).

Concernant, le goût de fraîcheur, l'odeur, l'arrière-gout et la couleur des produits, il s'avère que les dégustateurs ont moins bien apprécié les laits fermentés additionnés d'extrait de thym. D'après les dégustateurs, l'odeur, la cohésivité ainsi que l'adhésivité des yaourts expérimentaux sont acceptable, surtout pour les échantillons à 2 et 4% d'extrait de thym y compris, le yaourt témoin.

3. Conclusion

A l'issue de cette étude, et d'après les résultats obtenus au cours des deux phases, à savoir ; de fermentation et de post acidification, il s'avère que les valeurs moyennes de pH démontrent une croissance proportionnelle aux taux d'extrait hydro-méthanolique de thym (*Thymus vulgaris* L.) additionnés dans les laits fermentés ; alors que celles de l'acidité, au contraire sont plutôt diminuées dans les produits.

En outre, il apparaît que le nombre des germes spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* est inversement proportionnelle avec le taux d'incorporation d'extrait de thym.

Au cours de toute la période de l'étude, d'une façon globale, les dégustateurs ont bien accepté les critères sensoriels (goût acide, goût de fraîcheur, cohésivité, adhésivité, odeur, arrière-goût et couleur) des laits fermentés expérimentaux, de type yaourt ferme, malgré que la qualité a tendance à diminuer à certaines doses sévères d'extrait de thym.

Annexe 1

A. Préparation de milieu M.R.S (Man Rogosa et Sharpe, 1960)

- Extrait de viande10g
- Extrait de levure 05g
- Acétate de sodium:05g inhibiteur
- Phosphate bipotassique02g
- Citrate d'ammonium02g
- sulfate de magnésium0.25g
- Sulfate de manganèse0.05g
- Glucose20g
- Tween 8001ml : agent sélectif
- Eau distillée1000 ml
- pH05

B.Préparation de milieu M17 (Terzaghi et Sandine,1975)

- Extrait de viande05g
- Tryptone2.5g
- Peptone papainique de soja2.5g
- Peptone pepsique de viande.....05g
- Peptone de caseine.....10g
- Acide ascorbique.....0.5g
- Lactose05g
- Glycérophosphate de sodium19g
- MgSO40.25g
- Agar-agar 15g
- Eau distillée 1000 ml
- pH7,1

C. Préparation d'Agar Mueller Hinton

- Infusât de viande :.....02,0 g /l
- Hydrolysât de caséine :.....17,5 g /l
- Amidon :.....1,5 g /l
- Extrait de levure 01g/l
- Agar-Agar :.....13 g /l
- Eau :.....1000ml
- Ph :.....7,4

D. Préparation bouillon de Mueller Hinton

- Infusât de viande :.....02, 0 g /l
- Hydrolysât de caséine :.....17,5 g /l
- Amidon :.....01, 5 g /l
- Extrait de levure01g/l
- Eau :.....1000ml
- Ph :.....7,4

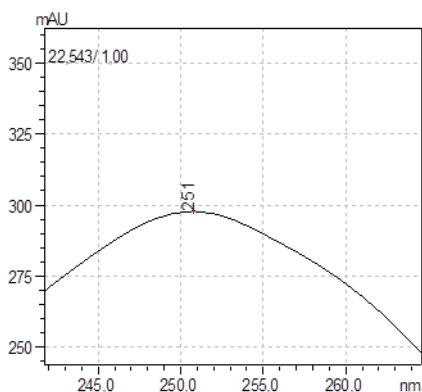
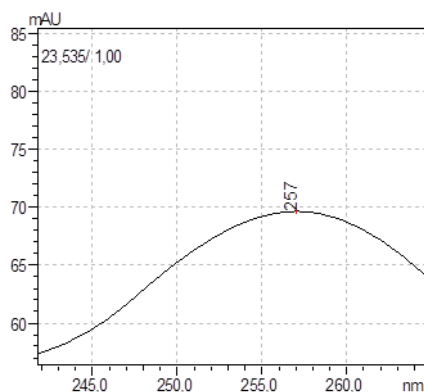
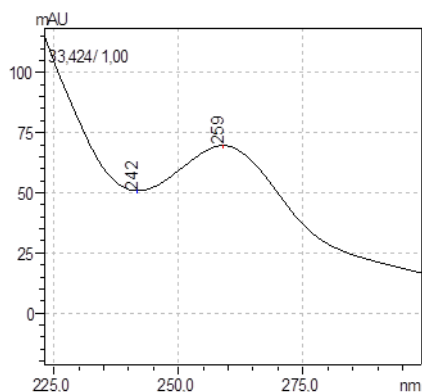
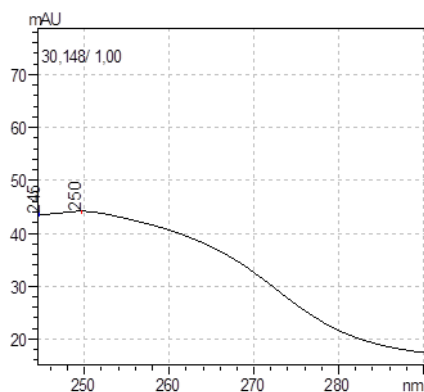
E .Préparation de bouillon nutritif

- Extrait de levure.....02 g/l
- Extrait de viande05 g/l
- Peptone pancréatique10 g/l
- Chlorure de sodium.....05 g/l
- Ph.....7,4

Annexe 2

Tableau 39. Résultats de la séparation par CCM de l'extrait du thym au méthanol dans le système solvant : B.A.W. (60 : 15 : 25).

Extrait/témoin	N spot	Rf	absorbance à 254 nm	absorbance à 366 nm	Godin
Rutine		0.7		Brun	Jaune foncé
AC gallique		0.85	-	Bleu clair	Rose clair
AC tannique		0.88	-	Bleu	Rose clair
Quercétine		0.96	-	Brun	Jaune marron
Catéchine		0.98	-	Bleu clair	Rose foncé
extrait hydrométanolique du thym	1	0.16	-	Bleuâtre	Marron sombre
	2	0.6	-	Bleuâtre	-
	3	0.65	visible	-	-
	4	0.7	-	Bleuâtre	Violet
	5	0.68	Visible	Orange	-
	6	0.96	-	-orange	Vert
					Vert



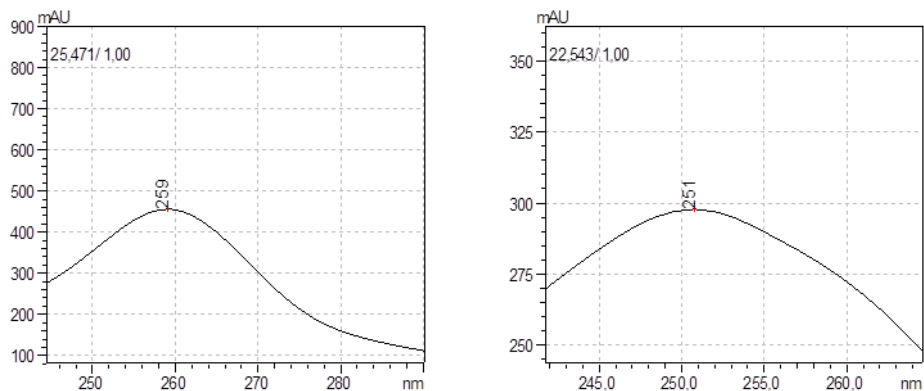
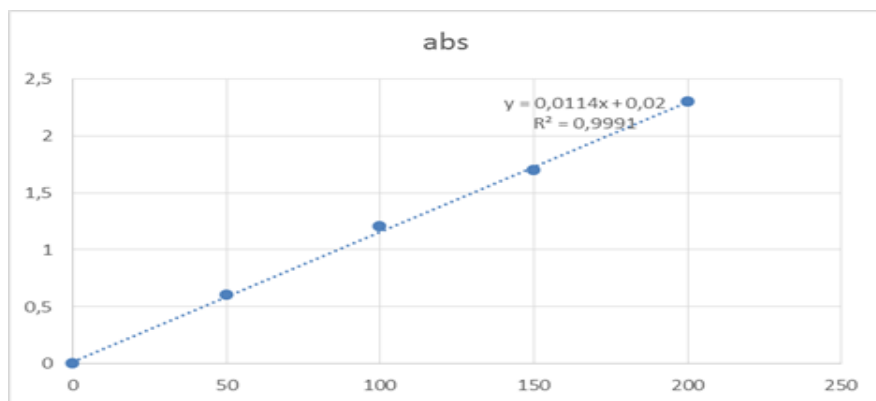
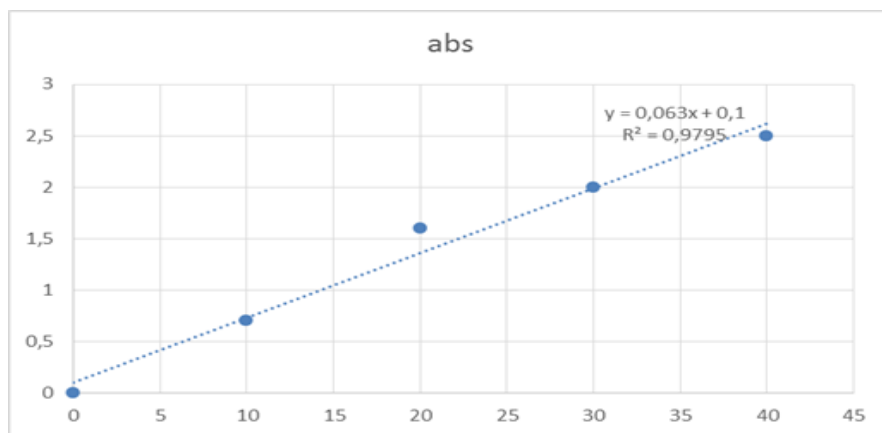


Figure 36. Les chromatogramme des composés identifiées par HPLC.



Concentration de l'acide gallique (µg/ml)

Figure37 . Droite d'étalonnage des polyphénols .



Concentration de la quercetine (µg/ml)

Figure38. Droite d'étalonnage des flavonoïdes.

Annexe 3

Université Abdelhamid BenBadis-Mostaganem

Département d'Agronomie

Paneliste N° :

Nom :

Prénom :

Sexe :

Fonction :

Fiche de dégustation

	Echan. 1	Echan. 2	Echan. 3	Echan. 4	Echan. 5
Gout acide					
Gout de fraîcheur					
Cohésivité					
Adhésivité					
Odeur					
Arrière-goût					
Couleur					

Il est demandé aux panelistes d'apprécier la qualité des produits selon les critères suivants et une échelle variable de 1 à 10 :

- **1,2,3 : Mauvais (e) ,**
- **3,4,5 : Bon (Bonne)**
- **6,7,8 : Très bon (bonne)**
- **9 et 10 : Excellent (Excellente).**

Définitions :

- **Gout acide** : Consiste à apprécier l'ampleur de l'acidité développée par les germes lactiques ensemencés dans les laits fermentés type yaourt au cours de l'entreposage.

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

Conclusion générale

Au terme de cet axe de recherche et à travers les résultats obtenus il ressort que la plante sauvage autochtone *Thymus vulgaris* L récoltée à Naama-Algérie est riche en de multiples composés bioactifs (tanins, alcaloïdes, polyphénols, flavonoïdes...) à vertu santé certain et dont les usages thérapeutiques contre de nombreuses maladies ne sont pas encore vérifiés à ce jour et très mal exploités.

La CCM a mis en évidence la présence de deux composés, à savoir, la rutine et les flavonoïdes. Elle nous a permis de contrôler la qualité de l'extrait, même si elle ne semble pas être suffisante pour identifier un constituant quelconque d'une manière bien précise. Elle nous a permis, toutefois, d'obtenir des renseignements utiles sur les éléments constitutifs probables que peut contenir l'extrait de la plante (quercétine, Flavonols 5,6,7 tri OH libres, Flavones 5 OH-et 4 OH ; ISO flavones, Flavonols 3-OH libre et le Dihydroflavonols).

L'étude quantitative de l'extrait brut, préparé à partir de la partie aérienne du végétal au moyen des dosages spectrophotométriques ont dévoilé une forte richesse de l'extrait étudié en polyphénols totaux (20,2 µgEAG/mg) et en composés flavonoïdes (39,83 µgEQ/mg).

Enfin, l'HPLC a permis l'identification de six composés phénoliques chez le *Thymus vulgaris* L. à savoir : apigénine glycosilée, fisétine, quercitrine, acide benzoïque, acide rosmarinique et hespéridine.

L'étude antimicrobienne de l'extrait de thym sur les germes lactiques à montré qu'il occasionne à de fortes concentrations une forte activité contre *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* ; avec des diamètres d'inhibition qui varient de 04 à 08,86 mm et de 04, 33 à 11 mm ; des taux d'inhibition qui oscillent de 13,00 à 57,53 % et une croissance microbienne qui varie respectivement de $111. 10^4$ à 0 UFC/ml et de $120. 10^4$ à 0 UFC/ml.

La concentration minimale inhibitrice et la concentration minimale bactéricide ont été obtenues avec l'extrait de thym préparé à 60% chez *Streptococcus thermophilus* . Par contre, la concentration minimale inhibitrice chez *Lactobacillus bulgaricus* est enregistrée à 80% d'extrait, alors que la concentration minimale bactéricide est remarquée à 60%. Cet extrait expérimental de *Thymus vulgaris* L. s'avère exercer une action de type bactéricide chez les deux espèces lactiques étudiées.

Concernant l'essai d'incorporation de l'extraithydrométhanolique du thym dans le yaourt, les résultats ont montré des variations remarquables des valeurs de pH en fonction des doses incorporées variables de 0 à 8% dans les produits ($p < 0,01$) ; soit des augmentations de 4,88 à 5,14 en moyenne.

Contrairement au pH, l'acidité a marqué une augmentation durant toute la période expérimentale, à partir de 17,31°D, à 0 heures pour atteindre 88,28°D au 21^{ème} jour.

De même, il s'avère que plus le taux d'incorporation de l'extrait de thym est élevé, plus le nombre moyen des germes spécifiques du yaourt est diminué.

Durant l'expérimentation, le nombre de germes *Streptococcus thermophilus* a connu une nette augmentation de 87.10^4 UFC/ml à 249.10^4 UFC/ml en moyenne de 0 heure jusqu'au 14^{ème} jour, puis il a marqué une légère diminution à 181.10^4 UFC/ml au cours de la dernière semaine de conservation. En revanche, le nombre de *Lactobacillus bulgaricus* a tendance à augmenter de 14.10^4 à 111.10^4 UFC/ml en moyenne de 0 heure jusqu'au 14^{ème} jour, puis il a diminué à 82.10^4 UFC/ml au 21^{ème} jour.

En ce qui concerne la qualité organoleptique des laits fermentés, selon les dégustateurs, la qualité a nettement diminué avec l'augmentation de la concentration de l'extrait du thym.

Malgré les bienfaits avérés sur la santé des composés bioactifs du thym, il est préférable de ne pas les mettre au début de la préparation des multiples produits laitiers transformés (beurre, laits fermentés, yaourts, fromages et autres dérivés du lait) parce que certains de ses composés peuvent exercer un effet inhibiteur drastique contre certaines bactéries lactiques bénéfiques impliqués dans les processus technologiques de transformation des produits (coagulation lactique, affinage des fromages, production de lactate, production d'arômes...etc.). Par conséquent il est possible de les ajouter, à la fin des préparations du yaourt brassé.

En ce qui concerne le test des hypothèses émises, les résultats de cette recherche scientifique ont montré que :

- la première hypothèse (H_1) a été validée,
- la seconde hypothèse (H_2) a été en partie validée et en partie invalidée,
- et la troisième hypothèse (H_3) a été validée.

Il ne fait aucun doute, par conséquent, que ce yaourt incorporé de l'extrait de *Thymus vulgaris*, connaîtra un développement dans les années à venir. En outre, cette nouvelle catégorie d'aliments innovants, nécessite des considérations réglementaires nouvelles, afin de préserver le potentiel d'innovation des entreprises alimentaires d'un côté, et de protéger la santé du consommateur d'un autre côté.

Références

- 1-Ait-Belgnaoui A., 2006.** Influence d'un traitement probiotique (*Lactobacillus farciminis*) sur les yaourts.
- 2-Alilou H., Hassani L. M. I., Barka N., Bencharki B., 2014.** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolens* subsp. *odorus*., Afrique Science 10(3) pp.316 – 328.
- 3-Almas, K. and N.H. Al-Bagieh, 1999.** The Antimbialeffects of bark and pulpextracts of miswak, *Salvadorapersica*. BiomedLetters., 60: pp.71-75.
- 4-Almas,K., 2001.** The Antimbialeffects of sevendifferent types of asianchewing sticks. *Odonto-Stomatologie Tropicale*., 96.pp. 17-20.
- 5-Amarti F. Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. &2010,**altérations de la sensibilité viscérale liées au stress : rôle de la barrière épithéliale colique.INRA,
- 6-Amiot J. 2005** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologieand antibacterialactivities of the essential oilsisolatedfromTunisian *Thymus capitatus*Hoff.and antibacterialactivity of the essential oil of *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. ssp. *eu-ciliatus*and herbs and the possible application in active packaging, withspecialempphasis on mustardantimicrobialactivity. *Planta. Med.*62 :pp.160-162.
- 7-Anton R. &Lobstein A., 2005.** *Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huilesessentiels*. Tec & Doc, Paris, p.522.
- 8-Astani A, Reichling J, Schnitzler P. 2012.** *Melissa officinalis* extract inhibits attachment of herpes simplex virus in vitro. *Chemotherapy.*; 58(1): pp.70-7.
- 9-Beer A.M., Lukanov J., Sagroche V. 2007** .Effect of Thymol on the spontaneous contractile activity of the smooth muscles. *Phytomedicine* 14: pp.65-69.
- 10-Beloued A. 2005.** *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des publications universitaires. Alger . pp : 124.

- 11-Benkiki N. 2006.** Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : Rutamontana, Matricariapubescens et Hypericumperfoliatum. Thèse de doctorat de l'université HajLakhdar de Batna.
- 12-Benoit B. 2012** ,Nomenclature de la flore de la France. Rev Tela Botanica BDNFF v 4.02.
- 13-Biallo D., Sanogo R., Yasambou H. et autre. 2004,**Étude des constituants des feuilles de ZiziphusmauritianaLam. (Rhamnaceae). C. R. Chimie. 7 :pp. 1073-1080.
- 14-Bnouham M., Benalla W., Asehrou A. &Berrabah M. 2012,**Antibacterialactivity of bifidobacteries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto2oligosaccharides. Mémoirebiochimie, université Abou Bah Belkaïd Tlemcen.
- 15.Boros, B., Jakabov, S., Horvth, G., Pluhr, Z., Kilar, F., &Felinger, A. 2010.** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography– mass spectrometry in Thymus species. Journal of Chromatography A, 1217, pp. 7972-7980.
- 16-Bouhdid S.IdaomarM.ZhiriA.BaudouxD.Skali NS And Abrini.J-2006,** thymus essentiel oils : chemical composition and in vitro antioxydant and antibactériactivities-congrés International de biochimie .Agadir ; Vol ;09 ;pp 12.
- 17-Bourgeois, C. M. and J.Y. Leveau, 1980.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier : Tech. Et Doc., pp : 331.
- 18-Bousmaha-Marroki L., Atik B.F., Tomi F. & Casanova J. 2007.** Chemical composition of thymus vulgaris ;66.pp.53-60.
- 19- Braithwaite A., Smith F. J. 1999,** ChromatographicMethods. 5ème Ed Kluwer AcademicPublishers. London.p. 548 .
- 20-Brown J. E., KhodrH., Hider R. C., Rice-Evans C. 1998,** Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions. Biochem. J. 330 :pp. 1173-1178.
- 21-Bruneton J. 1993** ,Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème Ed Tec&Doc. Paris.
- 22-Bruneton J. 1999,** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed Tec&Doc. Paris.

- 23-Burbott A. &Loomis P. (1987).**Development, oilstorage of dehiscence and peltate trichomes in *Thymus vulgaris*. *Nord J. Bot*, 3: pp.245-504.
- 24-Burt .S 2004** .essentialsoils : antibacterialproprieties and potential application in food- a review *Microbiology*.94, pp 223-253.
- 25- Bylund G., (1995):**Dairyprocessinghandbook. Edition TetraPakProcessingSystems. Sweden. p.436 .
- 26-Chaouch A. 2010.** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentiellesChemistry.université de la Réunion, faculté des sciences et technologies components.fromspices. 90 : pp.333-340
- 27-Coo Y. Dipascuale MA, Li W ,2009** .In vitro and in vivo killing of ocular*Demodex* by teatreeoil. *Br J Ophthalmol*, 2005, vol. 98, n°11, pp. 468-473.
- 120-Cullen P.J.,2003,** Application of naturalantimicrobials for foodpreservation, *J. Agric. Food Chem*.57, p. 5987–6000.
- 28-Damintoti K., Mamoudou H.D., Jacques S., Saydou Y., Souleymane S., Alfred S.T.2005.** Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantesmédicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Mémoire de l'université deBurkina Faso.
- 29-Dorman D ,Deans SG ,2000,**Antimicrobial agents from plants :antibactériallactivity of plant volatile oils. *Journal of appliedmicrobiology* 88.pp :308-316.
- 30-Ebrahimzadeh M. A., Pourmmorad F. et Hafezi S. 2008.** Antioxidantactivities of Iranian plantes médicinales.
- 31-Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. 2007.** La phytothérapie comme alternative à la résistance des plantes médicinales.
- 32-Essawi T. et Srour M. 2000,** Screening of somePalestinianmedicinal plants for antibacterialactivity. *J. Ethnopharm.* 70 : pp.343-349.
- 33-Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. 1986.** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique.*Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.*,64(2) :pp.159-164.

- 34-Fellah S. Romadhane M. Abderraba M-2006**Extraction et étude des huiles essentielle de a *Salvaofficinalis*L. Cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie- Journal de la société Algérienne de Chimie J. Soc.Alger .Chin ;Vol 16, N°2 :pp193-202.
- 35-Fellah. S, Ramadhan. M, Abderrahmane. M, 2006** : Journal de la société Algérienne de la chimie.
- 36-Franchomme, P., Jollois, R., Penoel, D.2010.**L'aromathérapie exactement : Encyclopédie del'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Editions Jollois, 2001
- 37-Gachkar, 2007:** Chemical and Biologicalcharacteristics of *Cuminumcyminum* and *Rosmarinusofficinalis* essential oils- Food Chemistry; Vol. 102; pp: 898-904.
- 38-Garnéro J. 1991** . Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. techn. Encyclo. Me. Nat., (Paris-France), Phytothérapie- Aromathérapie.
- 39-Garnéro, 1991** : Les huiles essentielles, leur obtention, leur compositions et leur analyses pp.130-145.
- 40-Gee J.M., Johnson I.T. 2001**Polyphenoliccompounds : interactions with the gut and implications for humanhealth. *CurrentMedicinalChemistry*. 8 : p178-182.
- 41-Gharner et al., 2005; Bouhdid et al, 2006; Hilan et al., 2006:** comparative analysis of some activepolyphenoliccompounds.pp :130-135.
- 42-Giordani R., Hadeif Y., Kaloustian J. 2008.** Compositions and antifungalactivities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* 79: pp.199-203.
- 43-Golmakani M. T. et Rezaei K. 2008.** Comparaison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymusvulgaris* L. *Food chemistry*.,109 : 925-93.
- 44-Grange et Davery, 1990** ; Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales.3ème Ed Tec&Doc. Paris.
- 45-Grysole,2004.** The acquisition of antibioticresistance in the periodontalmicroflora.
- 46-Guenter, 1975.**The essential oils Vol II, III, IV, V, VI, and D. Van No strand Ed.New York USA.

- 47-Guignard, J. L., 2000.** Biochimie végétale. Dunod, Paris., pp: 274.
- 48-Hans W. K. 2007.** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. p6-7.
- 49-Hilan C et Sfeir R- 1998.**Antimicrobial effect of essential oil *Salvia libanolica*(sauge)- the british Journal of phytotherapy ; Vol ;pp.155-162.
- 50-Hilan, 2006:** huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille de lamiaceae-Libanaise Science Journal; Vol.7; n°2.
- 51-Hossain, M.B., Rai, D.K., Brunton, N.P., Martin-Diana, A.B., & Barry-ryan C. 2010.**Characterization of phenolic composition in Lamiaceae spices by LC-ESI-MS/MS. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, pp.576–581.
- 52-Houmani Z., Azzoudj S., Naxakis G. &Skoula M. (2002).** The Essential Oil Composition of Algerian Zaâtar: *Origanum* spp. and *Thymus* spp. Journal of Herbs, Spices&Medicinal Plants. 9(4): pp.275-280.
- 53-Hui, Y. H., L. Meunier- Goddik, A. S. Hansen, J. Josephsen, W. K. Nip, P. S. Stanfield, F.** Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology. Marcel Dekker editions. p.670 .
- 54-Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, 2ème ED Larousse.Londres 143 ; pp.225-226.
- 55-Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F.,Jassim S.A., Naji M.A. (2003)** ,Novell antiviral agents: a medicinal plant perspective. Appl. Microbiol. 95 (3) : pp.412-27.
- 56-Izcan et chacha,2004,** antibacterien in vitro de l'huile essentielle d'*origanum compactum* vis a vis desouches d'origine clinique. *Nouvelles Tendances dans l'Ingénierie Biomédicale*, 2005; 11: pp.142-9.
- 57-Jean-Jacques Macheix, Annie Fleuriet, Christian Jay-Allemand. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. [Lausanne](#) : [Presses polytechniques](#) et [universitaires romandes](#), [Collection biologie](#), p.183.
- 58-Karuna V., 2006.** Huiles essentielles pour la cosmétique et le bien être. Propriétés thérapeutiques et toxicité des huiles essentielles.

- 59-Kim H. P., Son K. H., Chang H. W. et Kang S. S. 2004.** Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences.*, 96 (3) : pp.229-245.
- 60-Kivanç, M., A. Akgule and A. Dogan. (1991).**Inhibitory and stimulatory effects of cumin, oregano and their essential oil on growth and acid production of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides*. *Intl. J. Food Microbiol.*, 13:pp. 81-85.
- 61-Kulšić T., Dragovic-Uzelac V., Miloš M. (2006)**Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (4) :pp. 485-492.
- 62-Kuntie et al.,2007** .Pre- and probiotics for human skin. *Journal of Dermatological Science* 54, pp. 1-5.
- 63-Lack et al.,2006**,antioxydante des polyphénols extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Quercus suber* de la région de Tlemecen.
- 64-Lahlou M., 2004.** Methods to study photochemistry and bioactivity of essential oils.
- 65-Lahouel M. 2005.** Interaction flavonoïdes-mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine.
- 66-Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P. et Nychas G.J.E., 2001.** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.*, 91, 453-462.
- 67-Lamoureux L. 2000.** Exploitation de l'activité β 2 galactosidase de culture de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto2oligosaccharides. Mémoire de maîtrise, Université de Laval, Canada.
- 68-Lang G. et Buchbauer G. 2012.** A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragr. J.* 27: pp.13–39.
- 69-Lee S.-J., Umamo K., Shibamoto T., Lee K. G. 2005** ,Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* and their antioxidant properties. *Food Chemistry.* 91 : pp.131-137.

- 70-Leory, F., and de Vuyst, L. 2002.** Temperature and pH Conditions that prevail during fermentation of sausages are optimal for production of the antilisterial bacteriocin sakacin K. *Applied and Environmental Microbiology* 65, pp.974-981.
- 71-Li, H. and Zhang, X. 2005.** Characterization of thermostable lipase from thermophilic *Geobacillus* sp. TW1. *Protein Expr. Purif.*, 42: pp.153–159.
- 72-Lin J. K. et Weng M. S. 2006.** The science of flavonoids : Flavonoids as nutraceuticals. Ed Springer. p 213.
- 73-Litum, 1984,** thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Science*, 80: pp.159–166
- 74-Lucchesi M.E . 2005.** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à extraction des huiles essentielles, thèse de doctorat en sciences, discipline : chimie., université de la Réunion, faculté des sciences et technologies components from spices and herbs and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int .J.Food.Microbiol.* 60 :pp. 219-229.
- 75-Macheix J J., Fleuriet A. et Jay–Allemand C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechniques et universitaires romandes. p4-5.
- 76-Madi A. 2010:** caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Thèse de magister. Université de Mentouri Constantine.
- 77-Maher , 2006.** Flavonoid fisetin promotes ERK-dependent long-term potentiation and enhances memory". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (44) (2006), pp. 16568-16573. [PMID 17050681](#)
- 78-Maher, 2011.** Fisetin Lowers Methylglyoxal Dependent Protein Glycation and Limits the Complications of Diabetes. Maloine S. A, Paris.
- 79-Marmonier AA.** Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques, bactériologie médicale, technique usuelle 1990 ;123 :pp.217-226.

- 80-Mehibel M. 2006.** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des polyphénols extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Quercus suber* de la région de Jijel. Mémoire de magistère de l'université de Jijel.
- 81-Menrad K., 2003.** Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56 pp : 181-188
- 82-Miller, et al, 2006:** Carcinogenic glycosides from the rare Australian endemic rain forest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae)-*Phytochemistry*; Vol. 67; pp 43–51.
- 83-Miron, T.L., Plaza, M., Bahrim, G., Ibez, E., & Herrero, M. 2011.** Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants. *Journal of Chromatography A*, 1218, pp.491-492.
- 84-Morales, R. 2002,** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the genus*
- 85-Moroh, J.L.A., C. Bahi, K. Dje, Y.G. Loukou and F. Guede-guina, 2008.** Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redhead (Rubiaceae) acetaticque pp.430-500.
- 86-Naghbi , 2005:** Labiatae Family in folk Medicine in Iran.
- 87-Nagy, T.O., Solar, S., Sontag, G., & Koenig, J. 2011.** Identification of phenolic components in dried spices and influence of irradiation. *Food Chemistry*, 128, pp. 530-534.
- 88-Nair, D., Sharma, C.S., Nannapaneni, R., Kiess, A., Schilling, W. (2015).** Reduction of computationally designed liver-specific transcriptional modules and hyperactive factor IX improve hepatic gene therapy. *Blood*. 2014;123(20):pp.3195-3199.
- 89-Nicole M. 1996 ,** Aperçu de l'aromathérapie. *Info.essence.2* : P 4-5.
- 90-Olivier G.2007,** Caractéristique et mode d'action des antibiotiques.
- 91-Ong et Khoo,2000,** au moyen d'huiles essentielles Thèse de Doctorat n° 3311, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne. *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology*, 85pp.133-150.

- 92-Ono K, Li L, Takamura Y, Yoshiike Y, Zhu L, Han F, et al.2012.** Phenolic compounds prevent amyloid beta-protein oligomerization and synaptic dysfunction by site-specific binding. *The Journal of biological chemistry.* 2012; 287(18): pp.31-43.
- 93-Oscar Aguilar and Carmen Hernández-Brenes. 2015.** Use of Modified Phenolic Thyme Extracts (*Thymus vulgaris* L.) with Reduced Polyphenol Oxidase Substrates as Anthocyanin Color and Stability Enhancing Agents. *Molecules*, 20(12), pp.422-434..
- 94-Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., 2007.** Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacterial growth: *E. coli* 0157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control.* 18 (5), pp. 414-420
- 95-Özcan M., J.-C. Chalchat 2004,** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30 (4) :pp. 68-73.
- 96-Özcan, M. (2004).** Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. *Food Chemistry.* 84: 437-440.
- 97-Özgülven M. et Tansi S. 1998.** Drug yield and essential oil of *Thymus vulgaris* L as influenced by ecological and ontogenetical variation. *The Turkish journal of agriculture and forestry.*, 22 :pp. 537-542.
- 98-Panizzi L., Flamini G., Gioni P.L., Morelli I., 1993.** Composition and antimicrobial of plantes médicinales. 10:79-88
- 99-Paris R. et Moyse M. 1965.** Précis de matière médicale. Edit. Masson. Paris. p412 .
- 100-Pibiri M.C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles Thèse de Doctorat n° 3311, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne.
- 101-Pidiri c .2005** Assainissement microbiologique de l'air de synthèse de ventilation au moyen d'huile essentielle .thèse dictorat.institut des infrastructures. Des ressources et de l'environnement .Ecole polytechnique fédérale de laussane pp10-12.
- 101-Proestos, C., Choriantopoulos, Nychas, G.-J.E., & Komaitis, M. (2005).** RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1190-1195.,

- 102-Quezel et Santa, 1963.** *coerulea* Janka and *Thymus aznavourii* Velen. *Flavour Fragrance J.*, 13(1), 65-67.
- 103-Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A.-H., &Khalel, K. I. 2013.** Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, pp. 827–831.
- 104-Roux., 2008.** Conseil en aromathérapie ., 2 ème Edition, pro-officia., p187. Their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*. 128 : pp. 151-153.
- 105-Saadiç O. 2003.** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Salmonella on turkey breast cutlets by plant derived compounds*. *Foodborne Pathog. Dis.* 11, 981 -987.
- 106-Sangwan N .S., Farooqui A. H. A., Shabih F. & Sangwan R. S. (2001).** Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regul.* 34: 3-21.
- 107-Saxelin, M., R. Korpela and A. Mayra-Makinen. (2003):** Functional dairy products in: *Dairy processing Improving quality*. CRC Press LLC. 546 pages.
- 108-Schirner M. 2004.** Huiles essentielles : description de plus de 200 huiles essentielles et huiles végétales. Guy Trédaniel, p 23.
- 109-Schwarz K., Huang S.W., German B.J. et autre (2000)** Activities of antioxidants are affected by colloidal properties of oil-in-water and water-in-oil emulsions and bulk oils. *J. Agric. Food Chem.* 48 : 4874-4882.
- 110-Selmi S. et Sadok S. 2008.** The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on *Science and Technology*. 4 : pp. 1000-1016.
- 111-Shunying Z., Yang Y., Huaidong Y., et al. (2005)** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *J. Ethnopharmacol.* 96 : 151-158.
- 112-Singh G., Kappor I. P., Singh P., 2006 :** Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.). *Food Chem Toxicol*, vol 48, n°4, pp. 26-31.

- 113-Soliman K. M. et Badeaa R. I., 2002.**Effect of oil extracted from some medicinal plants.
- 114-Solomakos N., Govaris A., Koidis P. & Botsoglou N. (2008).** The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Science*, 80: 159–166.
- 115-Soto Mendivil E.A., Moreno Rodriguez J.F., Espinosa M.E., Garcia Fajardo J.A., Springer.** p 213.
- 116-Sultana, B., F. Anwar and M. Ashraf, 2009.** Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules.*, 14: 2167-2180.
- 117-Tamime A., 2005.** Probiotic Dairy Products. Dairy Science and Technology Consultant.
- 118-Tapas A. R., Sakarkar D. M. et Kakde R. B. 2008.** Flavonoids as nutraceuticals. *Topical journal of pharmaceutical research.*, 7 (3) : pp.1089-1099.
- 119-Thuille N., Fille M., Nagl M. 2003.** Bactericidal activity of herbal extracts. *Int. J. Hug. Environ. Health.* 206 :pp. 217-221.
- 120-Tiqwari, A. K. 2001.** Imbalance in antioxidant defence and human diseases : Multiple approach of natural antioxidant therapy. *Current science.*, 81 (9) : 1179-1181.
- 121-Tiwari, ICP. and Pandey, A. (1981)** Effect of some essential oils on lactic acid bacteria. *J. Sci. Res.(Bhopal)* 3, pp.161-163.
- 122-Tumen G., Baser K.H.C., Demirci B., Ermin N., 1998.** The essential oils of *Satureja* spp. 403-420.
- 123-Turbide M., 2009.** Aromathérapie: les huiles essentielles pour combattre les infections.
- 124-Vainet J., 1984.** Aromathérapie: traitement des maladies par les essences de plantes.
- 125-Valero M., Salmerón M.C. 2003.** Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized cravot broth. *Inter. J. Food Microbiology* 85:pp. 73-81.
- 126-Valnet. T 1984.** Aromathérapie, traitement des maladies par les essences des plantes .Ed Maloine S.A, Paris.
- 127-Walle, 2004,** *Thymus vulgaris*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.

128-Wang B.S., Li B.S., Zeng Q.X. (2008).Antioxidant and free radical scavenging activities of pigments extracted from molasses alcohol wastewater. Food chemistry.107 : pp. 1198-1204.

129-Wehmer C. (1931). Die pflanzenstoffe : botanisch-systematisch bearbeitet. Verlag Von Gustav Fisher, pp. 879-880.

130-Yang R. Y., Lin S. et Kuo G. 2008. Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species. Asia of pacific journal of clinical nutrition., 17 (S1) : pp.275-279.

131-Yi, L, Seeram, N.P, Abrini 2007. Further investigation into maple syrup yields 3 new lignans, a new phenylpropanoid, and 26 other phytochemicals. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59, pp.708-716.

132-Zahdour M. 2015: Suivi de la cinétique microbienne et d'acidité du yaourt associé aux huiles essentielles de *T. ciliatus* et *A. verticillata*. mémoire master en science des aliments. Univ. tlemcen

133- Zhiri, A. 2006 . Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré. Ed. Nutra News.p16.

Résumé :

Cette étude contribue à la caractérisation des principaux composés bioactifs du *Thymus vulgaris*L. collecté de la région de Mechria à Naama au Sud d'Algérie d'une part et leurs effets antimicrobiens en d'autre part sur les germes spécifiques du yaourt à savoir ; *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. L'étude vise aussi à déterminer l'effet de l'incorporation de l'extrait hydrométhanolique de Thym à différentes doses (0, 2, 4, 6 et 8%) sur la qualité et la stabilité d'un lait fermenté (yaourt) durant 21 jours de conservation au froid à 4°C. L'extraction des principaux composés bioactifs de la plante a été réalisée par macération à froid au méthanol aqueux. Après l'évaporation du solvant sous vide, les extraits obtenus sont préparés à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. Afin de caractériser l'extrait expérimental de *Thymus vulgaris*L., des analyses qualitatives et quantitatives ont été effectuées (test en tube, dosage des polyphénols totaux, dosage des flavonoïdes, CCM et HPLC). Concernant l'activité antimicrobienne du thym diverses méthodes et mesures ont été testées, tels que le taux de croissance, diamètre d'inhibition, Concentration Minimale Inhibitrice et Concentration Minimale Bactéricides. Enfin, les mesures effectuées sur le yaourt additionné d'extrait de thym ont porté sur (pH, acidité, viscosité, dénombrement des germes lactique, adhésivité, cohésivité, gout, odeur, couleur et fraîcheur).

Apparemment, le *Thymus vulgaris*L. objet de l'étude est riche en principaux composés bioactifs dont tanins, alcaloïdes, polyphénols et flavonoïdes. Les teneurs en polyphénols totaux et en composés flavonoïdes dans l'extrait hydrométhanolique de la plante ont été estimées à 39,83 µgEQ/mg et 20,2 µgEAG/mg, en moyenne respectivement. Le quercétine, le flavonols 5,6,7 tri OH libres, le flavones 5 OH-et 4 OH ; l'ISO flavones, le flavonols 3-OH libre et le Dihydroflavonols comptent parmi les principaux composés flavonoïdes recensés chez l'espèce de thym étudié. L'extrait semble riche particulièrement en six composés poly-phénoliques (apigénineglycosilée, fisétine, quercitrine, acide benzoïque, acide rosmarinique et hespéridine).

Ces composés bioactifs ont démontré un effet de type bactéricide vis-à-vis des deux souches lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) à une concentration de 80% de l'extrait hydrométhanolique de la plante.

Il semblerait que la qualité (physicochimique, microbiologique et organoleptique) est nettement altérée ($p < 0.01$) en fonction de la hausse des concentrations de l'extrait de thym (de 0, à 2, à 4, à 6 et à 8%) incorporées, respectivement dans les laits fermentés. Néanmoins, les produits préparés à 2 et 4% d'extrait ont été très appréciés par les consommateurs au même titre que le yaourt témoin.

Concepts et Mots clés : *Thymus vulgaris*L., extrait, méthanol aqueux, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, bactéricide, yaourt, lait fermenté.

Abstract:

This study contributes to the knowledge of the composition of bioactive constituents of *Thymus vulgaris* L. harvested in Mechria region of Naama in the south of Algeria and their antimicrobial effects on the specific germs of yoghurt (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*). The study also aims to determine the effect of the incorporation of hydromethanol extract of thyme at different doses (0, 2, 4, 6 and 8%) on the quality and stability of a fermented milk (yoghurt) for 21 days cold storage at 4 °C. The extraction of the bioactive compounds from the plant was realised by cold maceration with aqueous methanol. After evaporation of the solvent in vacuo, the extracts obtained are prepared in a proportion of 0, 20, 40, 60, 80 and 100%. In order to characterize the experimental extract of *Thymus vulgaris* L., qualitative and quantitative analyzes were performed (tube test, total polyphenol assay, flavonoid assay, TLC and HPLC). Concerning the antimicrobial activity of thyme various methods and measurements were tested, such as growth rate, inhibition diameter, Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Bactericidal Concentration. Finally, measurements made on yoghurt with added thyme extract were carried out on (pH, acidity, viscosity, tackiness, cohesiveness, taste, odor, Color and freshness).

Apparently, the *Thymus vulgaris* L. object of the study is rich in major bioactive compounds including tannins, alkaloids, polyphenols and flavonoids. The total polyphenol and flavonoid compounds in the hydromethanol extract of the plant were estimated at 39.83 µgEQ / mg and 20.2 µgEAG / mg, respectively. The quercetin, flavonols 5,6,7 tri OH, flavones 5 OH and 4 OH; ISO flavones, flavonols 3-OH and dihydroflavonols were the principal flavonoid compounds identified in the studied plant.

These bioactive compounds demonstrated a bactericidal effect on the two lactic strains (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*) at 80% of hydromethanolic extract of *Thymus vulgaris* L.

It would appear that the quality (physicochemical, microbiological and organoleptic) was significantly altered ($P < 0.01$) with the increase in concentrations of thymus extract (0, 2, 4, 6 and 8%) respectively in the fermented milks. Nevertheless, the products prepared at 2 and 4% of extract were very appreciated by the consumers than control yogurt.

Concepts and Key words: *Thymus vulgaris* L., extract, aqueous methanol, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, bactericide, yogurt, fermented milk.