



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département: Biologie Appliquée



MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Sécurité alimentaire et assurance de qualité

Thème:

**Effet de l'incorporation de l'extrait aqueux
de thym sur la qualité hygiénique du yaourt**

Présenté par:

CHAMI Med Fahd

BENKHEDIR Med Charefeddine

Devant le jury:

Mme. BENHAMLAOUI Khalida	MCB	U.L.T. Tébessa	Présidente
Mme. BOUKEZOULA Fatima	MCB	U.L.T. Tébessa	Promoteur
Mme. SMAALI Sawsan	MCB	U.L.T. Tébessa	Examinatrice

Date de Soutenance: 20/06/2019

Note:..... /20.

Mention:.....

Résumé

L'objectif de notre étude est de mettre en évidence le rôle conservateur de l'extrait aqueux de *thymus numidicus* sur le yaourt.

Dans cette étude, la plante présente des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH élevés. L'IC50 de l'extrait aqueux du thym est de l'ordre de 171,16µg/ml. Une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) a été observée entre l'IC50 de thym et de l'acide ascorbique (69.67µg/ml).

Les résultats du suivi de l'évolution de la qualité hygiénique du yaourt élaboré pendant 32 jours ont montré que l'ajout de l'extrait aqueux de *thymus numidicus* au yaourt présente un effet moyen sur la flore bactérienne (FTAM) et les coliformes totaux mais réduit totalement le nombre de coliformes fécaux, de staphylocoque et celui des levures et moisissures. L'extrait aqueux de *thymus numidicus* a pu jouer le rôle d'un conservateur pour le yaourt à une concentration de 1ml/kg, et il a pu prolonger la date de consommation du yaourt à 35 jours. La date limite du yaourt non incorporé étant de 33 jours seulement.

Mots clés : *thymus numidicus*, *extrait aqueux*, *yaourt*, **effet antimicrobien**, **antioxydant**.

Abstract

The objective of our study is to highlight the conservative role of the aqueous extract of *thymus numidicus* on yogurt.

In this study, the plant introduces percentages of inhibition of the free radical DPPH raised. IC50 of the aqueous extract of the thyme is in the order of 171,16 μ g / ml. A very highly significant difference ($p \leq 0,001$) was noticed between IC50 of thyme and some ascorbic acid (69.67 μ g / ml).

The results of the monitoring of the evolution of the hygienic quality of yoghurt worked out during 32 days showed that the addition of aqueous extract of *thymus numidicus* in yoghurt introduces a medium effect on the bacterial flora (FTAM) and complete coliformes but reduced completely the number of faecal coliformes, staphylococcus and that of baking yeasts and mildew. Aqueous extract of *thymus numidicus* could play the role of a conservative for yoghurt a concentration of 1ml / kg, and he could extend the date of consumption of yoghurt in 35 days. The deadline of not incorporated yoghurt being of 33 days only.

Key words: *thymus numidicus*, aqueous extract, yoghurt, antimicrobial, antioxidant effect.

ملخص

الهدف من دراستنا هو تسليط الضوء على دور المستخلص المائي للزعتر كحافظ في الياغورت. في هذه الدراسة ، يحتوي النبات على نسب عالية من تثبيط الجذور الحرة DPPH. IC50 من المستخلص المائي للزعتر هو من 171.16 ميكروغرام / مل. وقد لوحظ وجود فرق كبير للغاية ($p \leq 0.001$) بين IC50 الزعتر وحمض الأسكوربيك (69.67 ميكروغرام / مل).

أظهرت نتائج متابعة تطور الجودة الصحية للياغورت الذي تم إعداده لمدة 32 يومًا أن إضافة المستخلص المائي (*thymus numidicus*) إلى الياغورت لها تأثير متوسط على الفلورا الجرثومية (FTAM) و (les coliformes totaux) ولكن يقلل تمامًا من عدد (les coliformes fécaux) و العنقوديات و الخمائر و الفطريات .

يمكن أن يكون المستخلص المائي *thymus numidicus* بمثابة مادة حافظة للياغورت بتركيز 1 مل / كغ ، وكان قادرًا على تمديد تاريخ استهلاك الياغورت إلى 35 يومًا. الموعد النهائي للياغورت غير مضاف هو 33 يومًا فقط.

الكلمات المفتاحية : *thymus numidicus*, المستخلص المائي, الياغورت, تأثير مضادات الميكروبات, مضادات الأكسدة.

Remerciement

*Tous d'abord, nous tenons à remercier le bon Dieu, de nous avoir donné la force
et*

le courage de mener à bien ce modeste travail pour arriver à ce jour-là.

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance
à*

notre promotrice, Madame BOUKEZOULA F. Maitre de conférence à la faculté

de Tébessa, qui a su à sa façon, nous

conseiller et nous orienter tout au long de la réalisation de ce travail.

Nos remerciements vont également à :

*Madame BENHAMLAOUI K. pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de
présider le jury de ce mémoire ainsi qu'al' honorables membres du jury et
examinatrice*

Madame SMAALI S. de bien vouloir examiner notre travail.

*Tous nos enseignants qui nous ont suivis durant notre cursus scolaire et
universitaire, qui nous ont prodigués connaissances et conseils.*

Toutes les personnes

ayant participé à la réalisation de notre projet de fin d'étude

*Nos vif remerciements vont à nos très chers parents, familles et amis pour leur
aide, leur patience et leur encouragement dans les bons et les mauvais moments*

Dédicace

*A ceux qui ont sacrifiés toute leur jeunesse pour nous, qui m'ont toujours encouragé, qui m'ont soutenus durant toute la très longue durée de mes études et qui m'ont donné une bonne éducation. Pour tous cela je dédie ce modeste mémoire à mes très chers parents à qui je dis aujourd'hui merci et mille fois merci **maman**, merci **papa**.*

A ma petite sœur miaa et mon frère amine

A tous mes cousins rima, arezki, islem, selma, ali, asma, hacen, leila, hedi, imene, sara, amel, yanis et à toutes mes tantes et oncles

A mes amis khalil, hachmi, nassim, hamza, hocine, amine

A mon binôme Charoufa, avec lequel j'ai partagé les bons moments et à toute sa famille

A tous ceux qui m'ont connu de près ou de loin.

A tous les étudiants de ma promotion 2019.

FAHD

Dédicace

Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce modeste travail :

*A ma très chère **mère***

quoi que je fasse ou que je dise ,je ne serai point remercier comme il se doit .Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence a mes cotes a toujours été ma source de force pour affronter les différentes obstacles.

*A mon cher **père***

*tu as toujours été a mes cotés pour me soutenir et m'encourager.
que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

*A mes chers frères **Hako** et **Youssouf***

*et a mes chères sœurs **Manel** et **Randa***

*A mes petits anges **Taim** et **Tedj***

A toute ma famille et mes amis et tous mes proches ceux qui ont cru en moi

*A mon binôme **Fahd**, et à toute sa famille*

A toute la promotion

(Enseignants et étudiants)

puisse dieu vous donne santé, bonheur, courage, et surtout réussite.

MED Charef

Table de matières

Résumés	
Remerciement	
Dédicace	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Liste des Abréviations	
Introduction.....	01
Partie théorique	
Chapitre I. Les additifs alimentaires	
I.1.Historique.....	02
I.2. Définition.....	03
I.3.Classification des additifs alimentaires.....	03
I.4.Les Conservateurs.....	05
I.4.1.Agents conservateurs (Antibactériens).....	05
I.4.2.Mécanismes d'action des conservateurs.....	06
I.4.3.Qualité requise d'un conservateur.....	07
I.4.3.1.Innocuité.....	07
I.4.3.2.Spectre d'activité	07
I.4.3.3.Efficacité.....	07
I.4.4. Problèmes liés à certains conservateurs alimentaires.....	07
I.4.5.Quelques agents conservateurs minéraux.....	08
I.4.6. Quelques agents conservateurs organiques.....	08
I.5. Les antioxydants.....	09
I.5.1. Définition.....	09
I.5.2. Antioxydants primaire.....	09
I.5.3. Les antioxydants secondaires.....	10

I.5.3.1. Antioxydant d'origine naturelle.....	10
I.5.3.2. Antioxydant d'origine synthétique.....	10
I.5.4. Activité antioxydante.....	11
I.6. Effet de combinaison des additifs alimentaires.....	12

Chapitre II. Le thym

II.1. Description et utilisations de thym.....	14
II.2. Répartition géographique du thym.....	14
II.3. Classification botanique.....	15
II.4. Les bienfaits du thym.....	15
II.5. Usage traditionnelle.....	15
II.6. Propriétés du thym.....	15
II.7. Rôle conservateur du thym.....	16
II.7.1. Méthodes d'extraction des composés phénoliques.....	17
II.7.1.1. Infusion.....	17
II.7.1.2. Décoction.....	17
II.7.1.3. Macération	18
II.7.1.4. Distillation	18

Chapitre III. Le yaourt

III.1. Histoire et origine du yaourt.....	19
III.2. Définition du yaourt.....	19
III.3. Matières utilisées pour la production du yaourt.....	19
III.3.1 Lait frais.....	19
III.3.2. Les bactéries caractéristiques du yaourt.....	20
III.3.2.1 Facteurs physiques.....	20
III.3.2.2. Facteurs chimiques.....	21
III.3.2.3. Facteurs microbiologiques	21
III.4. Fabrication du yaourt.....	22

III.4.1. Traitement thermique.....	22
III.4.2. Ensemencement et fermentation.....	22
III.4.3. Refroidissement et conditionnement.....	22
III.5. Types de yaourt.....	23
III.6. Différent type de yaourt.....	24
III.6.1. Selon la technologie de fabrication.....	24
III.6.2. Selon la teneur en matière grasse.....	25
III.6.3. Selon les ingrédients additionnés.....	25
III.7. Intérêts nutritionnel et thérapeutiques du yaourt.....	25
III.7.1 Valeur nutritionnelle.....	25
III.7.2 Effets thérapeutiques.....	26

Partie expérimental

Matériel et méthodes

I. Activité antioxydante.....	27
I.1. Matériel végétale.....	27
I.2. Obtention de l'extrait aqueux.....	27
I.3. Calcul du rendement	28
I.4. Evaluation de l'activité anti oxydante de l'extraits.....	28
I.4.1.Principe.....	28
I.4.2. Protocole expérimentale.....	28
II. Incorporation de l'extrait aqueux au yaourt.....	29
II.1. Préparation du yaourt brassé.....	29
II.2. Incorporation de l'extrait aqueux	30
III. Détermination de l'effet de l'incorporation de l'extrait aqueux	31
III.1. Analyse microbiologique.....	31
III.1.1. FTAM.....	31
III.1.2. Les coliformes	31

III.1.3. Les staphylocoques.....	31
III.1.4. Levures et moisissures.....	32
III.2. Estimation du shelf life de fromage frais.....	32
IV. Traitement statistiques.....	32

Résultat et discussion

I. Activité antioxydante de l'extrait aqueux.....	33
I.1. Rendement de l'extrait aqueux.....	33
I.2. Activité scavenger du radical DPPH.....	33
I.3. Détermination de l'IC50 de la plante	36
II. Effet de l'incorporation de l'extrait aqueux de thym sur la qualité hygiénique du yaourt.....	37
II.1. Caractéristiques microbiologique du yaourt fabriqué.....	37
II.2. Evolution de la qualité hygiénique su yaourt.....	37
II.2.1. Les FTAM.....	37
II.2.2. Les coliformes totaux.....	38
II.2.3. Les levures et moisissures.....	39
II.2.4. Les coliformes fécaux et les staphylocoques	39

Conclusion Et Perspectives.....41

Références Bibliographiques.....42

Annexes

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Classement des additifs selon le cadre de la CEE et du codex Alimentarius.....04

Tableau n°02 : Composition nutritionnelle du yaourt (**Syndifrais , 1997**).....25

Liste des figures

Figure n°01	Schéma de fabrication des yaourts ferme et brassé.....	24
Figure n°02	Extraction aqueuse.....	27
Figure n°03	Diagramme de fabrication du yaourt brassé.....	30
Figure n°04	Effet Scavenger contre le radical DPPH de l'extrait aqueux.....	33
Figure n°05	Pourcentages d'inhibition à 800 µg/ml.....	34
Figure n°06	IC50 de l'extrait aqueux de thym.....	36
Figure n°07	Le développement du nombre de FTAM pendant la durée de stockage.....	37
Figure n°08	Le développement du nombre de coliformes totaux pendant la durée de stockage.....	38

listes des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

ADN : Acide désoxyribonucléique

DPPH : 2,2-Diphényl Picryl-Hydrazyl.

FTAM : Flore totale aérobie mésophile

G : Gramme

IC 50 : Concentration Inhibitrice Médiane

Kcals : kilocalories

kg : kilogramme

MAL : La limite d'acceptabilité microbienne

Mg: Milligramme

Min : Minute

ml : Millilitre

mm : Millimètre

nm : Nanomètres

PCA : Plate Count Agar

pH : potentiel d'hydrogène

UFC: Unité Faisant Colonie

VRBL : Biliée Lactosée Au Rouge Neutre Et Violet Cristal

µg : Microgramme

µl : Microlitre

Introduction

Introduction

Introduction

L'oxydation constitue probablement l'un des paramètres majeurs à l'origine de l'altération des produits alimentaires. Les dégradations oxydatives qui en résultent affectent les qualités nutritionnelles des produits et peuvent avoir des répercussions sur la santé humaine.

Dans ce contexte, différents moyens de prévention sont disponibles pour limiter l'utilisation des antioxydants synthétiques et s'orienter vers les antioxydants naturels (**Ribeiro et al., 2001**).

Les consommateurs considèrent plus surs et plus sains les produits élaborés à partir des ingrédients naturels rejetant les additifs synthétiques. Cette situation justifie l'intérêt pour l'identification des nouvelles substances naturelles capables d'être utilisées comme ingrédients alimentaires. Sur la base de nombreuses études réalisées, les antioxydants naturels (extraits d'herbe) sont apparus comme une alternative aux antioxydants de synthèses qui sont de moins en moins utilisés dans les denrées alimentaires. L'activité inhibitrice des extraits d'herbes est attribuée fondamentalement à sa richesse en composés phénoliques.

C'est dans cette optique que s'articule la présente étude, dont les principaux objectifs visent :

- La valorisation d'une plante médicinale largement répandue dans tout le territoire Algérien, le thym, à partir de l'espèce *thymus numidicus*,
- L'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'extrait aqueux de thym sur une matrice alimentaire (*le yaourt*).

Notre travail de recherche est divisé en deux parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique, la deuxième partie, nous avons adopté une démarche expérimentale qui porte sur la description des matériels et méthodes utilisés, ainsi qu'une analyse détaillée des résultats et leurs discussions.

Partie

Théorique

Chapitre I. Les additifs alimentaires

I. Les Additifs Alimentaires

I. Les additifs alimentaires

Les additifs modernes permettent de répondre aux besoins des industriels qui veulent produire en grande quantité, stocker sur de longues périodes sans que le produit ne s'altère, ou améliorer la texture, l'aspect, le goût des produits alimentaires et les rendre ainsi conformes aux exigences des consommateurs (**Chevallier, 2007**).

I.1. Historique

L'histoire de la conservation de la nourriture remonte à la préhistoire. L'Homme préhistorique devait manger le fruit de sa cueillette et de sa chasse immédiatement pour qu'il ne soit pas impropre à la consommation. Mais lorsque qu'il tombe par hasard sur des aliments séchés, il prend conscience que ces produits peuvent être consommés avec un certain délai, ce qui lui permettait par la suite d'avoir une réserve alimentaire pendant les périodes de non-cueillette et où la chasse était impossible.

C'est la naissance du premier conservateur alimentaire, celui de séchage. Puis c'est dans la période néolithique (-6 000 à -2 200 ans avant Jésus-Christ) que le sel fût utilisé comme conservateur.

Enfin dans l'Antiquité (-3000 avant J-C à 476 après J-C), apparaît le troisième conservateur, le froid (les Romains emballaient des poissons dans de la neige et de la glace) (**Gouget, 2008**).

. Avant l'ère de l'industrie agroalimentaire et des grandes surfaces, la conservation des denrées alimentaires s'effectuait avec des produits ou des processus naturels :

- La conservation par la congélation : pour tout produit.
- La conservation par le fumage : pour la viande et le poisson.
- La conservation par le séchage : ou déshydratation pour les légumes.
- La conservation par appertisation : mise en bocaux de fruits et légumes.
- La conservation par le sucre : pour les fruits (cinquante pour cent de sucre).
- La conservation par les acidifiants : pour les légumes (proportion de vinaigre à hauteur de deux pour cent).
- La conservation par la saumure : composé de sel et de nitrite, elle est utilisée pour la viande, le fromage et le poisson (conservation dans un bain de saumure).

I. Les Additifs Alimentaires

- La conservation par le sel : pour la viande, les légumes et le poisson (processus de salaison d'une proportion de sel de huit pour cent puis séchage de l'aliment) (**Gouget, 2008**).

I.2. Définition

Un additif alimentaire est défini comme toute substance qui n'est pas habituellement consommée en tant que denrée alimentaire en soi, et non utilisée comme ingrédient caractéristique de l'aliment, qu'elle ait ou non une valeur nutritive, et dont l'addition intentionnelle à la denrée alimentaire dans un but technologique ou organoleptique, à une quelconque étape de la fabrication, de la transformation, de la préparation, du traitement, du conditionnement, de l'emballage, du transport ou du stockage de la dite denrée, entraîne ou peut entraîner (directement ou indirectement) son incorporation ou celle de ses dérivés dans la denrée ou peut affecter d'une autre façon les caractéristiques de la dite denrée (**Aboiron et Hameury, 2004**).

L'expression ne s'applique ni aux contaminants, ni aux substances ajoutées aux denrées alimentaires dans le but d'en maintenir ou améliorer les propriétés nutritives, ou au Chlorure de sodium.

Quand un additif alimentaire est autorisé, celui-ci bénéficie d'un code qui se compose de la lettre "E" suivie d'un numéro permettant d'identifier la catégorie autorisée au niveau européen (CODEX STAN 107-1981).

Les additifs modernes permettent de répondre aux besoins des industriels qui veulent produire en grande quantité, stocker sur de longues périodes sans que le produit ne s'altère, ou améliorer la texture, l'aspect, le goût des produits alimentaires et les rendre ainsi conformes aux exigences des consommateurs (**Chevallier, 2007**).

I.3. Classification des additifs alimentaires

Les additifs alimentaires sont classés dans des catégories fonctionnelles en considérant les propriétés principales d'utilisation.

I. Les Additifs Alimentaires

Ce type de classement a été choisi en France, à la Communauté économique européenne (CEE) et au Codex Alimentarius (**Souverain, 1992**).

Les additifs alimentaires sont classés selon la directive n°89/107 du 21.12.1988 de la CEE en 24 catégories (**tableau 1**).

La numérotation de chaque substance sera précédée d'un numéro (E..., la lettre E suivi de 3 ou 4 chiffres) si un tel numéro lui a été attribué. La commission de Codex Alimentarius (CL 1988/52-FAC Novembre 1988) établit la liste des additifs dans un ordre numérique, avec le numéro attribué à chaque substance et l'indication de la fonction technologique de celle-ci.

Tableau 1 : Classement des additifs selon le cadre de la CEE et du Codex Alimentarius

Classement des additifs selon le cadre de la CEE	Classement des additifs selon le cadre du Codex Alimentarius
1. Colorant	1. Correcteur d'acidité et du pH (tamponnant)
2. Conservateur	2. Antiagglomérant (desséchant, antiadhérant), 3. Antimoussant,
3. Antioxygène	4. Antioxygène (et synergiste d'antioxydation), 5. Agent de charge,
4. Emulsifiant	6. Edulcorant,
5. Sel de fonte	7. Colorant (et adjuvants de coloration),
6. Epaisissant	8. Stabilisateur de couleur,
7. Gélifiant	9. Emulsifiant (plastifiant, dispersant, surfactif), 10. Sel de fonte (émulsifiant pour fromage seulement),
8. Stabilisant	11. Exhausteur de goût,
9. Exhausteur de goût	12. Agent de traitement de farine (conditionneur de pâte),
10. Acidifiant	13. Gélifiant,
11. Correcteur d'acidité (et de pH)	14. Agent de glisse (d'enrobage, lustrage,
12. Antiagglomérant	
13. Amidon modifié	
14. Edulcorant	
15. Poudre à lever	
16. Anti moussant	
17. Agent d'enrobage (et de glisse)	

I. Les Additifs Alimentaires

18. Agent de traitement de la farine	vernissage),
19. Affermissant	15. Conservateur (antimicrobien),
20. Humectant	16. Gaz propulseur (et gaz pour le stockage, emballage),
21. Séquestrant	17. Stabilisant (liant, séquestrant, ajusteur de densité),
22. Enzyme	18. Epaississant (agent de texture, gonflant),
23. Agent de charge	19. Poudre à lever,
24. Gaz propulseur et gaz d'emballage	20. Agent moussant
	21. Humectant (mouillant, rétenteur d'humidité)

I.4. Les Conservateurs

L'industrie alimentaire dispose d'une vaste gamme de procédés chimiques de conservation. Il s'agit en principe, de substances capables de retarder ou d'arrêter la fermentation, l'acidification des aliments en inhibant la prolifération de micro-organismes (conservateurs proprement dites) ou d'empêcher des réactions chimiques dues à la présence d'oxygène (antioxydants) (SPE, 1987).

D'après le règlement n°1333 / 2008 de l'E.F.S.A. (Autorité Européenne de Sécurité des Aliments), l'additif alimentaire nommé conservateur, est un élément chimique qui allonge la période de conservation des aliments en les défendant des altérations dues uniquement au facteur biologique (bactérie et champignon) et les immunise contre le développement de toxines.

Lorsqu'un nouveau conservateur veut être intégré dans un produit alimentaire, c'est l'E.F.S.A. qui donne son feu vert à la suite d'études de toxicité sur des animaux et sur des humains. Lorsque ce conservateur répond aux normes européennes, il est répertorié en annexe II n°1129 / 2011 et en annexe III n°1130 / 2011 du règlement européen sur les additifs alimentaires n°1333 / 2008. Un numéro unique lui est alors attribué commençant par la lettre « E » suivi de trois chiffres dont la centaine commence par le « 2 ». Enfin, suite au rapport de l'enquête, une D.J.A. (Dose Journalière Admissible) lui est attaché

I. Les Additifs Alimentaires

I.4.1. Agents conservateurs (Antibactériens)

La multiplication des micro-organismes dans les produits alimentaires entraîne des modifications indésirables de ces produits et les rend impropres à la consommation par altération du goût, de l'aspect et de l'odeur, sans forcément de risque sanitaire (**Oudiot, 1999**).

Certains micro-organismes sont très dangereux (Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella) de point de vue sanitaire et peuvent causer des troubles graves chez le consommateur, qualifiés habituellement d'intoxications. Ces germes strictement pathogènes sont dangereux même en faible quantité et en l'absence de développement ou de dégradation induite dans l'aliment (**Bousbia, 2004**).

Les principaux traitements appliqués aux produits alimentaires pour les conserver de ces germes sont classés en traitements d'élimination, de destruction et de stabilisation (**Guiraud, 2003**).

Un additif conservateur est défini comme étant une substance non consommée normalement en tant que denrée alimentaire, que l'on incorpore à un aliment en vue d'accroître sa sécurité et sa stabilité microbiologique. Il faut signaler que le terme additif ne s'applique qu'à des substances utilisées à dose faibles, en principe moins de 1% (**Bourgeois, 1992**). Il existe deux types de conservateurs :

- Les agents conservateurs minéraux figurent les chlorures et les phosphates, les nitrates, les nitrites, les anhydres sulfureux et les sulfites, les anhydres carboniques et les bicarbonates et le peroxyde d'hydrogène.
- Les agents conservateurs organiques (acides organiques) ont un effet conservateur primaire (acide acétique, propionique, formique, sorbique, benzoïque, etc.) et un effet secondaire (acide citrique, tartrique, lactique, ascorbique, etc.) (**Oudiot, 1992**).

I.4.2. Mécanismes d'action des conservateurs

On distingue deux mécanismes d'action, suivant le type de conservateur antimicrobien utilisé :

- Les conservateurs bactéricides tuent directement les bactéries ; c'est une action dite irréversible.
- Les conservateurs bactériostatiques inhibent la multiplication des bactéries ; c'est une action dite réversible car ils ne tuent pas les microorganismes.

I. Les Additifs Alimentaires

Les conservateurs agissent sur les microorganismes de façon différente selon le conservateur considéré, à un niveau bien déterminé de la structure ou du métabolisme du microorganisme, appelé site d'action ou cible du conservateur. L'action peut se situer au niveau de la paroi bactérienne, des membranes, au niveau ribosomal, sur la synthèse des protéines, ou au niveau des acides nucléiques et des enzymes associées (**Martini et al., 1999**).

Les mélanges de conservateurs présentent de nombreux avantages comme la possibilité de diminuer la concentration de chaque éléments et par là, même les éventuelles effets secondaires, et augmenter l'efficacité par synergie (**F.B., 1996**).

I.4.3. Qualité requise d'un conservateur

Aucun conservateur ne remplit tous les critères d'un système idéal. En pratique, des associations de conservateurs sont utilisées. Si le conservateur idéal existait il devrait présenter les critères suivants (**Denil et Lannoye, 2001**) :

I.4.3.1. Innocuité

Le conservateur doit être dénué de tout effet toxique à la concentration utilisée pour la conservation, à court et à long terme. En pratique, les conservateurs les plus efficaces sont souvent les plus toxiques.

I.4.3.2. Spectre d'activité

Le conservateur doit présenter un large spectre d'activité, il doit être actif sur les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif, les levures et les moisissures. De plus, un haut niveau d'activité est demandé aux concentrations les plus faibles possibles, aussi bien pour diminuer la toxicité que le coût.

I.4.3.3. Efficacité

à long terme Les conservateurs devraient maintenir leur efficacité durant toute la vie du produit. Ils doivent présenter une activité constante dans le temps. De plus, ils ne doivent pas être dégradés, évitant ainsi le risque de produire des métabolites pouvant modifier les caractéristiques du produit, ou bien néfaste à la santé du consommateur. (**Denil et Lannoye ; 2001**).

I. Les Additifs Alimentaires

I.4.4. Problèmes liés à certains conservateurs alimentaires

Les conservateurs constituent un thème récurrent d'interrogation et de débats. Chaque fois que ce thème est abordé, de nombreux consommateurs associent ces substances à des produits chimiques dangereux. Présents dans les aliments, les produits cosmétiques ou les médicaments, les conservateurs sont omniprésents, la plupart des additifs sont aujourd'hui considérés comme inoffensifs, d'autres sont plutôt douteux, voire même dangereux selon des rapports d'études (Marie-Laure Andre, 2013).

I.4.5. Quelques agents conservateurs minéraux

➤ Les nitrates et nitrites

NaNO_3 (E251, nitrate de sodium), NaNO_2 (E250, nitrite de sodium), KNO_3 (E252, nitrate de potassium) et KNO_2 (E249, nitrite de potassium), sont les premiers accusés car ils peuvent former dans notre organisme des nitrosamines dont certaines sont cancérigènes par combinaison aux protéines alimentaires (Binstock, 1998)

➤ Les Sulfites

Na_2SO_3 (E221, sulfite de sodium), $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (E224, disulfite de potassium), CaSO_3 (E226, sulfite de calcium) ce sont des conservateurs présents dans la plus part des produits alimentaires, ils sont susceptibles de provoquer des allergies et ils font partie des 13 allergènes à déclaration obligatoire lorsque leur concentration atteint 10 mg/kg dans le produit alimentaire concerné (ANSES, 2011).

Ils peuvent engendrer des composés mutagènes lorsqu'ils sont associés à d'autres additifs tels que les sorbates, et leur innocuité cancérologique n'est pas encore établie (ANSES, 2011).

Les manifestations allergiques se caractérisent par des éternuements, des démangeaisons, de l'urticaire, des douleurs abdominales et de l'asthme. En cas d'allergie avérée aux sulfites, il convient donc d'éviter tous les aliments contenant cet additif (Marie- Laure Andre, 2013).

➤ L'anhydride sulfureux

SO_2 (E220, anhydride sulfureux), sont rarement utilisés dans la conservation des produits animaux (viandes) où leur rôle serait pour l'essentiel anti botulique (Gouget, 2011)

I. Les Additifs Alimentaires

La prise de conscience du phénomène a permis un abaissement des doses utilisées : Le nombre important de substances où l'emploi de SO₂ est autorisé, fait que le risque semble élevé, surtout chez les enfants présentant les plus fréquentes intolérances (**Andre, 1997**).

I.4.6. Quelques agents conservateurs organiques

Les E210, E211, E212 et E213 sont des conservateurs qui bloquent le développement de certaines levures et moisissures. Ils sont additionnés à plusieurs produits alimentaires pour prolonger leur durée de conservation (**Gouget, 2011**).

Ces substances peuvent être à l'origine de manifestations allergiques cutanées ou respiratoires: asthme, eczéma et éruptions cutanées de type urticaire. Certains auteurs les accusent également de s'accumuler dans l'organisme et de provoquer des troubles neurologiques (**Moll, 2000**).

La présence des benzoates dans de nombreux produits et les facilités avec laquelle la DJA (Dose journalière Admissible) est atteinte, en font un additif particulièrement dangereux pour la santé, notamment pour les enfants (**Gouget, 2011**).

I.5. Les antioxydants

Les graisses alimentaires particulièrement sont exposées à des phénomènes d'oxydation au contact de l'oxygène de l'air. Ce sont des réactions en chaîne qui se déclenchent et s'accroissent sous l'action de la lumière, de la chaleur et de certains métaux (cuivre, fer). Elles conduisent à la formation de composés qui peuvent être nocifs pour l'homme (peroxydes) et à des produits de dégradation d'odeur et de saveur désagréables (rancissement). (**Gounelle et Astier 1980**)

I.5.1. Définition

Les antioxydants sont des substances d'origine soit naturelle, soit synthétique, qui peuvent inactiver des composés initiaux ou intermédiaires de ces réactions d'oxydation, et ainsi éviter la formation des produits finaux nuisibles à la qualité de l'aliment. On distingue ainsi les antioxydants dits primaires, et les antioxydants à activité synergique, n'ayant pas eux-mêmes ce rôle, mais capables de renforcer l'action antioxydante d'autres additifs. On utilise généralement ensemble au moins deux antioxydants (par ex. gallate) ainsi qu'un composé à activité synergique (acide citrique). Les antioxydants présentent un avantage économique face à d'autres méthodes

I. Les Additifs Alimentaires

qui inhibent l'oxydation des matières grasses comme l'emballage sous vide et à l'abri de la lumière, ou le stockage à basse température.

(Gounelle et Astier 1980).

I.5.2. Antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense est constituée de superoxydedismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) **(Lehucher-Michel, 2001).**

I.5.3. Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes **(Dacosta, 2003).**

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, la β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ... etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et Elles ont également une capacité de lier les acides gras libres **(Kohen et Nyska, 2002).**

On peut distinguer les antioxydants d'origine naturelle et ceux d'origine synthétique.

I.5.3.1. Antioxydant d'origine naturelle

Antioxydants d'origine naturelle ce sont principalement l'acide ascorbique ou vitamine C(E 300) que l'on trouve abondamment dans les fruits et légumes, et les tocophérols présents naturellement dans les plantes oléagineuses et les céréales. Ces antioxydants ne sont pas adaptés à certains usages ; ainsi dans l'huile à frire les tocophérols sont inactivés à haute température, et donc inutilisables.

I.5.3.2. Antioxydant d'origine synthétique

I. Les Additifs Alimentaires

Certains Anti oxygènes de synthèse ont des propriétés leur permettant de répondre à ces exigences, ainsi les composés phénoliques suivants :

- les gallates : gallates de propyle, d'octyle et de dodécyle, ont été les premiers antioxydants synthétisés (brevet du propyle gallate comme antioxydant en 1942). Ces antioxydants ont l'inconvénient d'être peu stables à l'humidité, et de colorer en violet les produits contenant des traces de fer, phénomène que l'on atténue par addition d'un agent chélateur comme l'acide citrique ;

- le butylhydroxyanisol (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) n'ont pas ces inconvénients, mais sont éliminés à haute température.

D'autres substances ont une action antioxygène, mais également d'autres fonctions pour lesquelles elles sont principalement employées : anhydride sulfureux (E 220), sulfites (E 221 à 226), et lécithines (E 322). Des additifs sont ajoutés aux aliments afin de renforcer l'action antioxygène d'autres additifs : les principaux sont les acides lactiques (E 270), citrique (E 330) et orthophosphorique (E 338) et leurs sels de calcium, sodium et potassium. (**Gounelle et Astier 1980**).

I.5.4. Activité antioxydante

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxy $\text{ROO}\cdot$, radical alkoxy $\text{RO}\cdot$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Novelli, 1997**).

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ROS). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde $\text{O}_2\cdot^-$, radical hydroxyl $\text{OH}\cdot$, monoxyde d'azote

I. Les Additifs Alimentaires

NO•, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet O₂, peroxyde d'hydrogène H₂O₂, peroxyde d'azote ONOO⁻ (**Favier, 2003**)

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebert et al., 2005**).

I.6. Effet de combinaison des additifs alimentaires

L'effet cocktail des additifs, n'est autre que les risques potentiels liés à l'ingestion simultanée d'additifs dans notre organisme. Plusieurs dizaines d'additifs différents, sont présents dans les aliments transformés industriellement (**Donna, 2007**).

Les effets combinés de ces substances ingérées simultanément sont encore méconnus, si bien que la réglementation actuelle n'en tient pas compte pour fixer les doses maximales d'incorporation des additifs dans les produits alimentaires.

Certains additifs peuvent être inoffensifs lorsqu'ils sont consommés isolément, et toxiques lorsqu'ils sont combinés à d'autres molécules. Dans d'autres cas, un additif dont la nocivité pour la santé est avérée pourrait bien augmenter sa toxicité lorsqu'il est absorbé avec d'autres substances (**Hubert, 1997**).

Une équipe de chercheurs britanniques en 2007 a démontré les effets néfastes des combinaisons d'une catégorie de conservateurs (les benzoates) avec les colorants de synthèse sur le comportement des enfants. Ces combinaisons sont susceptibles de provoquer des troubles de déficit de l'attention chez les enfants et hyperactivité.

Les sorbates, conservateurs très utilisés en industrie agroalimentaire, sont susceptibles de réagir avec d'autres additifs. D'après une étude publiée en 1998, ils pourraient réagir avec les nitrites et nitrates ; la combinaison de ces molécules perturbe les systèmes enzymatiques et peut aboutir à la formation de composés mutagènes (risque d'altération de L'ADN). Des spécialistes mettent en garde les femmes enceintes car cette association pourrait provoquer des malformations congénitales.

I. Les Additifs Alimentaires

En 2005, une équipe de chercheurs britanniques a publié les résultats d'une étude menée sur trois ans, portant sur les interactions de quatre additifs alimentaires. Ils ont d'abord étudié les effets isolés de E 951 (aspartame), du E621 (glutamates de sodium) et de deux colorants, les E104 (jaune de quinoléine) et le E133 (bleu brillant), puis les effets des combinaisons du glutamate avec le bleu brillant et ceux de l'aspartame avec le jaune de quinoléine sur les cellules nerveuses de souris de laboratoire (**Gouget, 2011**).

Les résultats ont montrés que ces quatre additifs sont de puissants inhibiteurs de la croissance des cellules nerveuses mais, surtout, que ces substances, une fois combinées, décuplent leur toxicité sur les cellules nerveuses: E133+E1621:toxicité multipliée par 4 et E104+E451:toxicité multipliée par 7. Cette étude montre que la toxicité des substances combinées n'est pas simplement le résultat de la somme additionnelle des toxicités individuelles des molécules, mais bien une multiplication des toxicités (**Brunellere, 2010**).

Afin de réduire les pertes économiques et contrer les maladies d'origine alimentaires, il est donc possible de trouver des alternatives à l'usage d'additifs synthétiques qui ne sont pas exempt de problème de santé.

Le monde scientifique s'efforce d'élargir l'éventail des systèmes antimicrobiens applicables en industrie. On étudie de nouveaux agents de conservation, avec un net penchant pour les antimicrobiens dits « biologiques », tels que les huiles essentielles, connus à la fois par leurs propriétés aromatisantes et antimicrobienne et leur toxicité réduites comparées à celle des additifs alimentaires chimiques, ainsi que leur large spectre d'activité en réduisant l'apparition de résistance bactérienne (**Dorman et al., 2000**).

Chapitre II. Le thym

II. Le Thym

II. Le thym

II.1. Description et utilisations de thym

Le thym provient du grec thumon qui signifie « offrande (que l'on brûle) » et « parfum », à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Rey, 1992).

Le thym est un sous-arbrisseau à tiges ligneuses, érigées ou rampantes, appartenant à la famille des labiées (Quézel et Santa, 1963). Ses tiges carrées, dressées sont courtes et velues, de couleur blanchâtre. Ses petites feuilles vertes foncé de 4-10 mm de long, de forme elliptique à oblongue et à tige courte, sont cotonneuses et grisâtres en dessous et lisses dessus, elles sont légèrement enroulées sur les bords. La plante toute entière a une odeur aromatique, la floraison à lieu de juin à septembre. Ses jolies fleurs sont de couleur violacée à rose foncé et sont très appréciées des abeilles (Ursula et al., 2008).

Le *Thymus algeriensis* est une espèce à feuilles florales peu différentes des feuilles caulinaires, peu dilatées. Fleurs de 5 à 6 mm. Il pousse dans toutes les régions montagneuses. La longueur peut dépasser les 10 cm (Quezel et Santa, 1963).

Le thym a pris une très grande importance dans la médecine, pour lutter contre les affections des voies respiratoires et fortifier le corps. Il a aussi des propriétés bénéfiques contre les troubles de l'estomac et de l'intestin, contre les douleurs occasionnées par la goutte et les rhumatismes ainsi que contre la toux, les inflammations de la gorge, les infections (Ursula et al., 2008).

Dans les soins cosmétiques, le thym est utilisé frais ou séché pour les bains de vapeur faciaux et pour les nettoyages de peau (Ursula et al., 2008). Cette plante aromatique très odorante, utilisée dans la cuisine Algérienne comme aromate et condiment (Djerroumi et Nacef, 2004).

II.2. Répartition géographique du thym

Le thym est une espèce endémique de l'Afrique du Nord (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye) (Benkiniouar et al., 2007). Elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et l'Arabie de sud-ouest en passant par la péninsule de Sinaï en Egypte (Mebarki, 2010). Elle est cultivée aussi dans le nord de la France, l'Europe centrale, Afrique orientale et l'Amérique du nord...etc. (Wichtl et Anton, 2003).

I. Les Additifs Alimentaires

II.3. Classification botanique

La famille des lamiacées connue également sous le nom des labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin. Elle est divisée en deux principales sous-familles: les Stachyoideae et les Ocimoideae. Les lamiacées sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses. Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal. Entre autres, un grand nombre de genres de la famille des Lamiaceae sont des sources de terpénoïdes, flavonoïdes et iridodiosglycosylés. (**Botineau, 2010**).

II.4. Les bienfaits du thym

Grâce à leurs composés actifs, les antioxydants permettent de lutter contre les radicaux libres. Véritable capital santé, ils aideraient nos cellules à vieillir moins vite et protégeraient notre organisme des maladies cardiovasculaires, inflammatoires et des cancers.

II.5. Usage traditionnelle

Le thym est utilisé en cas d'encombrement des voies respiratoires supérieures et dans les Symptômes de bronchite.

L'utilité du thym pour le traitement de l'inflammation a été confirmée, notamment pour le traitement de l'inflammation des muqueuses de la bouche et des gencives.

En raison de sa saveur aromatique, le thym provoque une stimulation reflexe des sécrétions salivaire, gastrique et biliaire. Il est ainsi utilisé pour ses propriétés régulatrices de l'appétit et comme stimulant digestif (**Teuscher et al., 2005**).

II.6. Propriétés du thym

Le thym est souvent utilisé dans Assaisonnement des aliments et des boissons ; et aussi Antiseptique, et comme désinfectant dermique et c'est un spasmolytique bronchique dont il est Indiquée pour traiter les infections des voies respiratoire supérieur. Les principaux constituants du thym montrent également des propriété vermifuges et vermicide (**BENMADI Z, 2018**)

En résumé ces plus grandes propriété sont :

I. Les Additifs Alimentaires

- Assaisonnement des boissons et des aliments ;
- Désinfectant dermique, Antiseptique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures ;
- Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermicide et vermifuges.
- Propriétés antifongiques, antivirales, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose).
- Propriétés antioxydantes en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons durant leur stockage

II.7. Rôle conservateur du thym

L'antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle se présente en concentration très faible dans le milieu où elle intervient **(Sies, 1993)**. L'oxydation est un mécanisme qui se produit non seulement au cours de l'élaboration des huiles mais également à l'intérieur de l'organisme humain par des réactions qui provoquent la formation des radicaux libres (agent peroxydant) **(C.O.I., 2011)**.

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols **(Bouhadjra, 2011)**.

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui sont largement distribués dans le règne végétal **(Harbone, 1994)**.

Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement.

I. Les Additifs Alimentaires

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques auxquels sont directement liés un ou plusieurs groupement hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction (éther, ester) (**Bruneton, 1999**).

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel, D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (**Macheix et al., 2005**).

Les polyphénols sont les composés les plus abondants des feuilles du thym, mais leur proportion varie de 20 à 36 % selon leur maturité (**Kreips, 2009**).

Ils jouent le rôle d'un agent conservateur qui limite au maximum la prolifération bactérienne, il permet de garder la fraîcheur des aliments et d'augmenter leur durée de vie tout en limitant les détériorations causées par l'oxydation, il évite également la détérioration de la couleur des fruits et légumes.

II.7.1. Méthodes d'extraction des composés phénoliques

II.7.1.1. Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper dans le but d'extraire leurs principes médicinaux. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes: fleurs, feuilles, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles (**Calsamiglia, et al, 2007**).

II.7.1.2. Décoction

I. Les Additifs Alimentaires

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dure ou très dure : bois, racines, écorce ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales (**Hurtado, et al, 2010**).

II.7.1.3.Macération

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude. Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition(**H.Li ,Z, 2011**).

II.7.1.4.Distillation

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles. Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et Ibn Sina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolats, sont obtenues par distillation de la plante (feuilles, tiges...), alors que les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs(**R.Ksouri, et al, 2007**).

Chapitre III.

Le yaourt

III. Le yaourt

III. Le yaourt

III.1. Histoire et origine du yaourt

Le yaourt ne serait pas originaire de la Bulgarie, comme on peut souvent l'entendre, mais d'Asie centrale. L'origine du mot "yaourt" se retrouve d'ailleurs dans le mot turc « yogurmark », qui signifie « épaissir » (TAMIME et DEETH, 1980).

En 1902, deux médecins français, Rist et Khoury, isolent les bactéries présentes dans un lait fermenté égyptien ; Elie Metchnikoff isole ensuite une bactérie spécifique du yaourt «le bacille bulgare » (ROUSSEAU, 2005).

En 1919 qu'IssacCarasso commence à produire du yaourt à Barcelone selon des procédés industriels (PELLETIERS et al., 2007). Le yaourt dit « nature » constituait l'essentiel de laits fermentés, mais à partir des années 1970 sont apparus les produits sucrés puis aromatisés et aux fruits.

III.2. Définition du yaourt

Selon le Codex Alimentarius et la FAO (Food and Agriculture Organization ,1975), Le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par la fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* à partir du lait (pasteurisé, 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 bactéries dans le produit fini doivent être viables et abondantes. La FIL (Fédération International de la Laiterie) fixe la quantité de ferment vivant, égale à 10^7 bactéries par gramme jusqu'à la date limite de consommation. Ces produits doivent notamment être maintenus jusqu'à leur consommation à une température comprise entre 0 et 6°C.

III.3 Matières utilisées pour la production du yaourt

III.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 protides). C'est aussi l'un des rares à convenir à toutes les tranches d'âge (nourrissons, enfants, adolescents, adultes,

III. Le yaourt

personnes âgées) qui le consomment tel quel à l'état liquide (lait frais) ou sous forme de produits dérivés (fromages, yaourts, crèmes glacées...etc). Avec une valeur énergétique de l'ordre de 700Kcal/l, le lait de plusieurs espèces animales constitue une source importante et relativement bon marché d'apport quotidien en acides aminés et acides gras essentiels ainsi qu'en calcium alimentaire. Le lait est aussi riche en d'autres sels minéraux (notamment phosphore et magnésium) et en vitamines du groupe B (B1, B2, B5 et B12) et en vitamine A.

Pour répondre à ces besoins, le lait bovin est le plus utilisé dans le monde et dans notre pays. Les espèces voisines (ovin, caprin, camelin) représentent un pourcentage de production relativement faibles, n'excédant pas 10% (**BOUBCHIR-LADJ, 2014**).

III.3.2. Les bactéries caractéristiques du yaourt

Streptococcus thermophilus St. thermophilus est un cocci Gram positif, anaérobie facultative, non mobile.

On le trouve dans les laits fermentés et les fromages (**DELLAGLIO et al, 1993 ; ROUSSEL et al,1994**). C'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistante, sensible 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 St. Thermophilus est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés. Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose) (**BERGAMAIER, 2002**).

La croissance et l'acidification des bactéries lactiques sont fortement influencées par des facteurs physiques, chimiques et microbiologiques. En outre les effets de ces facteurs peuvent interagir ensemble sur leur activité métabolique.

III.3.2.1 Facteurs physiques

III. Le yaourt

- La température est le premier facteur considérable pour le développement des bactéries lactiques. Elle agit sur les vitesses des réactions chimiques et biochimiques. Elle doit être aux alentours de 30° pour bactéries mésophiles et de 42° pour les espèces thermophiles.
- L'activité de l'eau est liée à la présence de sels ou de sucres. Lorsqu'elle diminue la quantité d'eau libre décroît et la disponibilité des nutriments est affectée. Concernant les laits fermentés seule la présence de saccharose (cas des yaourts sucrés) peut diminuer cette activité c'est le cas lorsque cette dernière devient inférieure à 0,99 correspondant à une concentration en saccharose de 10% l'activité métabolique des bactéries est affectée (**Tamime et Robinson, 1985**)

III.3.2.2. Facteurs chimiques

La qualité du lait est un facteur d'influence prépondérante pour le développement des bactéries lactiques. Si les teneurs initiales en lactose et en sels minéraux sont suffisantes dans le lait, ce n'est pas le cas de la fraction azotée libre (acides aminés et oligopeptides). La limitation en certaines molécules peut constituer un frein à la croissance.

Le traitement thermique subi par le lait avant l'étape de fermentation va agir favorablement sur le métabolisme des bactéries. En effet, outre son rôle principal de destruction des micro-organismes indésirables et pathogènes (**Boudier, 1990**), il permet de détruire les principales substances antibactériennes naturellement présentes dans le lait (**Farkye et Imafidon, 1995**). De plus, il génère de faibles quantités d'acide formique à partir du lactose, ce qui stimulera la croissance des lactobacilles (**Loones, 1994**). Enfin, il contribue à l'augmentation de la teneur du lait en petits peptides et en acides aminés libres.

III.3.2.3. Facteurs microbiologiques

Le taux d'ensemencement du lait avec les bactéries lactiques influence fortement sa transformation. Plus il est élevé, plus rapide est la fermentation. Généralement, ce taux se situe autour de 10^6 UFC/ml pour simultanément obtenir des durées de fabrication courtes et limiter le coût d'achat des ferments. Pour un ensemencement direct cela correspond à un taux d'inoculation compris entre 2,5g et 70g pour 100L de lait selon l'espèce bactérienne considérée (**Beal et Corrieu, 1991**)

III. Le yaourt

Les équilibres de population agissent également sur les cinétiques microbiennes. Ainsi dans le cas de la fabrication du yaourt la durée de la fermentation varie selon la valeur initiale du rapport entre streptocoques et lactobacilles, même si en fin de culture les streptocoques sont toujours majoritaires. Pour le yaourt la proportion entre streptocoques et lactobacilles habituellement préconisée est de 1 :1 mais elle dépend fortement des souches en présence (**Beal et Corrieu, 1991**)

III.4. Fabrication du yaourt

III.4.1. Traitement thermique

Le lait subit un traitement thermique. Le barème de traitement thermique le plus couramment utilisé est de 90-95°C pendant 3 à 5 min. Ce traitement a de multiples effets sur la flore microbienne ainsi que sur les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles du lait. Tout d'abord, il crée des conditions favorables aux développements des bactéries lactiques. Il détruit les germes pathogènes et indésirables et inactifs des inhibiteurs de croissance (**Pacikora, 2004**).

III.4.2. Ensemencement et fermentation

La fermentation qui transforme le lait liquide en un produit épaissi et acidifié le lactose, sucre naturellement présent dans le lait, est le substrat que les bactéries lactiques utilisent comme nutriment principal, L'acide lactique résultant de cette fermentation diminue le pH du lait, entraînant des modifications de conformation des protéines laitières et leur précipitation, et donc la texturisation et l'épaississement du lait. Pour les yaourts dits « fermes », la fermentation a lieu directement dans le pot. Pour les yaourts dits « brassés », la fermentation a lieu en cuve après ensemencement du lait par le starter .Puis, lorsque la coagulation a eu lieu, on procède au décaillage par pompage du gel, complété par une filtration permettant un lissage du caillé (**Bourlioux et al., 2011**).

III.4.3. Refroidissement et conditionnement

Le yaourt est refroidi généralement en chambre froide puis stocké à 4-6°C. Cette température est maintenue jusqu'au rayon du distributeur. Les yaourts retiennent généralement une date limite de consommation de 30 jours(**Bourlioux et al., 2011**). En fonction de la technologie de fabrication, les yaourts sont divisés en deux groupes :

III. Le yaourt

- yaourts fermes, dont la fermentation a lieu en pots. Ce sont généralement des yaourts type nature ou aromatisé.
yaourts brassés, dont la fermentation a lieu en cuve avant le conditionnement. Ce sont généralement des yaourts brassés type nature ou aux fruits.

III.5.Types de yaourt

Il existe deux types de yaourts :

- ❖ Yaourt fermes, dont la fermentation a lieu en pots : ce sont généralement les yaourts nature et aromatisés.
- ❖ Yaourt brassés, dont la fermentation a lieu en cuve avant brassage et conditionnement : c'est le cas des yaourts veloutés nature ou aux fruits.

La fabrication de ces deux types de yaourts peut être réalisée soit à partir de lait entier, soit à partir de lait partiellement ou totalement écrémé (3.5% ; 1.0% ; 0.0% de Mg) (**Belkadi et Belmaaziz, 2015**).

III. Le yaourt

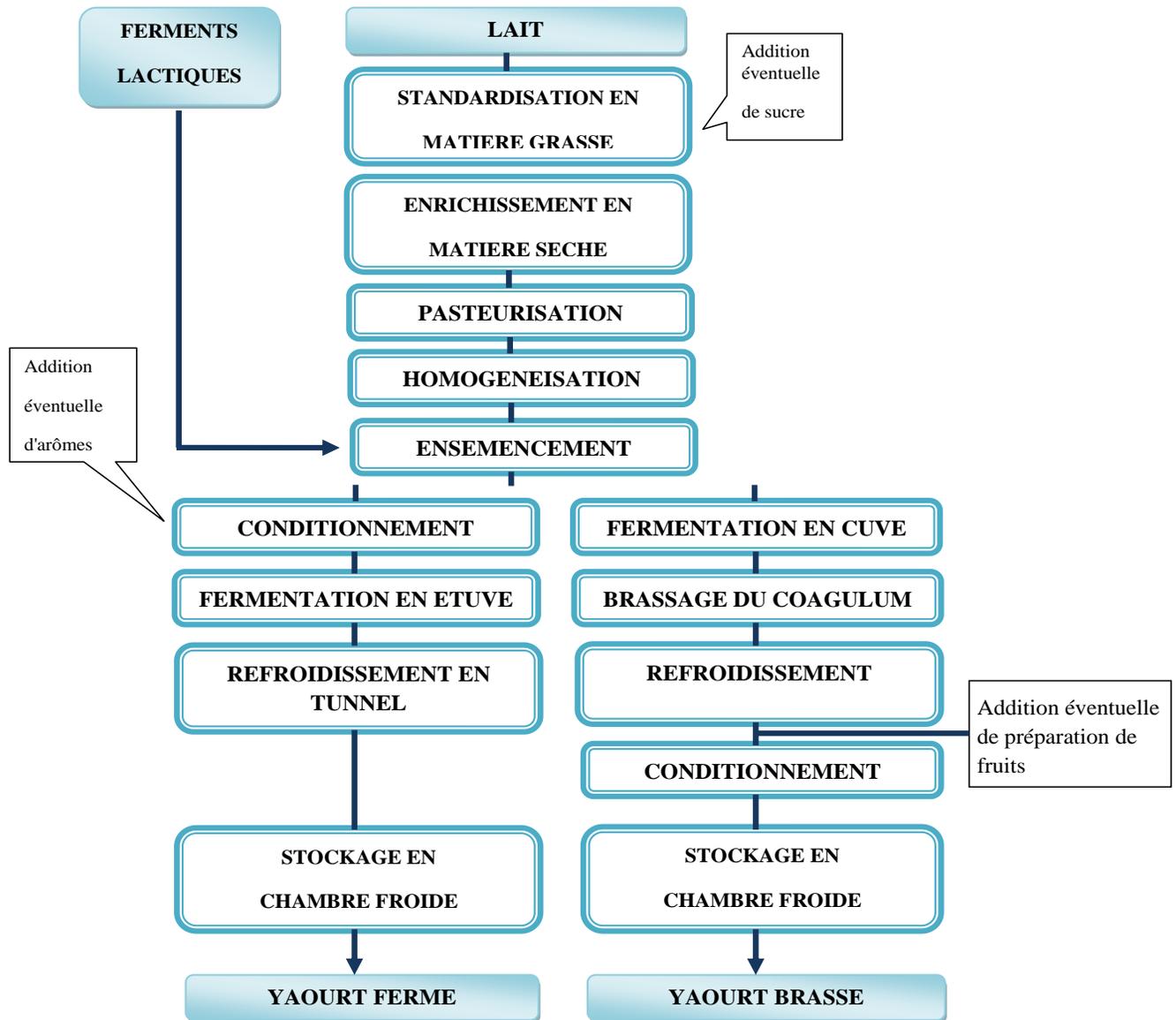


Figure 01 : Schéma de fabrication des yaourts ferme et brassé (Bourlioux, et al., 2011)

III.6. Différent type de yaourt

Le yaourt se diffère selon plusieurs critères : selon la technologie de fabrication, la teneur en matière grasse, les ingrédients additionnés.

III.6.1. Selon la technologie de fabrication

- Les yaourts fermes dont la fermentation a eu lieu en pots, se sont généralement les yaourts nature et aromatisé.

III. Le yaourt

- Le yaourt brassé dont la fermentation a eu lieu en cuve avant brassage et conditionnement. c'est le cas de yaourt veloutés nature ou aux fruits (**Mahaut et al, 2000**).

III.6.2.Selon la teneur en matière grasse

- yaourt entier : 3% de matière grasse en poids.
- yaourt partiellement écrémé : moins de 3% et plus de 0.5%de matière grasse.
- yaourt écrémé : au maximum 0.5% de matière grasse (**Gosta;1995**).

III.6.3.Selon les ingrédients additionnés

- Yaourt aromatisé : addition d'arôme.
- Yaourt fruité : addition de fruit.
- Yaourt light : addition d'édulcorant (**Mahaut et al, 2000**).

III.7. Intérêts nutritionnel et thérapeutiques du yaourt

III.7.1 Valeur nutritionnelle

Les yaourts bénéficient d'une image forte et possèdent des qualités nutritionnelles reconnues. Riches en calcium, en vitamine D et B et en acides aminés indispensables, ils renferment des ferments lactiques de plus en plus nombreux et variés, dont l'effet positif sur la microflore intestinale est maintenant largement reconnu. Les valeurs sont présentées dans le (tableau 2).

Tableau 2: Composition nutritionnelle du yaourt (**Syndifrais, 1997**)

Composants	Teneurs (/100g)
Apport calorique	De 42 à 115 Kcals
Eau	80-90 g

III. Le yaourt

Glucides	4 à 18 g
Protéines	4,3 g
Lipides	0 à 3,5 g
Calcium	150 mg

III.7.2 Effets thérapeutiques

- **Effet probiotique**

L'effet « probiotique » est l'amélioration des performances zootechniques (effet positif sur la croissance, sur la diminution des diarrhées ...). Il dépend de la sélection des souches, de la quantité et de la durée d'administration des bactéries lactiques vivantes (**Syndifrais, 1997**).

- **Effet sur le transit**

L'administration de laits fermentés, dont le yaourt, tend à rétablir un équilibre bactérien favorable à la normalisation du transit digestif (**Syndifrais, 1997**).

- **Activité antimicrobienne**

Le yaourt a un rôle préventif contre les infections gastro-intestinales. L'intérêt du yaourt dans le traitement des diarrhées infantiles. En dehors de l'acide lactique, les bactéries du yaourt produisent des substances antimicrobiennes et des probiotiques, notamment des oligosaccharides (**Jeantet et al., 2008**).

Partie

Expérimental

Matériel et méthodes

I. Activité antioxydante

I.1. Matériel végétale

L'extrait testé a été obtenu à partir des feuilles de *Thymus numidicus* Poiret qui a été récolté dans la région de Biskra.

La plante, fraîchement récoltée en mois de Janvier 2019, a été lavée et laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Après séchage, les parties aériennes ont été broyées et stockées soigneusement dans des récipients opaques en vue d'une utilisation antérieure (Cartier et Roux, 2007).

I.2. Obtention de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux a été obtenu selon la méthode décrites par Nshimiyimana et He (2010).

Le principe de cette méthode est de mettre la matière végétale broyée dans l'eau distillée chaude pour extraire les principes actifs (composés phénoliques) (figure 02).

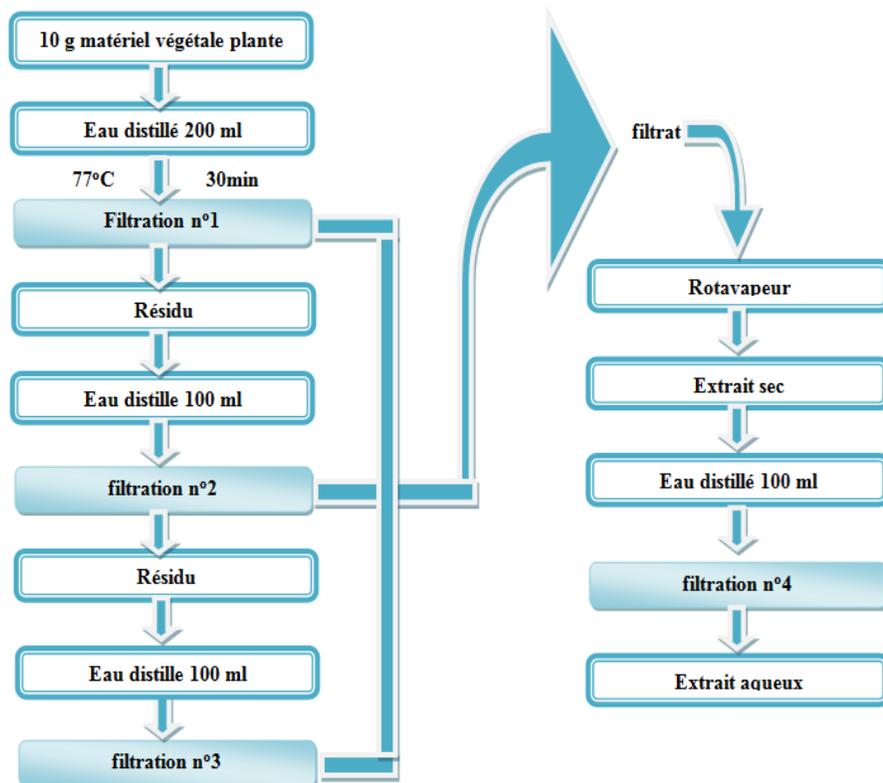


Figure 02 : Extraction aqueuse

I.3. Calcul du rendement

Le processus d'extraction a été répété trois fois pour cette plante.

Le résultat obtenu de cet extrait sec a été calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Taux d'extraction} = \frac{(P-P_0)}{\text{poids de poudre}} \times 100$$

Où :

P₀ : poids du ballon vide.

P : poids du ballon après évaporation du solvant.

I.4. Evaluation de l'activité anti oxydante de l'extraits

I.4.1.Principe

Cette méthode est basée, sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH).

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm, la couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire entraînant ainsi une décoloration en jaune quand il est réduit par un donneur de proton H⁺. (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présent dans le milieu à donner de protons) (Sanchez-Moreno, 2002).



Où AH est un composé capable de céder un H⁺ au radical DPPH. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires (Molyneux, 2004).

I.4.2. Protocole expérimentale

Afin d'étudier l'activité anti radicalaire des différents extraits, la méthode basée sur le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par Sanchez-Moreno (Sanchez-Moreno, 2002) a été utilisée. Brièvement, la solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 50 µl des solutions des extraits ou de standard (acide ascorbique) ont été ajoutés à

Matériel et Méthodes

1,96 ml de DPPH. Les mélanges ont été incubés dans l'obscurité pendant 30 minutes et la décoloration comparée au contrôle négative contenant seulement la solution de DPPH a été mesurée à 517 nanomètres en utilisant un spectrophotomètre. L'activité de radical de DPPH a été calculée comme suit :

$$\%(\text{AA}) = [(\text{A517 control} - \text{A517 échantillon})/\text{A517 control}] \times 100$$

Sachant que :

Le control A517 : est l'absorbance de la réaction de control (contenant tous les réactifs excepté l'échantillon d'essai),

L'échantillon A517 : est l'absorbance des extraits ou de la référence.

II. Incorporation de l'extrait aqueux au yaourt

II.1. Préparation du yaourt brassé

Le yaourt brassé a été fabriqué à partir du lait cru de vache entier d'une ferme rurale située à Bekaria (Tébessa). La traite a été effectuée manuellement et a eu lieu le 20 Février 2019. La méthode décrite par **Espirito Santo *et al.* (2010)** a été adoptée pour la préparation du yaourt brassé avec quelques modifications. Elle a été résumée dans la (figure 03).

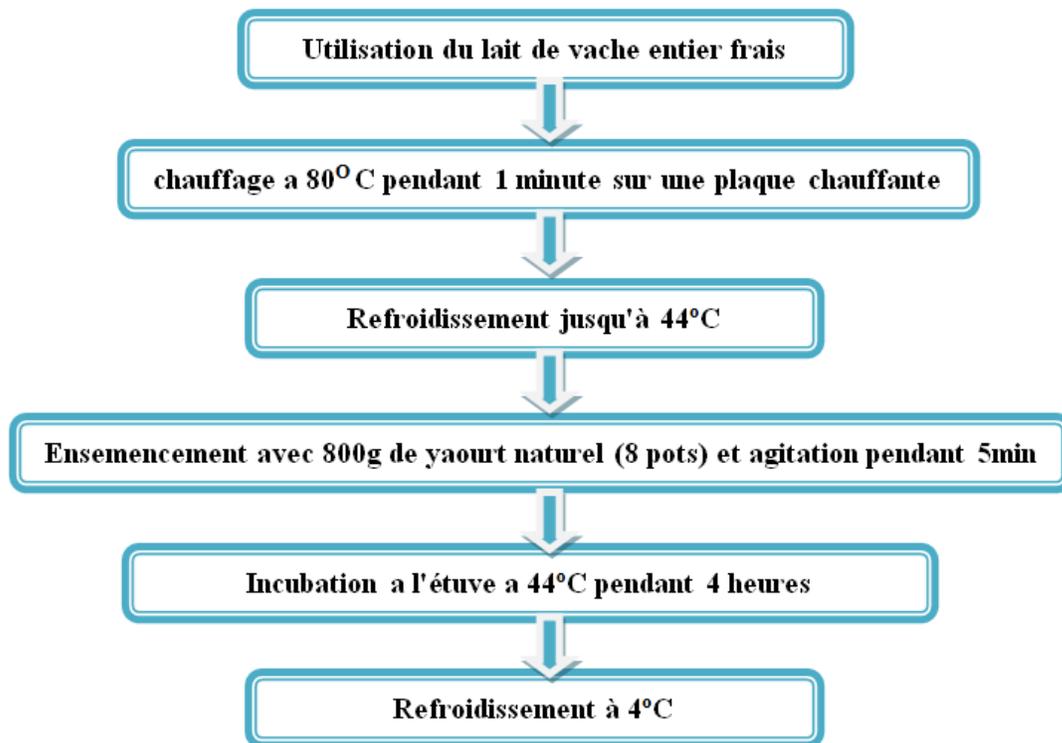


Figure 03 : Diagramme de fabrication du yaourt brassé (Espirito Santo *et al.*, 2010)

II.2. Incorporation de l'extrait aqueux

Après refroidissement du yaourt préparé, il a été divisé en deux lots, l'un a été laissé nature (témoin) et l'autre a reçu l'extrait aqueux.

L'ajout de l'extrait aqueux a été effectué dans des conditions stériles. Il a été incorporé au yaourt à une concentration de 1ml/kg.

Après brassage, le yaourt a été conditionné dans des pots stériles en plastiques. Les deux lots de yaourt (22 pots témoins et 22 pots incorporés avec l'extrait aqueux) ont été filmés avec du papier film et stockés à 4°C.

III. Détermination de l'effet de l'incorporation de l'extrait aqueux

Les effets de l'incorporation de l'extrait aqueux sur le yaourt ont été évalués par le suivi de l'évolution des paramètres microbiologiques pendant 32 jours à 4°C. Pour cela, des prélèvements à partir des échantillons du yaourt témoin et incorporé avec 1 ml/ kg d'extrait ont été effectués tous les 3 à 4 jours à partir du premier jour de préparation jusqu'aux 32 jours de stockage à 4 °C.

III.1. Analyse microbiologique

Les germes recherchés dans le yaourt sont : flore totale (FTAM), Coliformes totaux, Coliformes fécaux, Staphylocoques, les Levures et les Moisissures.

La solution mère a été réalisé en mélangeant 1ml de yaourt avec 9ml d'eau physiologique, en suite les dilutions ont été effectuées jusqu'à 10^{-3} .

III.1.1. FTAM

La flore mésophile aérobie totale (FTAM), excellent indicateur de contamination, a été dénombrée sur gélose PCA incubée pendant 48 h a 72 h a 37°C (AFNOR, 2003).

III.1.2. Les coliformes

Les coliformes ont été recherchés sur milieu VRBL. Sur ce milieu, les coliformes fermentent le lactose en donnant des colonies d'un diamètre entre 0,5 à 1 mm.

La lecture se fait après 24 h à 48 h d'incubation à 37 C° pour les coliformes totaux et 44 C° pour les coliformes fécaux. Les colonies sont rouges foncées ou violettes (AFNOR, 1996).

III.1.3. Les staphylocoques

Les staphylocoques ont été dénombrés sur la gélose de Baird Parker additionnée de jaune d'œuf et de tellurite de potassium et incubée 48 heures à 37°C.

Les colonies caractéristiques sont noires ou grises brillantes de 1 à 2 mm de diamètre et entourées d'un halo opaque plus ou moins clair (AFNOR, 1994).

III.1.4. Levures et moisissures

Sabouraud fondue et refroidie a été répartie dans des boites de pétri vides. Après solidification, 0,1ml de chaque dilution a été ensemencé en masse. L'incubation a été faite à une température de 25°C pendant 4 à 5 jours.

Le dénombrement a été réalisé chaque jour pour suivre le développement et éviter l'envahissement (NF V 08-059).

III.2. Estimation du shelf life

La limite d'acceptabilité microbienne (MAL) a été estimée par l'ajustement des données expérimentales à l'équation de Gompertz modifiée par Corbo et *al* (2006). Une concentration $\geq 10^5$ UFC / g des levures et moisissures marque la fin de la vie utile du yaourt. Ce niveau de contamination correspond à l'apparition des défauts, des couleurs et des odeurs anormales. (ZANTAR et *al*, 2013).

IV. Traitement statistiques

Les résultats ont été représentés sous forme de moyennes avec leur écart-type (Moy \pm écart-type). Le test de Student a été utilisé pour traiter les résultats. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel statistique Minitab 17.1 et Excel 16.0 (Microsoft, Inc.). Le niveau de signification statistique était fixé à $p < 0,05$.

Résultats

et

Discussion

I. Activité antioxydante de l'extrait aqueux

I.1. Rendement de l'extrait aqueux

Le taux d'extraction aqueuse est de 73%, l'extraction a permis d'obtenir un extrait brut à partir de poudre des feuilles de *thymus numidicus poiret*, le résultat obtenu est supérieur à celui trouvé par (ABBAS, 2016). Le rendement a été remarquablement élevé comparé à celui enregistré par Ramchoun et al. (2012) en enregistrant des rendements de l'ordre 10.00, 7.60, 7.60 et 14.80% pour les extraits aqueux respectivement de *T. satureioides*, *T. zygis* L., *T. atlanticus* et *T. vulgaris* du Maroc.

De leur côté Sokmen et al. (2004) ont constaté un rendement de l'ordre de 13,11% (P/P) en étudiant l'extrait méthanolique de *Thymus spathulifolius* de la Turquie.

I.2. Activité scavenger du radical DPPH

L'activité scavenging du radical DPPH a été évaluée par le spectrophotomètre suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune à 517 nm (Ghazghazi et al., 2013).

Cette méthode est utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de notre plante en comparaison avec l'acide ascorbique.

D'après les résultats obtenus, Le pouvoir réducteur augmente en fonction de la concentration de l'extrait jusqu'à la valeur maximale, il existe donc une proportionnalité entre l'activité anti-radicalaire et la concentration

Résultats et Discussion

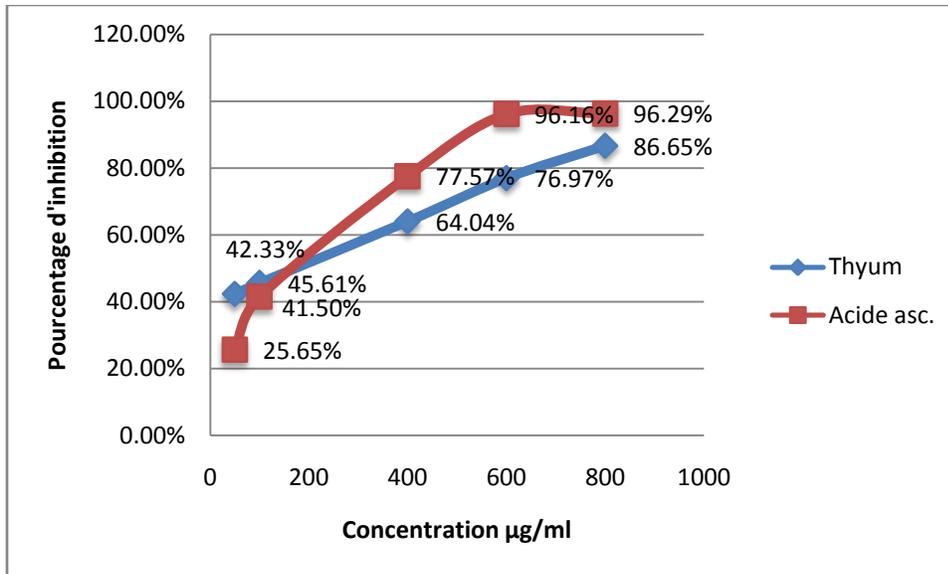


Figure 04 : Effet Scavenger contre le radical DPPH de l'extrait aqueux

Dans cette étude, à partir de la concentration de 800µg/ml, la plante présente des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH élevés. L'extrait aqueux de la plante *thymus numidicus poiret* a atteint 86,65%, ce pourcentage est comparable à celui de l'acide ascorbique (96,16%).

Le résultats trouvé est supérieur a celui trouvé par (AMEUR, 2017) qui est de 79,71%. Une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) a été observée lorsqu'on compare le pourcentage d'inhibition de thym et de l'acide ascorbique

Résultats et Discussion

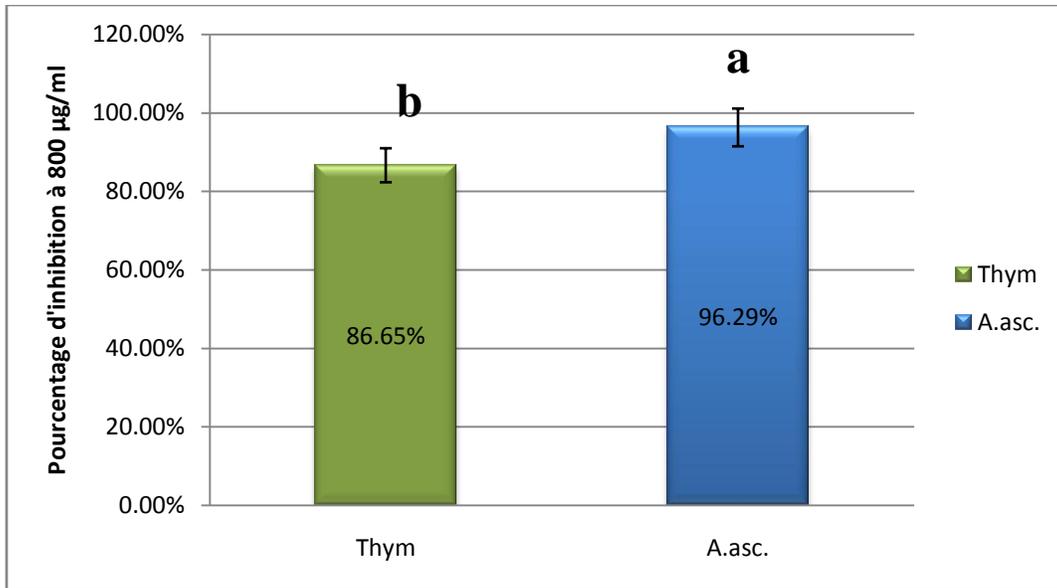


Figure 05 : Pourcentages d'inhibition à 800 µg/ml

Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différents entre elles ($p < 0.05$).

Les résultats obtenus par **Djeddi et al. (2015)** révèlent que les extraits possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante. Parmi l'extrait tester, l'extrait aqueux a été enregistré comme le plus actif avec une activité antioxydante égale à $92,10 \pm 0,55\%$,

Cependant les résultats obtenus par **(Ismaili et al. 2004)** ont montré que l'extrait de dichlorométhane de *T. saturoioides* n'a présenté aucune activité antioxydante.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH de *Thymus Numidicus* poiret est inférieur à 96% à une concentration inférieure à 1 mg/ml

Résultats et Discussion

I.3. Détermination de l'IC50 de la plante

Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité antiradicalaire d'un composé est importante (Sharififar et al., 2007).

Selon les résultats obtenus, l'IC50 de l'extrait aqueux du thym est de l'ordre de 171,16µg/ml. Une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) a été observée entre l'IC50 de thym et de l'acide ascorbique (69.67µg/ml).

Selon Korib (2017), l'extrait méthanolique des feuilles et fleurs de *Thymus ciliatus ssp et thymus eu-ciliatusen* ont enregistré une bonne inhibition de 50% de radicaux libre (IC50) de l'ordre de 0,0374 mg/ml et de 0,0499 mg/ml respectivement pour les feuilles et fleurs.

Ramchoun et al. (2012) ont enregistré des IC50 de l'ordre de 0.44 ± 0.02 , 0.54 ± 0.02 , 0.48 ± 0.01 , 0.70 ± 0.02 mg/ml pour les extraits aqueux respectivement de *T. atlanticus*, *T. zygis L.*, *T. satureioides*, et *T. vulgaris*

Ismaili et al. (2004) ont constaté une excellente efficacité de l'extrait méthanolique de *Thymus satureioides* à piéger le radical DPPH en enregistrant une IC50 de l'ordre de 14.6 µg/ml.

Une IC50 de 0.85mg/ml à été enregistrés par Kholkhal et al., (2013) sur une étude de l'activité antioxydante de la fraction acétate d'éthyle des flavonoïdes de la partie aérienne de *T. ciliatus ssp.coloratus*.

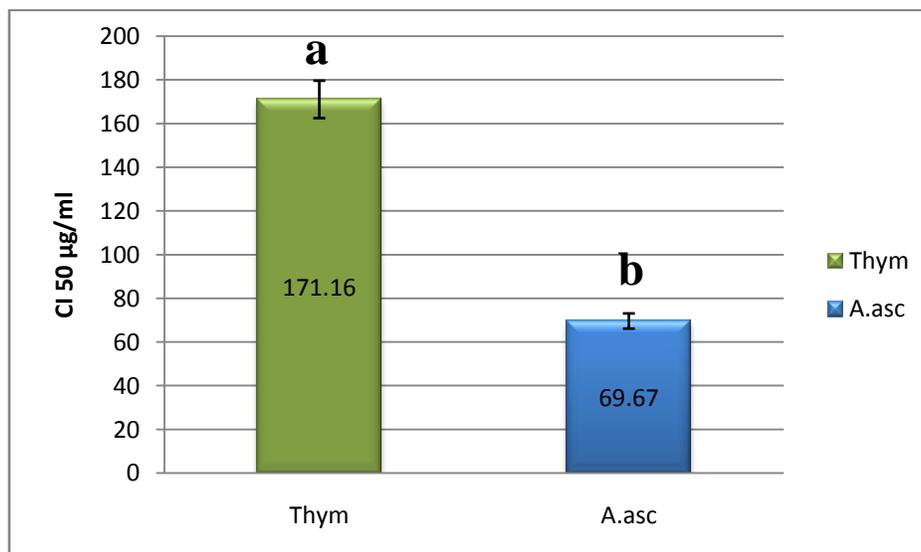


Figure 06 : IC50 de l'extrait aqueux de thym

Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différents entre elles ($p < 0.05$).

II. Effet de l'incorporation de l'extrait aqueux de thym sur la qualité hygiénique du yaourt

II.1. Caractéristiques microbiologique du yaourt fabriqué

Les analyses effectuées sur le yaourt fabriqué montre qu'il est de bonne qualité hygiénique. Nous signalons la présence de 11.10^3 UFC/ml de la flore totale et 40.10^3 UFC/ml de coliformes totaux. Les coliformes fécaux, staphylocoques, levures et moisissures sont absents.

La flore totale présente dans le yaourt fabriqué est largement en dessous de celui trouvé par **MAHIL (1992)**. Pour les coliformes totaux, les résultats trouvés sont légèrement supérieur à ceux trouvés par **WATTIK (2017)**. Selon **LARPENT (1990)**, la présence des coliformes totaux n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale.

II.2. Evolution de la qualité hygiénique du yaourt

II.2.1. Les FTAM

La figure 07 montre l'évolution du nombre de FTAM pendant 32 jours dans les yaourts élaborés.

Chaque jour et durant 32 jours de stockage, nous avons constaté une augmentation significative de la FTAM dans le yaourt témoin par rapport au yaourt incorporé de 1ml/kg d'extrait aqueux de thym. Ce constat peut être dû à la forte concentration en extrait aqueux de thym appliquée.

Nos valeurs de FTAM (79.10^3 UFC/ml) trouvés après 32 jours de stockage sont inférieures aux valeurs trouvées par **(Belyagoubi, 2013)** où la charge est de 3.47×10^7 UFC/ml

Nous concluons que l'addition de 1ml/kg d'extrait aqueux de thym au yaourt a un effet significatif sur le développement de la FTAM.

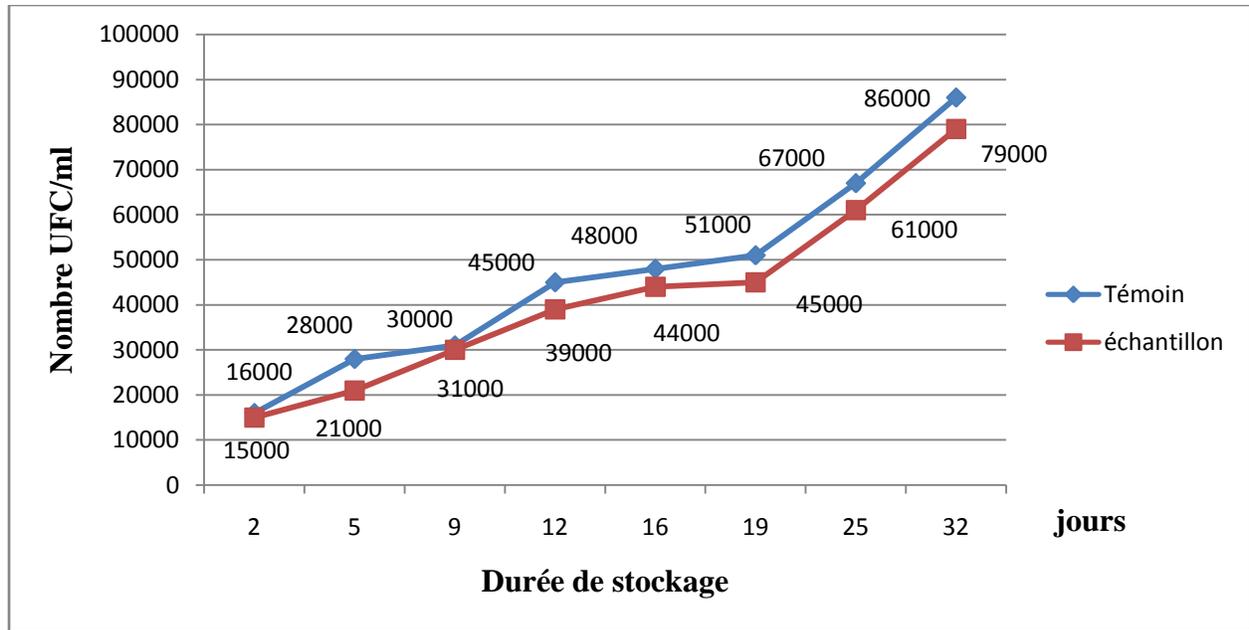


Figure 07: Le développement du nombre de FTAM pendant la durée de stockage

II.2.2. Les coliformes totaux

Le dénombrement des coliformes totaux dans le yaourt montre une augmentation un peu plus importante dans le yaourt témoin. Le nombre de coliformes totaux trouvé après 32 jours de stockage ($1,41.10^3$ UFC/ml) est largement inférieur à celui trouvé par **KIEMPTORE et al (2013) qui est de $2,56.10^3$ UFC/ml**. Le nombre obtenu par **Sifer (2015)** est de 10^7 UFC/ml, ce résultat est supérieur à celui de notre produit.

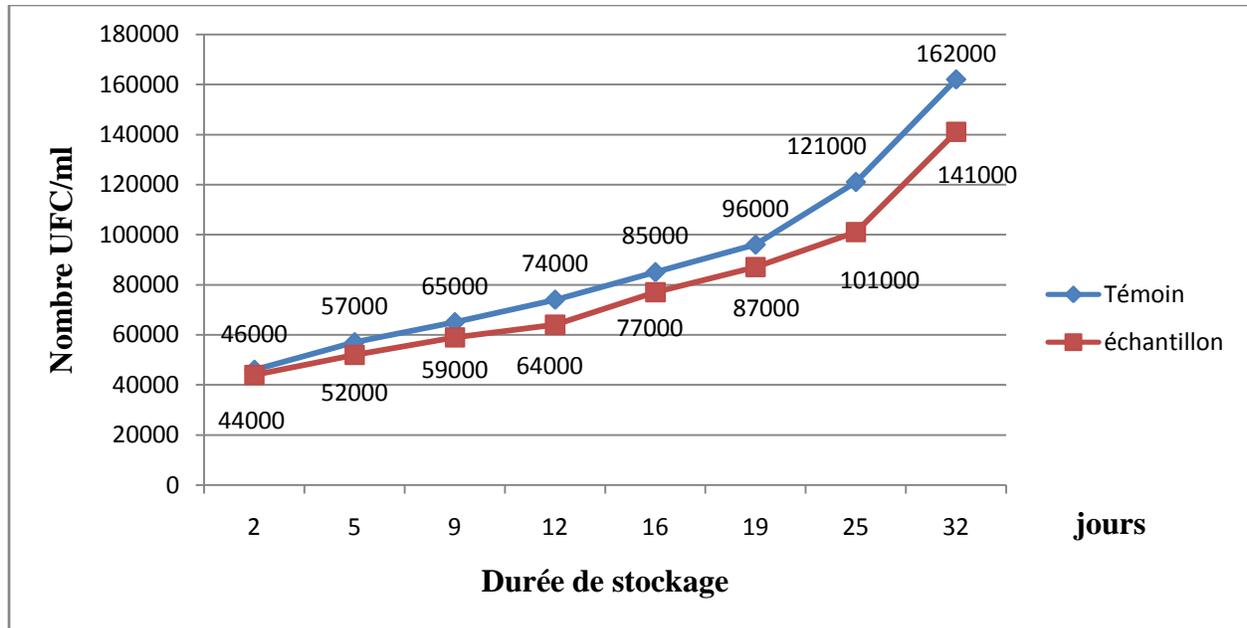


Figure 08 : Le développement du nombre de coliformes totaux pendant la durée de stockage

II.2.3. Les levures et moisissures

Nous avons constaté que l'acidité du produit engendrée par la fermentation lactique a favorisé le développement des levures et moisissures (GUIRAUD, 2003) à partir des 33 jours du stockage pour le témoin et 35 jours pour le yaourt à 1 ml/kg d'extrait aqueux de thym.

Les résultats obtenus nous a permis de noter clairement que l'addition de l'extrait aqueux de thym a prolongé le shelf life à 34 jours pour le yaourt à 1ml/kg d'extrait aqueux de thym en comparaison avec le yaourt témoin qui a une durée de vie de 33 jours seulement.

II.2.4. Les coliformes fécaux et les staphylocoques

Nous avons remarqué également l'absence totale de coliformes fécaux et des staphylocoques pendant les 32 jours de stockage dans les deux produits.

D'après ces résultats, l'ajout de l'extrait aqueux de thym présente un effet moyen sur la flore bactérienne (FTAM) et les coliformes totaux mais réduit notablement le nombre de coliformes fécaux et de staphylocoques et celui des levures et moisissures. L'extrait aqueux de *thymus numidicus* a pu jouer le rôle d'un conservateur dans le yaourt à une concentration de

Résultats et Discussion

1ml/kg, et elle a pu prolonger la date de consommation du yaourt à 35 jours. La date limite du témoin étant de 33 jours seulement.

En effet l'extrait aqueux de thym révèle une forte capacité inhibitrice contre divers microorganismes pathogènes et d'altération dans différent aliments. L'activité inhibitrice des extraits d'herbes est attribué fondamentalement à sa richesse en composés phénoliques, le genre thymus possède une grande importance pharmacologique, il est dotée d'activité antibactérienne et antifongique (**KULVANOVA et al, 1996**).

Conclusion & perspectives

Conclusion

Conclusion et perspectives

Cette étude visait l'incorporation de l'extrait aqueux de thym dans un produit laitier le yaourt pour évaluer son effet antibactérien et antioxydant.

Au cours de cette étude, nous avons pu dégager les conclusions suivantes:

Le rendement en extrait aqueux est de l'ordre de 73%.

Dans cette étude, à partir de la concentration de 800µg/ml, la plante présente des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH élevés. L'extrait aqueux de la plante *thymus numidicus poiret* a atteint 86,65%, ce pourcentage est comparable à celui de l'acide ascorbique (96,16%).

Selon les résultats obtenus, l'IC50 de l'extrait aqueux du thym est de l'ordre de 171,16µg/ml. Une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) a été observée entre l'IC50 de thym et de l'acide ascorbique (69.67µg/ml).

La microbiologie du yaourt est principalement dominée par les FMAT (79.10^3 UFC/ml) et les Coliformes totaux ($1,41.10^3$ UFC/ml). Les germes de la contamination fécale (coliformes fécaux), les germes pathogènes et la flore fongique est totalement absents. Ceci indique que notre yaourt est de très bonne qualité hygiénique.

Les résultats du suivi de l'évolution de la qualité hygiénique du yaourt élaboré pendant 32 jours ont montré que l'ajout de l'extrait aqueux de *thymus numidicus* au yaourt présente un effet moyen sur la flore bactérienne (FTAM) et les coliformes totaux mais réduit totalement le nombre de coliformes fécaux, de staphylocoque et celui des levures et moisissures. L'extrait aqueux de *thymus numidicus* a pu jouer le rôle d'un conservateur pour le yaourt à une concentration de 1ml/kg, et il a pu prolonger la date de consommation du yaourt à 35 jours. La date limite du yaourt non incorporé étant de 33 jours seulement.

D'après l'ensemble de ces résultats, nous pouvons conclure que les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes de l'extrait aqueux de *thymus numidicus* sont intéressants et peuvent être exploités dans la conservation du yaourt.

Comme complément à ce travail, il est souhaitable :

- ✓ D'isoler les bactéries lactiques du yaourt et d'étudier leur comportement vis à l'extrait aqueux de *thymus numidicus*;
- ✓ De tester l'extrait aqueux de *thymus numidicus* sur d'autres produits alimentaires.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Aboiron J et Hameury E. (2004). Additifs alimentaires : les lécithines, université de paris val de marne.

Ameursamra&IderAssia née Ksoulene, (2017), activité antioxydante d'une huile d'olive aromatisé au thym, université bejaia

Andre M., (1997). Cette bouffe qui nous tue. Bruxelles.

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

ATTIK Wissam& BENSEGHIR Fatiha, (2017), MASTER Thème(Suivi de la flore lactique d'un yaourt étuvé aromatisé au niveau de la laiterie « Ramdy » lors de la conservation à 6°C et à 22°C) p.03

B

Beal C et Corrieu G. 1991. Influence of ph , temperature and inoculumcompositiononmixed cultures of streptococcus thermophilus 404 and lactobacillus bulgaris 398. Biotechnol. Bioeng, 38, 90-98

Belkadi.F, Belmaaziz. S, 2015. Effet des extraits de thym (thymus vulgaris) sur la qualité d'un lait fermenté alicament type yaourt étuvé au cours de la conservation.

Benhedane Née Bachtarzi Nadia, (2012), QUALITE MICROBIOLOGIQUE DU LAIT CRU DESTINE A LA FABRICATION D'UN TYPE DE CAMEMBERT DANS UNEUNITE DE L'EST ALGERIEN, Université MENTOURI – Constantine – Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires

Benkiniouar R, Rhouati S, Touil A, Seguin E et Chosson E., (2007). Flavonoids from Thymus algeriensis chemistry of natural compounds, Vol 43, No 3.UDC 547, 972.

Benmadi Z. (2018) , Effet des extraits de Thymus vulgaris chez Escherichia coli Responsable des infections uro-génitales. P 23, UniversitéAbdelhamidIbnBadisMostaganem

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

Binstock G., (1998). Sorbate-Nitrite.Reaction in meat products.Buenos Aires University.

Références bibliographies

Botineau M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC, Lavoisier, Paris. 1021-1043p.

BOUBCHIR-LADJ KAHINA (2014), MAGISTER (EFFETS DE L'ENRICHISSEMENT (AVEC DES CONCENTRES DE PROTEINES LAITIERES) ET DES PARAMETRES TECHNOLOGIQUES SUR LA QUALITE DU YAOURT FABRIQUE A LA LAITERIE SOUMMAM D'AKBOU)

Boudier R, Sepulchre A., Gripon J.C et Monnet V. (1998) Simple tests for cheese. Journal of Dairy Science. 81, 2321-2328.

BOUHADDI Sarra , MENASRIA Daikha (2015), Mémoire de Master (fabrication d'un yaourt au thé vert) Université A.MIRA – Bejaia –Faculté des Sciences Exactes Département de Chimie (page 10)

Bouhadjra K. 2011. Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister,

Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

Bourgeois CM., (1992). Additifs conservateurs (antibactériens, antifongiques). In Multon J.L. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. 2ème Ed. Technique et documentation-Lavoisier, Paris. 169- 190.

Bourlioux, P., V. Braesco and D. D. G. Mater, 2011: Yaourts et autres laits fermentés. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 46, 305-314.

Bourlioux, P., V. Braesco and D. D. G. Mater, 2011: Yaourts et autres laits fermentés. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 46, 305-314.

Bousbia N., (2004). Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin). Etude de leurs activités antimicrobiennes. Mémoire de magistère. Institut National Agronomique, El Harrach, Alger. P130.

Brunellere Y., (2010). Décrypter les étiquettes alimentaires. Ed Paris.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie. Phytochimie Plantes médicinales, Paris, Ed Tec-Doc.

C

C.O.I. 2011. L'huile d'olive et ses propriétés antioxydants. Conseil Oléicole International.

Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A et Fandiño I. (2007). The Use of Essential Oils in Ruminants as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. Penn

Références bibliographies

State Dairy Cattle Nutrition Workshop. November 13-14, Grantville (PA). p. 87-100.

D

Dacosta Y. Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris, 2003, p. 317.

DELLAGLIO F., DE ROSSART H., TORRIANIS S., CURK M. et JANSSENS D. (1994). Caractérisation générale des bactéries lactiques. Tec&Doc (Eds), Lorica, 1, 25-116.

Denil, M., &Lannoye, P. (2001). Guide des additifs alimentaires: les précautions à prendre. Frison-Roche.

Djerroumi A. et Nacef M., (2004). 100 plantes médicinales d'Algérie. In : Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Ed Palais du livre. P 135 -131.

Donna M., (2007). Food additives and hyperactive, P. 3-7-8-9.

Dorman HJ., Deans SG., (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88(2): 308-316.

du fromage de chèvre frais et semi-affiné. Options Méditerranéennes, A, no. 108, pp 183-190. Espirito-Santo AP., Silva RC., Soares FASM., Anjos D., Gioielli LA. Et Oleivera

E

E.Hurtado-Fernandez ,M.Gomez-Romero , A. Carrasco-Pancorbo,A. Fernandez-Gutierrez, Application and potential of capillary, electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 53, 1130–1160, 2010

Espirito-Santo AP., Silva RC., Soares FASM., Anjos D., Gioielli LA. Et Oleivera

F

F.B., (1996). Parfums Cosmétiques Actualités. 130 : 49-54.

Farkye N.Y et Imafidon G.I (1995) Thermal denaturation of indigenous milk enzymes In Heat-induced changes in milk, 2nd Ed. Pp. 331-345. Ed Fox, P.H, international Dairy Federation, Brussels

Références bibliographiques

Favier A. Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'Actualité chimique 2003; 108-117.

Food Chem, 76, 69-75,2002

G

Golmakani et Rezaei, 2008 Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L.

Gosta B. (1995). Produit laitiers de culture. In .Manuel de transformation du lait. Ed: téta pack processing systems AB. Sweden .pp.241-262.

Gouget, Corinne. Additifs alimentaires Danger. 2008.

Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R. Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole 2005; 554-558.

Guiraud JP.,(2003). Microbiologie alimentaire. Ed. Paris : Dunod. P 653

H

H.Li ,Z. Deng, T. Wu, R. Liu R, S. Loewen, TsaoR. Microwave-assisted extraction of

HARBONE JB. 1994. Phenolics in natural products : their chemistry and biological significance Eds .Mann J. Davidson RS, Hobbs JB .Longman (London). 6:361- 388.

Hubert S., (1997).Allergies reconnues à certains colorants et aux sulfites

IntDairy J,20:415-422.

J

Jeantet, R., Thomas, C., Michel, M., Pierre, S. Gerard, B. (2008). Les produits laitiers.2ème Ed. TEC et DOC. Lavoisier-Paris : 184p.

K

KIEMPTORE Iris Hélène Assemana, (2013), Evolution de la qualité d'un yaourt industriel produit localement et commercialisé sur le marché de Ouagadougou (Burkina Faso)

Kohen R., Nyska A. (2002) Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. ToxicoloPathol. 30: 620-650.

Références bibliographiques

KoribGhaouti, (2017), Activités antioxydantes des extraits méthanoliques de *Thymus ciliatus* sp. (Thym). Université Abou BakrBelkaid de Tlemcen Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers Département d'Agronomie

Krieps M. 2009. Le The: Origine, Actualité et Potentialités: Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie de l'Université Henri Poincaré-Nancy 1.

L

L. Leong, P. Shui, An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets,

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

Lehucher-Michel M. P., Lesgards J. F., Delubac O. et autre (2001) Stress oxydant et pathologies humaines. Press Med. 30 : 1076-1081.

M

Macheix JJ, Fleuriet A and Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2005, p. 4-5.

Mahaut M, Jeantel R, Brulé G et schuck P, (2000). Les produits industriels laitiers. Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. Pp 26-37-31-33-200.

Marie- laure André., (2013). Les additifs alimentaires. Ed jouvence

Martini MC., Seiller M., (1999). Actifs et additifs en cosmétologie. Ed Technique et documentation Lavoisier, Paris 2ème édition, Paris. P431.

Mebarki N., (2010). Extraction de l'huile essentielle de *thymus fantanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Thèse de magistère, Université de M'hamedBougaraBoumerdes. Méridionales. Ed. CNRS. Paris. p1170.

MN.2010. Açaï pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. Int Dairy J, 20:415-422.

MN.2010. Açaï pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt.

Moll M., (2000). Précis des risques alimentaires. Ed Paris.

Molyneux, (2004). Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric

Références bibliographies

Measurements, 1 Forschungs- und Technologiezentrum Westküste der Universität Kiel, Hafentörn 1, 25761 Büsum, Germany

N

Novelli G. P. Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Pharmacol.* 1997; 48: 517-527.

O

Oudiot C., (1999). La transformation des aliments: Génie alimentaire. Ed. Casteilla, France . P79.

Oudiot C., (1999). La transformation des aliments: Génie alimentaire. Ed. Casteilla, France . P79.

P

Pacikora, E. (2004). Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur ? INAPG (AgroParisTech).

PELLETIER J-F., FAURIE J-M., FRANÇOIS A. (2007). Lait fermenté : La technologie au service du goût. In cahier de Nutrition et de Dietetique, Vol. 42, Issue 2, 18-05-2007. pp 2-15.

phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes, *Food Chemistry*, 130, 928–936, 2011

Q

Quézel P. et Santa S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed du centre national de la recherche scientifique. Paris. Tome II. P : 806, 784.

R

R.Ksouri, R. Megdiche, W. Debez, A. Falleh, H. Grignon, C. Abdelly, Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant, Physiol Bioch*, 45, 244-249, 2007

Ramchoun M., Harnafi H., Alem C., Büchele B., Simmet T., Rouis M., Atmani F., Amrani S. (2012). Hypolipidemic and antioxidant effect of polyphenol-rich extracts from Moroccan thyme varieties. *e-SPEN Journal*, 7: e119-e124.

Références bibliographies

Rey A., (1992). Dictionnaire historique de la langue française. In : Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Coridothymuscapitatus* (L.) Reichenb. Fil. Robert.

Ribeiro M. A., Bernardo-Gil M. G.,et Esquivel M. M. 2001. *Melissa officinalis* L., Study of antioxidant activity in Super critical residues. *Journal of super critical Fluids*. 21:51-60.

ROUSSEAU M. (2005). La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA. 9p.

S

Sies H. 1993. Strategies of antoxydant defense. *Europe. Journal. Biochemmistre*, 215:213-219.

Société suisse pour la protection (SPE) (1987). Les agents conservateurs (luttés contre les microbes et les réactions chimiques). In *Additifs alimentaires – souvent superflus parfois bienvenus-*. 2ème Ed. GERG, Genève. 83-93

Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H. A., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M., Sahin F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*,15: 627–634.

Souverien R.,(1992). Définitions et classements. In *Multon J.L. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires*.2ème Ed. Technique et documentationLavoisier, Paris. 3-31.

Syndifrais, M. s. d., 1997: Yaourts, laits fermentés. *Lait*, 77, 321-358.

T

Tabart et al., 2009 ; Hua et al., 2008). Antimicrobial and antioxidant activity of the polyphenol mangiferin

Tamime A.Y et Robinson R.K. (1985). Background to manufacturing practice. In *yoghurt Science and technology*. Pp.7-99

TAMINE A.Y., DEETH H.C. (1980). Yoghurt: Technology biochemistry. *J. of Food Protection*, 43, 12, 939-977.

Teuscher E, Antor R et Lobstein A. (2005). *Plantes aromatiques. (Epices, aromates, condiments et huiles essentielles)*. Tec & doc, Paris. P: 266-477.

U

Urquiaga I. N. E. S. and Leighton F. E. D. E. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res.* 2000; 33: 55-64.

Références bibliographies

Ursula et Fotsch C. et Wacker S., (2008). Connaissance des herbes (Thym). Janvier Newsletter. EGK Caisse de Santé, série de Brigitte Speck. P : 5

W

Wichtl M. et Anton R., (2003). Les plantes thérapeutiques. Tradition, pratiques officinales, sciences et thérapeutiques. Ed TEC et DOC. Lavoisier.

Z

Zantar.S.,Zerrouk.H.M, Zahar.M., Saidi. B, Notfia. Z., Laglaoui. A., Larbi. T. et Chentouf. M. 2013. Effet de l'utilisation des huiles essentielles (du thym, du romarin, de l'origan et du myrte) sur les propriétés physicochimiques, microbiologiques et sensorielles

Zantar.S.,Zerrouk.H.M, Zahar.M., Saidi. B, Notfia. Z., Laglaoui. A., Larbi. T. et Chentouf. M. 2013. Effet de l'utilisation des huiles essentielles (du thym, du romarin, de l'origan et du myrte) sur les propriétés physicochimiques, microbiologiques et sensorielles du fromage de chèvre frais et semi-affiné. Options Méditerranéennes, A, no. 108, pp 183-190.

Site

<http://www.doctissimo.fr/nutrition/diaporamas/additifs-alimentaires/conservateurs-antioxydants>
25 mai 2019, 01h30

https://fr.wikipedia.org/wiki/Concentration_inhibitrice_m%C3%A9diane , 25 mai 2019, 08h30

https://fr.wikipedia.org/wiki/Fermentation_lactique , 25mai 2019, 06h00

<https://www.bioalaune.com/fr/actualite-bio/34404/10-aliments-plus-riches-en-antioxydants> ,25 mai 2019, 01h00

<https://www.medelli.fr/glossaire-medical/extrait-aqueux/> 22/05/2019 a 06h00

www.fao.org, <http://www.fao.org/3/t4280f/T4280F0d.htm> 02juin2019, 01H00

Annexe

Annexe I : Courbes

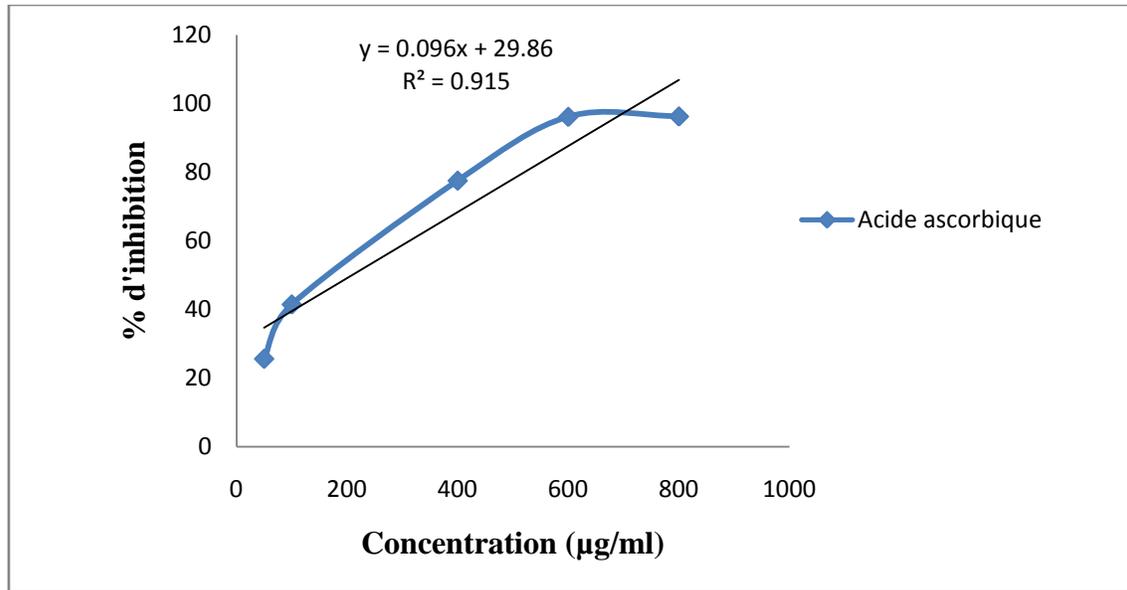


Figure 1 Courbes d'étalonnage de l'acide ascorbique (à 517 nm)

Annexe II Tableaux

Tableau 01 : Effet Scavenger contre le radical DPPH de l'extrait aqueux

Concentration	Thym	Acide ascorbique
50	42.33±0.298%	25.65±0.298%
100	45.61±0.298%	41.50±0.298%
400	64.04±0.298%	77.57±0.298%
600	76.97±0.298%	96.16±0.298%
800	86.65±0.298%	96.29±0.298%

Tableau 02: Le développement du nombre de FTAM pendant la durée de stockage

Jours	Témoin	Echantillon
2	16000	15000
5	28000	21000
9	31000	30000
12	45000	39000
16	48000	44000
19	51000	45000
25	67000	61000
32	86000	79000

Tableau 03: Le développement du nombre de coliformes totaux pendant la durée de stockage

Jours	Témoin	Echantillon
2	46000	44000
5	57000	52000
9	65000	59000
12	74000	64000
16	85000	77000
19	96000	87000
25	121000	101000
32	162000	141000

Annexe III : réactifs et milieux

Préparation de réactif DPPH

DPPH.....2,4 mg
Méthanol.....100 ml

Préparation de PCA

milieu déshydraté (BK144)20,5 g
Eau distillée.....1000ml

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Annexe IV Appareillage

Entonnoirs

Etuve

Bain Marie

Balance de précision

Papier Filtre

Plaque agitatrice

Spectrophotomètre

Rotavapor

Micropipettes

Béchers

Cristallisoirs

Creusés

Eprouvettes

Portoirs

Tubes à essai

Boite pétrie

Casserole

Une louche

Un spray