

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

laboratoire pédagogique de plantes médicinales, photochimie et pharmacognosie du département des sciences agronomiques et des forets.

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: SNV

Filière: Biologie

Option: SCIENCE DES ALIMENTS

Présenté par :

M^{lle} ZAHDOUR MANEL

Intitulé du Thème

La cinétique microbienne et d'acidité du yaourt associé aux huiles essentielles Ammoïdes verticillata et Thymus ciliatus

Soutenu le 02/07/2015

Devant le Jury composé de :

Mr. LAZZOUNI. Professeur à Université du Tlemcen Président

Mr. REBIAHI. Maitre de conférence à Université de Tlemcen Examinateur

Mr .BENYOUB. Maitre assistant à université de Tlemcen Examinateur

Mr. TEFIANI. Maitre assisstant à université de tlemcen promoteur

Année Universitaire: 2014-2015

Remerciements:

Mon remerciement s'adressent tout d'abord à **DIEU**, le tout puissant qui m'a tracé le chemin de ma vie et accordé la volonté, la santé et la patience nécessaire à la réalisation de ce mémoire;

Je tiens à remercier en premier lieu **Monsieur TEFIANI** C maitre assistant à l'université de Tlemcen pour m'avoir encadré et dirigé ce travail et pour sa disponibilité, ses conseils et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer, d'être le directeur de mon mémoire, pour son aide, son soutient et sa simplicité dans l'orientation;

je tiens à exprimer nos plus vifs remerciements aux membres de jury: Mr. LAZZOUNI Professeur à l'université de Tlemcen, d'avoir accepté de présider ce travail

Mr. REBIAHI, chef département de biologie et maitre de conférence à l'université de Tlemcen d'avoir examiné ce travail.

Mr. BENYOUB, Maitre assistant au département d'Agronomie à l'université de Tlemcen d'avoir examiné ce travail.

J'adresse encore mes remerciements à l'entreprise **Najah de** maghnia pour avoir mis à ma disposition tous le matériel et les produits disponibles à leurs niveau.

A tous ceux qui m'ont soutenu afin de réaliser cette étude avec toutes les expressions de gratitude et de respect.

• Avec l'aide de Dieu le tout puissant, , j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie

- ➤ A la lumière de mes yeux et le bonheur de mon existence les plus chères et les plus idéaux hommes et femmes dans ma vie « mon père et ma mère » pour l'amour qu'ils m'ont porté et pour leur soutient et conseils, m'ont donné confiance, courage et sécurité. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma grande affection et amour.
- A mon chère frère **Adel** qui n'est plus parmi nous que dieu vous accueil dans son paradis
- A mes frères **Mounir** et **Amine** pour leur sacrifices, soutien et affection.
- > A ma chère sœur **Zakia** et son marie **Ahmed**
- A mes belles sœurs: **Souad, Zoubida** et **Nassima**
- > Au petits: Kawthar, Affaf, Marwa, Mohammed, rahma, raghed, Ali,
 Souhayb et l'ange Adel
- > A Mon Fiancé: **Mehdi**
- ➤ A ma future belle famille :**Benzekhroufa**
- ➤ A toute ma famille **Zahdour** et **Laouedj** sans exception: oncles, tantes ,cousins et cousines.
- A mes amies : **Hanane, Amina, Saliha**.....je leur souhaite une vie pleine de réussite. Merci pour la solidarité et la gentillesse.
- tous les étudiants de la promotion de Master Science des aliments
- ➤ A toute personne qui a participé de prés ou de loin dans la réalisation de ce travail et dont je n'ai pas mentionné les noms à travers ces lignes ; je vous dis tous



Manel.

Liste des tableaux

Tableau1 : Systématique de l'espèc Ammoïdes verticillata
Tableau 2 : Enquête thérapeutique effectuée au niveau de la région de Tlemcen sur la
plante Ammoïde verticillata7
Tableau3: Systématique de l'espèce Thymus ciliatus ssp eu ciliatu11
Tableau 4 : Lieu de récolte de la plante et caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la station de récolte
Tableau 5 : Caractères organoleptiques des HES étudiées
Tableau 6: la croissance de Lactobacillus bulgaricus40
Tableau 7 : les valeurs du pH de yaourt

Liste des Annexes

Annexe1: La définition et composition de milieu de culture MRS

Annexe2 : La définition et composition de ce milieu de culture M17

Liste de figures

Figure1 : Ammoïdes verticillata
Figure2 : description d'Ammoïdes verticillata5
Figure3: Thymus ciliatus
Figure4 : Carte géographique de la station d'étude
Figure5: le montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction des huiles
essentielles
Figure6: ferment lactique29
Figure 7 : ingrédients de la préparation du yaourt30
Figure 8 : yaourt préparé
Figure9: préparation milieu MRS31
Figure 10 : Préparation du milieu M1731
Figure11 :préparation de l'eau physiologique32
Figure12 : Préparation des différentes solutions mères
Figure13 : yaourt associé avec HES
figure14 : Les différentes dilutions utilisées à partir de la solution mère34
figure15 : les délutions du yaourt34
figure15: yaourt associer avec HES
Figure16 : Remplissage des boites de pétri par le milieu de culture35
Figure17 :les boites de pétries coulé
Figure 18: les boite de pétries incubés

Figure19: Rendements des huiles essentielles39
Figure 20 : Viabilité des cellules de S. thermophilus (log UFC/ml) soumises à l'huil essentielle
de <i>Thymus</i> ciliatus41
Figure21 :Viabilité des cellules de S. thermophilus (log UFC/ml) soumises à l'huile essentielle de Ammoide verticillata

Liste des abréviations

HES	L'huile essentielle
M	La masse
g	gramme
μl	Micro litre
ml	Millilitre
l	litre
mm	millimètre
cm	centimètre
T	Température
t	temp
%	Pourcentage
R ^{mt}	Rendement
C°	Celsius
T	Témoin
Tc 0.3	Yaourt associé à 0.3 d'huile de thymus ciliatus
Av 0.6	Yaourt associé à 0.6 d'huile de <i>Ammoïdes</i> verticillata
Fig	figure
I.R	L'indice de réfraction
UFC/ml	Unité formant colonie par millilitre
MRS	De Man Rogosae et Sharp
IC ₅₀	Concentration qui inhibe 50% de la population
P/P	Poids sur Poids
pН	potentiel hydrogène

Introduction

Introduction

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al. 2001**). De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, tannant compte de leurs propriétés aromatiques comme l'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle.

Le contient africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riche dans le monde, avec un nombre très élevé des plantes utilisées comme médicament, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles ont été identifies et beaucoup d'entre elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies (**Majinda et al. 2001**).

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du contient africain en générale et de particulière ; il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes (Millago et al., 2005).

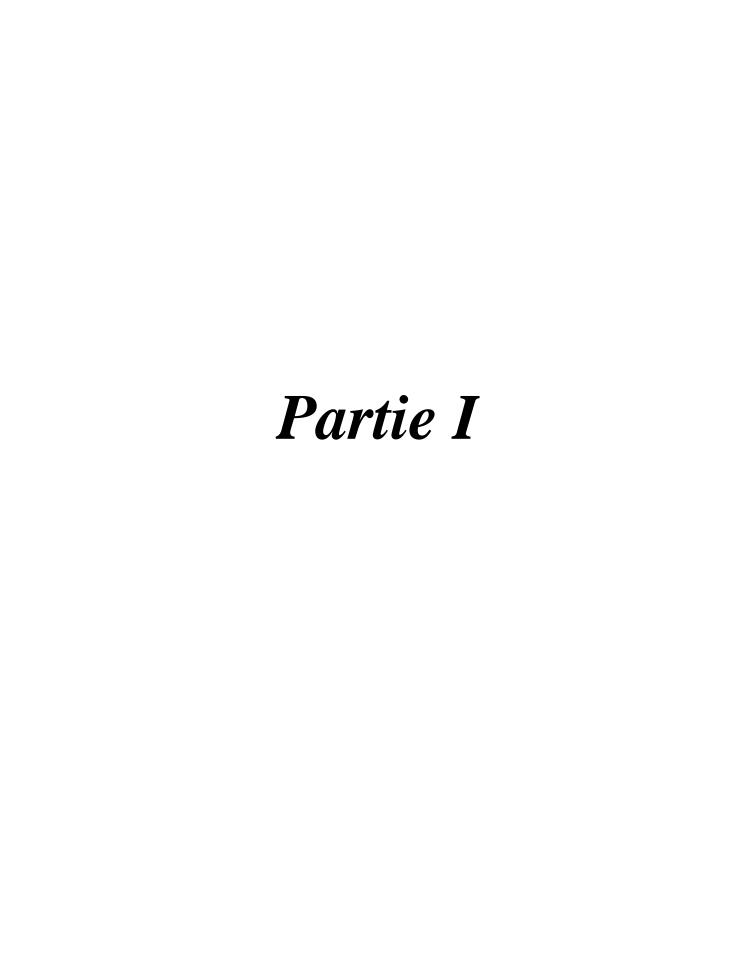
L'importance économique des plantes aromatiques et médicinales du fait leurs propriétés biologique, thérapeutiques, odoriférantes..., de leur impacte au niveau de l'environnement et de leurs multiples utilisations dans diverses industries, suscite un intérêt croissant en biologie et même en chimie organique; plus la moitie de la population mondiale de ces plantes est assuré par les payes en voies de développement. On estime un chiffre d'affaire de plus de 7.5 milliards de dollar (Peyron, 2000). Les huiles essentielles(HES) comptent permis les plus importants principes actifs des plantes. Elles ont de multiples propriétés biologiques (Iserin, 2001).

Notre intérêt s'est porté à l'étude de « *Ammoides verticillata* » et « *Thymus cilliatus* » sont des plantes médicinale et aromatique très utilisés en médecine traditionnelle et comme condiments alimentaires par la population locale.

L'intérêt de notre étude est de voir la possibilité d'incorporation des HES dans la préparation du yaourt et de voire aussi le comportement des bactéries lactique et d'acidité du yaourt.

Pour atteindre cet objectif, on a réalisé un travail structuré de deux grandes parties :

la première consacré à la bibliographie qui comporte 3 chapitres, **le yaourt, l'huile essentielle et les plantes étudiées** (*Ammoïdes verticillata et Thymus ciliatus*) et la 2^{ème} partie consacrée à l'expérimentation qui comporte 2 chapitres **matériels et méthodes** et r**ésultats et discussion.**



Chapitre I. Les plantes étudiées

I-1. Les plantes médicinales

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source principale de l'Afrique nourriture, par la suite s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes afin de soigner les différentes maladies, jusqu'à maintenant les plantes sont encore destinées pour la santé humaine. D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (**Damintoti** *et al.*, 2005), sachant que pour la synthèse d'un seul médicament 10000 molécules doivent être synthétisées et testées (**Bérubé,2006**).

En partant de ces résultats et données, les biologistes et les chimistes reconnaissaient l'importance majeure de produits naturels; ce qui peut expliquer le grand intérêt porté à la recherche de composés issus des sources naturelles. Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques (Madi, 2010).

Notre intérêt s'est porté à l'étude de :

I-2. Ammoïdes verticillata

I-2-1. Origine et représentation géographique d'Ammoïdes verticillata

Ammoïdes verticillata est une plante odorante qui pousse spontanément dont le nord de (Algérie, Maroc, Tunisie) ainsi qu'en nord de d'Asie (Inde, Pakistan). Cependant les principaux cultivateur sont l'inde et perse. Les deux grandes qualités d'Ammoïdes verticillata sont sa forte action stimulante et son remarquable pouvoir antimicrobien. En effet, elle a une action très intéressante sur les maladies microbiennes (Abdelouahid et Bekhechi, 2004).

Ammoïdes verticillata est une plante fortement aromatique et piquant ; son odeur est très agréable, diffusible et intense ; fortement balsamique et persistante même après la dessiccation (Bekhechi, 2002).

Cette plante est très utilisée dans les préparations culinaires (rôti, soupe, légumes) grâce a son arome fort. Mais elle est considérée principalement comme une plante médicinale pour traiter les maladies de tube digestif (**Guenther**, 1950).



<u>Figure1</u>: *Ammoïdes verticillata* (photo originale)

> Noms vernaculaires

Nounkha (Merad, 1973), Nûnkha (Sijelmassi, 1991).

En français: Ajowan ou Ajawain (Wehmer, 1931).

> Noms scientifiques

Ptychotis verticillata, Ammoïdes (ou Ptychotis) verticillata, Trachyspermum Boiss (Quezel et Santa ,1963).

Carum copticum (Benth et hook) (Goudarzi et al., 2011).

Trachyspermum ammi (Narayana et al., 1976).

Trachyspermum copticum (Schirner, 2004).

I-2-2. Description botanique de la plante

I-2-2-1. Description

Plante annuelle de 15-35 cm. glaucescente, à racine grêle, pivotante ; tige dressée, striée, grêle, à nombreux rameaux étalés ; feuilles radicales pennatiséquées, à 3-5 segments très rapprochés, étroits, trifides, les caulinaires découpées en lanières capillaires paraissant verticillées ; ombelles petites, penchées avant la floraison, à 6-12 rayons capillaires, très inégaux, les intérieurs très courts; involucre nul ; involucelle à 5 folioles inégales, 3 sétacées, 2 spatulées et aristées ; styles réfléchis, égalant le stylopode ; fruit petit, ovoïde

(benoît, 2012).

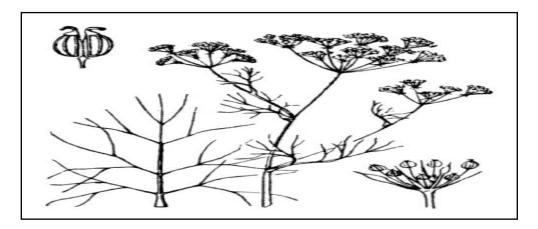


Figure2: description d'Ammoïdes verticillata (benoît, 2012).

I-2-2-2.Habitat

Lieux arides de la Corse, en de nombreuses localités. Europe méditerranéenne ; Afrique Septentrionale (benoît, 2012).

I-2-2-3. Systématique et classification d'Ammoïdes verticillata

C'est la classification des êtres vivants d'après un système fonde sur l'emploi d'un seul ou d'un petit nombre de caractères génétiques, morphologiques et embryologiques (Bekhechi, 2002).

La composition chimique est devenue un caractère taxonomique supplémentaire (Lawrence, 1980).

Ammoïdes verticillata est classée selon la clé de détermination botanique de Quezel et santa(1963) et Guinochet et vilmorin(1975).

Embranchement	Phanérogames
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous Classe	Astéridées
Ordre	Apiales
Famille	Apiacées
Genre	Ammoïdes Adanson (ou Ptychotis Koch)
Espèce	Ammoïdes (ou Ptychotis) verticillata (Desf.) Briq.

<u>Tableau 1</u>: Systématique de l'espèce *Ammoïdes verticillata*

I-2-3. Enquête thérapeutique d'Ammoides verticillata

Les qualités thérapeutiques d'Ammoides verticillata sont connues depuis les plus anciens ?dans la médecine populaire locale. Cette espèce possède des qualités précieuses et jouit d'une grande faveur populaire (Sijelmassi, 1991).

Par ailleurs, **Merad** (1973) avance que l'infusion d'*Ammoides verticillata* est utilisée comme antipyrétique, rafraîchissante et antispasmodique (surtout conseillée dans les spasmes gastro-intestinaux).

En outre, **Ziyyat et** *al.* **(1997)** avancent que *Ammoides verticillata* est une plante aromatique utilisée comme fébrifuge, conseillée contre la grippe, et possède des propriétés thérapeutiques contre l'hypertension et/ou diabète.

Selon à l'étude réalisée par **Bekhechi** (2002), réalisée auprès des herboristes et des gens campagne de la région de Tlemcen, les informations qu'on a pu recueillir ont montré que la plante a des usages culinaires et surtout thérapeutiques sont résumés dans le **tableau 2**.

<u>Tableau 2</u>: Enquête thérapeutique effectuée au niveau de la région de Tlemcen sur la plante *Ammoïdes verticillata* (Bekhechi, 2002).

Parties utilisées	Indications	Mode d'emploi
uunsees		
	Fièvre Rhumes grippes Maladies broncho-	de l'eau avec la plante, mettre une serviette sur la tête, et inhaler les vapeurs dégagées. Ensuite, boire une tasse de cette décoction filtrée avant de se
	pulmonaires	coucher.
	Fièvre typhoïde Antipyrétique Dépuratif	Décoction ou infusion
	Antispasmodique Affections rénales	
Plante	Règles douloureuses	Infusion
entière	Régulateur dermique	Décoction
	Asthme Douleurs gastriques Parasites intestinaux	Mélanger la plante lavée, séchée et broyée avec du miel. Prendre 1 à 2 cuillerées par jour.
	Céphalée migraines	Décoction ou infusion avec un citron. Boire une tasse le soir avant de se coucher.
	Sinusite	Mettre la plante dans de l'eau bouillante, laisser infuser, ensuite mélanger avec du henné et mettre sur les endroits atteintes (Sinus osseux de la face).
	Rafraîchissante	Faire une décoction avec une tranche de citron, laisser refroidie puis mettre au réfrigérateur (boire comme une boisson rafraîchissante).

Feuilles et fleurs	Condiment culinaire	Ajouter ces parties de la plante broyées dans des soupes ex : soupe d'escargot. Conserve plus longtemps les aliments et empêche la formation des moisissures, ex : les olives.
Feuilles	Irritations dermiques Abcès - furoncle	Faire bouillir dans très peu d'eau, une poignée de feuilles fraîches. Lorsque le liquide est presque complètement évaporé, mettre les feuilles cuites sur une serviette et les écraser pour en supprimer le suc. Laisser refroidir le cataplasme, puis l'appliquer sur la partie atteinte.
Racines	Diarrhée	Faire bouillir pendant 20 minutes dans un litre d'eau des racines séchées au soleil. Filtre la décoction, la sucrer avec un peu de miel et la boire en trois fois au cours de la journée.
	Diurétique	Mettre dans un litre d'eau bouillante des racines. Filtrer, quand l'infusion est devenue tiède, sucrer avec un peu de miel. Consommer le tout dans la journée.

I.3 Thymus ciliatus

I-3-1. Origine et représentation géographique, de Thymus ciliatus

Le Thym est une plante aromatique et médicinale, connue depuis l'oligocène, contient une vaste famille d'angiospermes regroupant surtout des plantes herbacées et sous arbustes réparties dans le monde entier (**Encycopedie**, **1985**).

Le nom Thymus dérive du mot grec*Thymos*qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (**Pariente**, **2001**).

Selon **Passet (1979),** le genre Thymus est définit comme un ancien groupe tertiaire, ayant son origine dans le Sud-Est de l'Espagne.

Il est très utilisé par la population maghrébine en médecine traditionnelle et comme condiment alimentaire (**Hamiche**, 1988).

Selon **Richard et al.**, (1985), le Thym appartenant à la famille des Lamiacées et regroupant plus de cent espèces sont actuellement connues sur le pourtour du bassin méditerranéen. Il se trouve dans les zones tempérées de l'hémisphère nord.

Le Thym à une saveur amère et chaude avec des variations en fonction de la race chimique et il préfère les sols calcaires et argileux (Garnier et al., 1961).

Il est considéré comme une drogue à l'huile essentielle, mais il est peu probable que les constituants de cette dernière seraient les seuls responsables des activités attribuées à la drogue (**Bruniton**, 1993).

Les différentes appellations de Thymus.

Nom vulgaire Thym/Djertil

Nom arabe Zaater

Nom anglais Headed Thyme

Nom berbère Azoukni

I-3-2. Description botanique de *Thymus ciliatus*

I-3-2-1. Description

Les Thyms (*Thymus*) sont des plantes basses sous ligneuses. Selon **Quezel et Santa**, (1963), *Thymus ciliatus* est un sous arbrisseau qui peut atteindre 25-40cm de hauteur, présentant des racines, un système radiculaire pivotant étalé et des tiges très ramifiées ligneux en sa partie inferieure la multiplication par rhizome est assez robustes. Les fleurs sont réunies en épis, ces dernières peuvent atteindre 16 à 20 mm de largeur et sont localisées à l'extrémité des branches, le calice est tubuleux à deux lèvres ; la lèvre supérieure possède 3 dents, la lèvre inférieure en possède 2 ciliées et dentées, la corolle possède 4 étamines saillantes, feuilles florales sont différentes des feuilles culinaires qui sont en générale fortement dilatées à leur position inférieure.

Les Thyms possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncée, et qui sont recouvertes de poils et de glandes appelés *trichomes*.

Les trichomes contiennent l'huile essentielle(HES) majoritairement composée de monotèrpenes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose (Soto-Mendivil et al., 2006)



Figure 03: *Thymus ciliatus* (photo originale)

I-3-2-2. Systématique et classification de Thymus ciliatus

L'identification du genre *Thymus* est assez difficile cela revient à la variabilité de l'espèce et ses hybrides (**Quezel Et Santa, 1963**).

<u>Tableau 3</u>: Systématique de l'espèce *Thymus ciliatus* ssp *eu- ciliatus*.

Embranchement	Phanérogames
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous Classe	Astéridées
Ordre	Apiales
Famille	Apiacées
Genre	Ammoïdes Adanson (ou Ptychotis Koch)
Espèce	Ammoïdes (ou Ptychotis) verticillata(Desf.) Briq.

I-3-3. Usage thérapeutique du Thym

Le thym est utilisé fréquemment par les populations autochtones grâce à ses diverses propriétés importantes. C'est une plante aromatique très odorante, utilisée dans la cuisine algérienne pour faire les différents plats ; recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les affections de la bouche, les contusions (lésion produite par un choc sans déchirure de la peau), et les accidents articulaires II est considérée aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippes, et angine. Il contribue également dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies, et aussi l'expulsion des gaz intestinaux (Hans, 2007).

L'HES de thym a un goût fort piquant, épicé, herbeux et une odeur qui est maintenue par le séchage soigneux. Elle contient du thymol à des proportions variables suivant l'origine de l'espèce notamment. En pharmacie, le thymol et le carvacrol sont employés en collutoires, dans les dentifrices, les savons, les onguents, les lotions, les pastilles pour la gorge et les remèdes antigrippes. En aromathérapie, les indications de l'huile essentielle de thym sont nombreuses: abcès, arthrite, brûlures cystite, diarrhée, eczéma, oedème, maladies infectieuses, morsures d'insecte, insomnie, 'obésité, circulation insuffisante, sinusite, blessures, entorses et l'infection de l'appareil urinaire, soulage les maux de tête et les migraines. Grâce au thymol, l'huile essentielle de thym fonctionne comme expectorant et est fréquemment employé en sirops contre la toux (Hans, 2007).). Selon Valnet (1984), l'huile essentielle de thym élimine le bacille de typhoïde en quelques minutes seulement.

Chapitre II. les huiles essentielles

II-1. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles HES Les molécules actives impliquées dans les mécanismes de défense des plantes, sont issues du métabolisme secondaire. Elles ne participent pas directement à la croissance des plantes, mais ont évolué pour leur fournir une protection naturelle contre les attaques de microbes ou d'insectes. Une partie de ces métabolites secondaires se concentre dans les sacs oléifères, qui sont des poches sécrétrices d'huiles essentielles (Guinoiseau, 2010).

Pour la 8^e édition de la pharmacopée française (1965), les HES (=essences=huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation » (**Bruneton, 1993**).

Les HES extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie. Les huiles essentielles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine trapénoïde et possédant un noyau aromatique (**Iserin**, **2001**).

II-1-1. Composition chimique des HES

Les HES sont des produits du métabolisme secondaire des plantes (**Hatanaka et** *al.*, **1987**). Elles sont un mélange, complexe et éminemment variable, de constituants qui appartiennent de façon quasi-exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distincts :

*Le groupe des terpenoides d'une part ;

*Le groupe des composées aromatiques dérivées du phényl-propane d'autre part (Bruneton, 1993).

Les monoterpènes sont classés en différentes catégories selon la structure et leur squelette carboné, on distingue aussi les types réguliers et irréguliers, les premiers sont eux mêmes subdivisés en terpènes acycliques, cyclopentanoides et cyclohexanoides, ces derniers étant de loin, les plus représentés (**Croteau, 1981**).

Tous ces composés existent sous forme d'hydrocarbures ou de drivés oxygénés : alcools, aldéhydes, cétones, oxydes, estères ou lactones (**Paris et Hurabielle, 1981**).

II-1-1. Composés terpéniques

- Les monoterpènes (C₁₀H₁₆): sont issues du couplage de deux unités « isopréniques ».Ils peuvent être acycliques (myrcènes, ocimène) monocyclique (α et γ-terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène).Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (citrus...) (**Bruneton, 1999**).
- Les sesquiterpènes (C5H8)3: un grand nombre de sesquiterpènes sont des constituants habituels des HES des végétaux supérieurs attribués à ces fractions volatiles. (Bruneton ,1999).

La variation structurelle justifie l'existence de nombreux alcools (géraniol, α-terpinéol, bornéol, trans farnésol), phénols (thymol) aldéhydes (citronnelle) cétones (carvone, β-vetivone), esters (Acétate de cédryle), éthers (1,8-cinéole).

II-1-1-2. Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C6-C6) sont beaucoup moins fréquents que les précédents, ce sont très souvent des allyles et propénylphénols, parfois des aldéhydes, on peut également rencontre dans les HES des composés en (C6-H1) comme la vanilline ou comme l'anthranilate de méthyle (**Bruneton**, 1999).

II-1-1-3. Composés identifiés dans diverses HES de Thym

La composition en HES renferme des alcools, des phénols des aldéhydes, des cétones, des esters et quelques dérivés du phényle propane (**Richard et al., 1985**). En faisant une comparaison de composition chimique en HES du thym de différentes provenances on remarque une grande diversité de leurs constituants.

Le thymol et le carvacrol sont les plus importants constituants du genre *Thymus* sauf pour *Thymus serpyllum* qui est caractérisé par l'absence de ces composés (**Loziane et** *al.*, **1998**).

(Crespo et al., 1991), ont classé les HES du genre Thymus en deux grands groupes :

- Le premier groupe concerne les espèces riches en alcool (Thymol, carvacrol) et /ou le précurseur de la biosynthèse gamma-terpinène ;
- Le deuxième groupe renferme un composé d'hydrocarbure monoterpénique (camphène, p.cymène...ect).

Selon **Bhaskara et** *al* (1998), les HES du genre Thymus sont riches en hydrocarbures monoterpènes phénoliques.

II-1-1-4. Composés identifiés dans diverses HES d'Ammoïdes verticillata

Selon **Nigram et al.(1963)** la composition chimique de l'HES d'Ammoïdes verticillata provenant d'Inde est la suivante :α pinène (1.8%), camphène(0.5%),

 β pinène(3.5%),myrcène(0.3%), δ -3-carène(0.5%), limonène(5.1%), Υ - terpinene (34.9%) p-cymène, quantité faible de carvacrole et comme composé majoritaire le thymol.

Selon **Ashraf et Bhatty** (**1975**) la composition chimique de l'HES *d'Ammoïdes verticillata* du Pakistan est la suivante : α pinène (0.33-0.63%), camphène (0.56-0.63%), β -pinène (1.24-1.56%), δ -3-carène (0.42-0.80%), limonène (0.25-2.25%), Υ -terpinene (18.70-20.35%), p-cymène (20.80-23.78%), carvacrol (4.50-6.80%), le thymol (45.20-48.50%).

L'analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG) des HES *d'Ammoïdes verticillata* a permis de mettre en évidence un maximum de « 20 » constituants chimiques dont « 12 » ont été identifiés parmi ces composés « 5 »constituants chimiques n'ont pas été identifiés précédemment, ces composés sont : le myrcéne, le thujone, le terpinéne 4-ol, l' α -terpinéol, β -caryophyléne (**Bekhechi et** *al.*, **2008**).

Selon **Richard et** *al.*(1985) La composition en HES d'Ammoïdes verticillata renferme « des alcools, des phénols, des aldéhydes, des cétones, des esters et quelques dérivés du phényle propane. Le thymol c'est le plus important constituant (loziane et *al.*, 1998).

II-1-2. domaines d'application HES

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

Selon Grysole(2004) les HES sont destinées à quatre grands secteurs industriels :

II-1-2-1. Secteur parfumerie et cosmétique

L'utilisation des HES comme base dans la fabrication de parfums constitue une pratique courante depuis des siècles dans la plupart des civilisations. L'Europe et les Etats-Unis ont développé des industries importantes qui démarquent par leur haut niveau d'exportation dans ce domaine. La consommation d'huiles dans ce secteur se caractérise par le besoin d'une très grande variété de produits, de quantités relativement faibles et de prix souvent élevés.

II-1-2-2. Secteur parfumerie technique

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

II-1-2-3. Secteur alimentaire

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

II-1-2-4. Secteur médicinal

Dans le domaine de la santé, il faut distinguer le secteur pharmaceutique de celui des médecines douces. Dans ce secteur, les vertus thérapeutiques des huiles sont reconnues et utilisées depuis des siècles dans beaucoup de pays. En effet, ce marché a donné naissance à une industrie des produits naturels comme les produits homéopathiques. Cette industrie, très développée en Europe, bénéficie d'un attrait croissant de la part des consommateurs non seulement en Europe mais aussi en Amérique du Nord. De plus, les produits naturels avec effets thérapeutiques ont attiré l'attention des divers groupes pharmaceutiques.

Les huiles à utilisation médicinale peuvent être vendues pures en petits flacons ou sous forme de vaporisateurs, de pastilles, de bonbons... ces huiles peuvent également être utilisées comme inhalant pour soulager les difficultés respiratoires, comme dentifrice (dans l'eau), ainsi que pour rafraîchir ou soulager la gorge (**Grysole**, 2004). Par conséquent, les HES ont une variété d'applications et, dans bien des cas, la même huile peut être recherchée pour des propriétés différentes selon les secteurs industriels. Les propriétés médicinales des HES sont nombreuses, mais chacune possède ses vertus particulières (**Nicole**, 1996).

II-1-3. Les procédés d'extraction des HES

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

Quand on examine les HES il faut avoir à l'esprit deux précautions :

- Le matériel botanique d'où est issue l'HES
- Le mode d'obtention des HES et les transformations chimiques qui l'accompagnent (Garnero, 1991).

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

Il existe plusieurs procédés d'obtention des HES dont l'expression à froid, l'extraction par solvant organique volatil; l'extraction à l'eau surchauffée, l'extraction au CO₂ supercritique, par ultrasons par l'entrainement à la vapeur d'eau et par l'hydrodistillation (**Bruneton, 1999**). De tous ces procédés, ces deux derniers sont les plus employés à l'échelle industrielle pour la production d'HES(**Wang et al., 2008**). Parmi ces différents types de procédés, nous citons principalement :

- **Extraction par distillation.**
- L'expression à froid.

II-1-3-1. Extraction par distillation

L'extraction par distillation est appliquée pour la majorité des HES. Elle est définie comme la séparation d'un mélange de composés liquides, basée sur la volatilité relative des différents constituants du mélange (Guenther, 1972).

> Hydro distillation

C'est la méthode la plus simple et la plus répandue, toutefois des phénomènes physiques et chimiques qui se produisent et risquent de modifier sensiblement le contenu du matériel végétal ainsi l'HES qui en est libérée risque-t-elle aussi d'être modifiée (**Badjah**, **1978**).

Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter intact ou éventuellement broyé dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition, les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'HES s'en sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'HES étant plus légère que l'eau, (sauf quelques rares exceptions), surnage au-dessus de l'hydrolat (**Bruneton**, 1999). Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Lucchesi**, 2005).

> Entrainement à la vapeur d'eau

L'enchainement à la vapeur d'eau consiste à récupérer l'HES, des végétaux, en faisant passer à travers ces derniers un courant de vapeur d'eau, qui entraine l'HES.

Les extraits obtenus sont refroidis, décantés, et l'HES est récupérée. (Benhabiles, 1995).

L'enchainement à la vapeur d'eau s'effectue de façon à ce que la substance végétale ne doit pas être posée directement sur la source de chaleur pour ne pas détériorer l'huile mais sur une grille se trouvant sur un récipient où l'eau est en ébullition (**Padrini et Luchironi.**, 1996).

II-1-3-2. . L'expression à froid

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

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

II-1-4. Pouvoir antimicrobien des HES

Les HES ont un spectre d'action biocide très large puisqu'elles inhibent la croissance de moisissures, levures et bactéries (**De Billerbeck et** *al.*, **2002**).

Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets: une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. Le

plus souvent l'action des HES est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides. Plusieurs études ont ainsi montré l'apparition de fuites d'ions potassium dans les cellules microbiennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) en contact avec l'HES d'arbre à thé (*tea tree*). Cette fuite de potassium est la toute première preuve de l'existence de lésions irréversibles au niveau de la membrane de la bactérie. Le thymol, le carvacrol, des composants actifs d'huiles essentielles, rendent perméable la membrane des bactéries, un effet précurseur de leur mort. Les HES ont donc bien des propriétés bactéricides (**Zhiri, 2006**).

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (**Zhiri, 2006**).

Chapitre III: Le yaourt

III-1. Introduction

La transformation du lactose en acide lactique a un effet préservateur sur le lait. Le bas pH du lait de culture empêche le développement des bactéries de putréfaction et d'autres organismes nuisibles, prolongeant ainsi la durée de conservation du produit. Le système digestif de certaines personnes est déficient en lactase. Il en résulte que pendant la digestion, le lactose n'est pas transformé en sucre de types plus simples. Ces personnes ne peuvent consommer que de très faibles quantités de lait ordinaire. Elles peuvent toutefois consommer du lait de culture, dans lequel le lactose est déjà en partie transformé par les enzymes bactériennes (**Bylund**, **1995**).

Dans la production de lait de culture, il est nécessaire de créer les meilleures conditions de croissance possibles pour le levain. Celles-ci s'obtiennent par un traitement thermique du lait pour détruire tout micro-organisme rival. En outre, le lait doit être gardé à une température optimale pour le levain. Une fois que l'on a obtenu le meilleur goût et le meilleur arôme possibles, le lait de culture doit être refroidi rapidement pour bloquer le processus de fermentation. Un temps de fermentation trop long ou trop court altérera le goût et la consistance ne sera pas bonne (**Bylund**, **1995**).

■ Les laits fermentés

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

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

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

- plus ou moins écrémée ou enrichie en matière grasse,
- utilisée en état ou dilué ou concentré par différents procédés (chauffage à feu nu ou en vacuum, ultrafiltration, addition de lait en poudre ou de concentrés protéiques pulvérulents tels que caséine ou caséinates);
 - les caractères de la flore lactique et de la flore éventuelle d'accompagnement;
 - > la température d'incubation;
 - > les traitements technologiques;
 - les additifs: sucre, fruits, confitures, arômes naturels, colorants, etc.

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

III-2. Yaourt

III-2-1. Définition

Le yaourt ou yoghourt est le lait fermenté le plus consommé. Il résulte de la fermentation du lait par deux bactéries lactiques thermophiles: *Streprococcus salivarius*, subsp. *thermophilus* (anciennement dénommé *S. thermophilus*), et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (anciennement dénommé *L. bulgaricus*). Cette fermentation conduit à la prise en masse du lait. Le coagulum obtenu est ferme, sans exsudation de lactosérum. Il peut être consommé en l'état ou après brassage lui donnant une consistance crémeuse ou liquide. Il peut aussi être congelé et consommé comme une glace (**Tamime et Robinson,2007**).

La législation de nombreux pays exige que les bactéries du yaourt soient vivantes dans le produit mis en vente. D'autres pays admettent qu'à la suite d'un traitement thermique destiné à améliorer la durée de conservation, le produit ne contienne plus de bactéries vivantes. Cette pratique n'est pas recommandable, car elle modifie les propriétés du yaourt (Rasic et Kurrnann, 1978).

III-2-2. Les bactéries caractéristiques du yaourt

III-2-2-1. Streptococcus thermophilus

Streptococcus 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 au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (**Dellaglio et** al, 1994). Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposées en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C. Son métabolisme est du type homo fermentaire (**Lamoureux**, 2000).

Le rôle principal de *Streptococcus Thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés. Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides

(composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose) (Bergamaier, 2002).

III-2-2-2. Lactobacillus bulgaricus

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

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

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

III-2-3. Qualités du yaourt

III-2-3-1. Aspects physico-chimiques

Le yaourt doit répondre aux caractéristiques suivantes :

- Couleur franche et uniforme ;
- Goût franc et parfum caractéristique ;
- texture homogène (pour le yaourt brassé) et ferme (yaourt étuvé)

(Tamime & Robinson, 2007).

III-2-3-2. Aspects hygiéniques :

Selon la **norme nationale de 1998, N°35 parue au Journal Officiel**, les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène.

Le traitement thermique appliqué sur le lait avant fabrication du yaourt est suffisant pour détruire les micro-organismes non sporulés pathogènes ou non. Leur présence dans le yaourt ne peut êtres que de manière accidentelle. Le pH acide du yaourt le rend hostile aux germes pathogènes, comme pour la plupart des autres germes indésirables. Les levures et les moisissures peuvent se développer dans le yaourt. Ces dernières proviennent principalement de l'air ambiant dont la contamination se situe au stade du conditionnement (Larpent et Bourgeois, 1989).

Partie II

Chapitre I. Matériel et méthode

I. Matériel végétal

I-1Choix des plantes

Les plantes étudiées *Ammoïdes verticillata* et *Thymus ciliatus* ont été choisies essentiellement sur la base de leur intérêt et leur fréquence d'emploi grâce à l'enquête ethnopharmacologique effectuée au cours de cette étude auprès des tradi-thérapeutes, des herboristes et des personnes utilisant ou vendant les plantes médicinales (**Tefiani, 2015**).

I-2Provenance des plantes Ammoïdes verticillata et Thymus ciliatus

La récolte des espèces *Ammoides verticillata Thymus ciliatus* ont été effectuées dans la région de Tlemcen plus précisément au lieu-dit « kerrar » Remchi. Les échantillons soumis à cette étude a été prélevé et traité selon le.

I-3Situation géographique de la zone d'étude

Les principaux facteurs géographiques qui influent de façon significative sur la végétation en Algérie, comme partout ailleurs, sont le climat (précipitations, températures, vents, radiation solaire), le sol et l'altitude. En outre, c'est surtout l'équilibre délicat de ces facteurs qui joue un rôle primordial à la foi dans le développement individuel des plantes et dans leur environnement (**Béniston**, 1984).

La situation géographique de la région de Remchi est représentée dans le **Tableau5**.

<u>Tableau 4</u>: Lieu de récolte de la plante et caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la station de récolte.

Plantes	Sites de	Période de	Parties	Longitude	Latitude	Altitude	Etage
	Collecte	récolte	étudiées			(m)	bioclimatique
A. verticillata	Remchi	Mai - Juin	-Parties	1°10'46"	34°57'59"	390	Subhumide
	(Tlemcen)	2010	aériennes*	O	N		froid
T. ciliatus	Henaya	Mai - Juin	-Parties	1°24′31″	33°54′35″	539	Subhumide
	(Tlemcen)	2010	aériennes*	O	N		froid

Parties aériennes*: Tige, feuille et fleur. N: Nord, O: Ouest, E: Est

Matériel et méthode Page 26



<u>Figure4.</u>: Carte géographique de la station d'étude (Encarta, 2009).

II. Huiles Essentielles

II-1. Procédé d'extraction des HES

La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arôme, cependant comme dans toute méthode d'extraction, les conditions optimales d'utilisation d'une méthode d'extraction dépendent du rendement en HES. Plusieurs paramètres tels que la quantité du matériel végétal, l'état du matériel végétal, la quantité d'eau introduite, la durée de l'extraction,....influent sur le rendement. Il a été vérifié que le rendement diminue fortement, d'une part quand la charge du matériel végétal augmente, et d'autres part quand on introduit une quantité d'eau trop importante (**Boutedjiret, 1990**).

Dans cette étude, on a utilisé la méthode d'extraction d'hydrodistillation. L'extraction des huiles essentielles a été effectuée au niveau du laboratoire pédagogique de plantes médicinales, photochimie et pharmacognosie du département des sciences agronomiques et des forets.

Matériel et méthode Page 27

> Hydrodistillation

100 g de la plante sèche et éventuellement broyée, sont introduits dans un ballon d'un litre en verre à 3 cols, imprégné d'eau distillée, placé au-dessus d'un chauffe ballon et surmonté d'une colonne en verre, celui-ci est relié à un réfrigérant qui communique directement à une ampoule à décanter pour la récupération du distillat. L'ampoule est reliée au ballon par un tuyau en plastique qui permet le retour de l'eau évaporée et condensée au ballon (**Fig. 5**). La durée moyenne de l'extraction est d'environ 3 heures.



Figure5: le montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction des HES

II-2. Conservation des HES

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

II-3. Détermination du rendement en HES

Le rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huiles essentielles obtenue et la masse végétale sèche à traiter (Carré, 1953). Le rendement en huiles essentielles est exprimé par la formule suivante :

 R^{mt} %= $m_1.100/m_0$

R^{mt}: rendement en huiles essentielles exprimé en pourcentage (%);

 M_1 : masse en (g) d'HES;

 M_0 : masse en (g) de la matière végétale traitée ;

Matériel et méthode Page 28

Le poids des huiles essentielles est obtenu par différence de pesée du tube taré sur la balance analytique. Pour la même station, nous avons pratiqué plusieurs extractions.

III. Protocole expérimentale

III-1. Nature et origine des souches

Les souches du ferment lactique nous a été aimablement fournie par la laiterie «Najah » de Maghnia.



<u>Figure 6</u>: ferment lactique (www.farmaline.be)

III-2. Yaourt utilisé

Le yaourt est préparé au laboratoire comme suit : 125 g de poudre de lait entier est dissoute dans un litre d'eau distillée et stérile. À ce lait, 50 g de sucre et 1 g ferment lactique lyophilisé sont additionnés.



Figure 8 : yaourt préparé (photo original)



<u>Figure 7</u>: ingrédients de la préparation du yaourt (Photo original)

III.3. Les microorganismes étudiés

Dans notre projet nous avons étudiés la cinétique antimicrobienne et l'acidité des bactéries du yaourt *Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus* associés aux HES.

III-3-1. Les techniques utilisés

III-3-1-1. La technique de dénombrement des microorganismes

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

Le milieu MRS

La définition et composition de ce milieu de culture est indiquée en annexe n°1

✓ La préparation du milieu

60 g de poudre déshydraté de MRS a été dissoute dans un litre d'eau distillée ou déminéralisée, porté peu à peu à ébullition en agitant constamment jusqu'à dissolution totale

(fig. 9). Verser dans des flacons, et stériliser à l'autoclave, 120 °C pendant 20 minutes.



<u>Figure9</u>: préparation milieu MRS (photo originale)

Le milieu M17:

La définition et composition de ce milieu de culture est indiquée en annexe n°2.

✓ La préparation du milieu

Avec un milieu déshydraté : 57,2 g de poudre déshydraté de M17 a été dissoute dans un litre d'eau distillée ou déminéralisée, porté peu à peu à ébullition en agitant constamment jusqu'à dissolution totale (**fig. 10**). Verser dans des flacons, et stériliser à l'autoclave, 120 °C pendant 20 minutes.



<u>Figure 10</u>: Préparation du milieu M17(photo originale)

✓ Préparation de l'eau physiologique

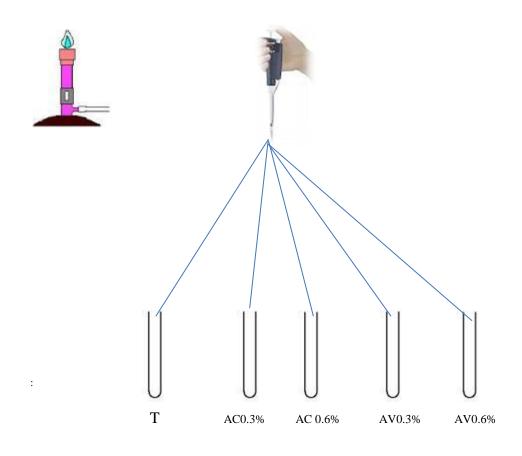
9 g de Hcl a été dissoute dans un litre d'eau distillée ou déminéralisée, porté peu à peu à ébullition en agitant constamment jusqu'à dissolution totale.

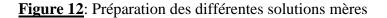


Figure11 : préparation de l'eau physiologique (photo originale)

près la préparation des milieux de culture nous avons coulé ces milieux dans des boîtes de Pétri.

Après la préparation du yaourt et les milieux de cultures. A laide d'une pipette on a pris 20ml du yaourt dans des tubes puis a l'aide de micropipette on a ajoutée deux différentes concentrations (0.3%, 0.6%) d'HES d'Ammoïdes verticillata et de Thymus ciliatus (fig. 12 ;13).







Pour dénombrer sur boite de Pétri une dilution des échantillons (à raison du 1/100ème, 1/100000ème, 1/1000000ème et 1/10000000ème) a été faite dans de l'eau physiologique (**fig. 14 ;15**), 100μL de ces derniers ont été prises pour ensemencer en asepsie des boites (**fig. 16 ;17**) puis l'incubation a été assuré dans l'étuve à la température de 40°C (**fig. 18**). Chacune de ces étapes a été répétée 3 fois.

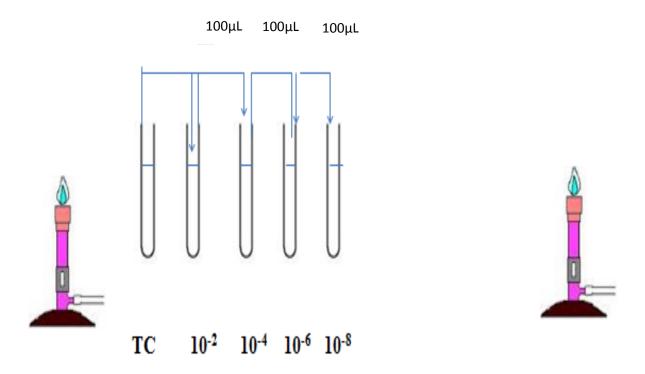


Figure 14: Les différentes dilutions utilisées à partir de la solution mère.

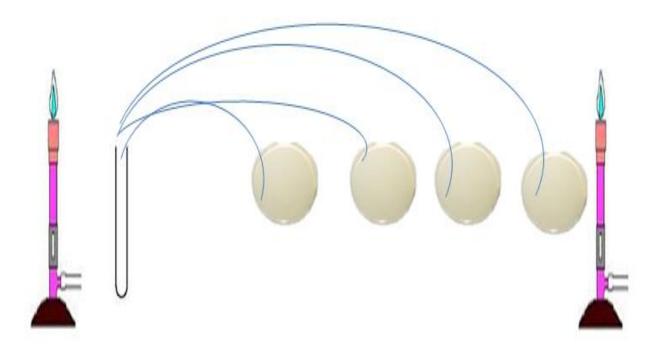


Figure 16 : Remplissage des boites de <pétri par le milieu de culture



Figure 15 : les délutions du yaourt



Figure 13: yaourt associe avec HES



Figure 18 : les boite de pétries incubés



Figure 17 : les boites de pétries coulé

III-1-2. Le suivie de l'acidité du yaourt

Le pH a été déterminé à l'aide d'un pH-mètre étalonné. La valeur est lue directement sur l'écran de l'appareil.

On a suivie le pH de nos tubes chaque 2h jusqu'à 24h.

Chapitre II. Discussion de Résultat

I. Propriétés organoleptiques des HES extraites

L'examen organoleptique des différentes HES a consisté en des tests olfactif et gustatif complétés par une description de l'aspect et de la couleur de ces huiles **tableau 5**

<u>Tableau 5</u>: Caractères organoleptiques des HES étudiées.

Huiles essentielles	Couleur	Aspect	Odeur	Saveur
Ammoides verticillata	Jaune	Liquide (huileuse)	Aromatique	Forte et piquante
Thymus ciliatus ssp. euciliatus	Jaune foncé	Liquide (huileuse)	Aromatique	Forte et piquante

L'odeur d'une HES est un caractère organoleptique déterminant de sa qualité. L'essai olfactif apporté à l'analyse des huiles essentielles est un élément de très grande valeur puisqu'il permet d'en étudier la première caractéristique qu'offre la plante.

Généralement les HES sont des liquides huileux, volatils, caractérisés par une forte odeur, rarement colorés et généralement moins denses que l'eau (Miguel, 2010).

L'arôme de chaque HES est le résultat de la combinaison de tous les constituants, car même les composés minoritaires peuvent jouer un important rôle dans la définition de l'odeur (Sangwan et *al.*, 2001).

Les changements organoleptiques d'un aliment additionné de grandes concentrations d'huiles essentielles, capables d'éliminer la croissance bactérienne, ne sont pas généralement acceptées par le consommateur (Solomakos et al., 2008). Ce constat limite l'utilisation de ces huiles à de faibles concentrations et auxquelles il faudrait associer un autre moyen de conservation comme le froid pour la préservation des denrées alimentaires de l'altération microbienne (Lang & Buchbauer, 2012).

II. Rendement d'extraction des HES des plantes étudiées

II-1. Rendement en HES d'Ammoides verticillata

Dans la présente expérience, le rendement d'extraction des HES de la partie aérienne d'*Ammoides verticillata* est de l'ordre de 2.91% (P/P) et représente 8.08 fois celui rapporté par **Laouer** (2003) (0.36% : P/P) chez la même plante, endémique de la région de Sétif.

D'autres rendements (exprimés en % : P/P) ont été rapportés pour la même plante : 2.51 par Bnouham et al. (2012) dans la région d'Oujda (Maroc), 2 par El Ouariachi et al. (2011; 2015) à Ihfir (Maroc), 2.8 par Khajeh et al. (2004), 2.7 par Bendahou (2007), 3.5 par Chialva et al. (1993), 3.5 à 5.2 par Ashraf & Batty (1975), 4.97 par Kambouche et El-Abed (2003), 2.1 par Hashemi et al. (2014) (Iran) et 2.5 par Nickavar et al., (2014) (Iran).

Les travaux de **Bekhechi et** *al.* (2010) sur la même plante récoltée dans les régions de Tlemcen et d'Ain-Temouchent rapportent des rendements d'extraction en HES qui varient de 2.1 à 5.4%.

Les observations faites, ont servi comme base pour dire que les différences des teneurs en HES d'*Ammoides verticillata* sont étroitement liées aux conditions culturales, tant climatiques ; dispersion géographique, altitude et nature du sol.

Cette interprétation fut avancée par **Bendahou et** *al.* (1997) qui préconisent que l'étude complète des HES doit passer par la prise en compte des facteurs édaphiques et pour l'obtention d'un meilleur rendement, il est nécessaire de :

- Choisir un étage bioclimatique semi-aride, tempéré doux.
- Le sol doit être limoneux-argileux-sableux à texture équilibrée ou argilo-siliceux.
- Procéder à l'extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation.

II-2.Rendement en HES de Thymus ciliatus ssp. eu-ciliatus

L'extraction des HES de nos échantillons de *Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus* par hydrodistillation a fourni un taux de l'ordre de 3% (P/P) ,ce rendement moyen a été calculé en

fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Le résultat obtenu révèle un bon rendement en HES de l'échantillon récolté de la même station.

Ce rendement en HES est beaucoup plus élevé que celui rapporté par **Amarti et al.** (2010) pour la partie aérienne de *Thymus ciliatus* (1.2% : P/P) et identique à celui trouvé par le même auteur chez *Thymus algeriensis* (3% : P/P).

Les rendements obtenus par **Bousmaha-Marroki et al.** (2007), à partir de *Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus* récoltés dans différentes régions de Tlemcen, sont compris entre 3.0 et 5.1% (P/P).

Giordani et al. (2008) rapportent que le rendement en HES des différentes espèces de thym d'Algérie y compris l'espèce *Thymus ciliatus* originaire de Djebel Ansel (Guelma), sont compris entre 2 et 3% (P/P).

Le rendement en HES varie essentiellement selon la nature et l'origine géographique la plante utilisée, ainsi que le matériel et la méthode d'extraction (**Garnero**, **1975**).

Selon **Bounatirou et** *al.* (2007), la différence de rendement en HES peut être due à deux facteurs : la région et la période de collecte, car ces auteurs ont enregistré, en étudiant les huiles essentielles de *Thymus capitatus* Hoffm. et Link, une différence de rendement allant de 1.2 % à 5.6% (P/P) et ceci selon la région et le stade de collecte (végétatif, floraison où postfloraison).

De même, **Kholkhal** (2014) a constaté qu'il y des différences de rendement en HES selon le stade de collecte de la plante, et on enregistré des teneurs de l'ordre de 2% (P/P) avant floraison, 3.40% (P/P) en pleine floraison et de 1.50% à 1.72% (P/P) en post-floraison.

C'est pour cette raison que les connaissances traditionnelles inclues des détails comme la saison durant laquelle des espèces particulières produisent des composés à effets biologiques actifs, quelle parties de la plante renferment ces principes actifs et la région (surtout l'altitude) dans laquelle cette espèce la plus riche en ces composés (**Okunda**, **2002**; **Chandra**, **2004**; **Jagetia et Baliga**, **2005**).

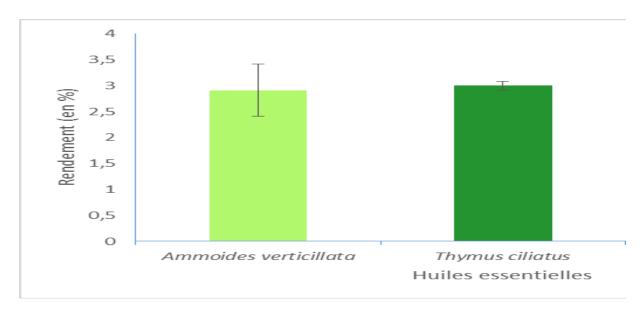
Dans une autre étude sur le même genre, **Elajjouri et al.** (2008) ont constaté que le rendement moyen en huiles essentielles des échantillons de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* était d'environ 2.05 et 1.75% (P/P).

Haddouchi et al. (2009) dans une étude sur *Thymus fontanesii* Boiss et Reut ont enregistré un rendement en HES de 2 % (P/P); par contre **Dob et al** (2006) ont obtenu à partir des tiges et des feuilles de la même espèce végétale un rendement plus faible de l'ordre de 0.9% (P/P).

Dans une étude faite sur différents espèces du genre *Thymus* existant en Algérie, **Hazzit** et al. (2006) ont obtenu des rendements en HES de *Thymus munbyanus*, *Thymus numidicus*, *Thymus guyonii*, et *Thymus pallescens*, respectivement de l'ordre de 1.8, 2.4, 1.5 et 3.7% (P/P).

Dans le même cadre, **Houmani et** *al.* (2002) ont obtenu des rendements allant de 2.2 à 4.0 % (P/P) pour *Thymus willdenowii* et de 1.4 à 4.2 % (P/P) pour *Thymus algeriensis*.

D'après une étude faite par **Burbott et Loomis** (1987), il apparait qu'une longue journée associée à une forte intensité lumineuse et une température élevée favorise la production d'HES. De leur côté, **El-Keltawi et Croteau** (1986a; 1986b) ont montré que les régulateurs génétiques sont responsables de la formation d'HES par un effet direct sur le métabolisme des mono-terpènes et sur les niveaux d'activité des enzymes biosynthétiques.



<u>Figure19</u>: Rendements des huiles essentielles d'*Ammoides verticillta* (■) et *Thymus ciliatus* (■).

II. L'évaluation de L'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des HES d'*Ammoides verticillata* et *Thymus ciliatus* ont été faite sur le yaourt. Les résultats de l'inhibition ou de la croissance des bactéries lactiques sont résumés dans le tableau 6 et les figures 20 et 21.

Tableau 6: la croissance de Lactobacillus bulgaricus.

	TC 0.3%	TC 0.6%	AV 0.3%	AV 0.6%
	-	-	-	-
Viabilité Lactobacillus	-	-	-	-
bulgaricus	-	-	-	-
	-	-	-	-

D'après le tableau 6 on constate qu'il ya eu une inhibition totale des bactéries de *Lactobacillus bulgaricus* cette inhibition s'est traduite par l'abscence de croissance de cette souche lactique.

Juste après la mise en contact des HES (0,3 et 0,6%) avec la souche *S. thermophilus* (t0) on a remarqué que la viabilité de ces dernières ne se comportent pas de la même manière que le témoin car plus la concentration de l'HES de *Thymus ciliatus* utilisée était forte plus la viabilité a été affectée en enregistrant 2.52UFC/ml Avec 0,6% d'HES et 3.20UFC/ml avec 0,3% d'HES comparé au témoin qui a enregistré 3.85 UFC/ml.

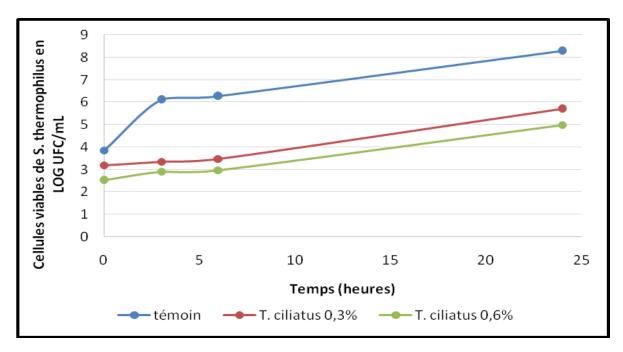


Figure20: Viabilité des cellules de *S. thermophilus* (log UFC/ml) soumises à l'huile essentielle de *Thymus* ciliatus pendant 24h de contact à la température de 40 °C. Témoin : - Culture pure de *S. thermophilus* en absence d'huile essentielle

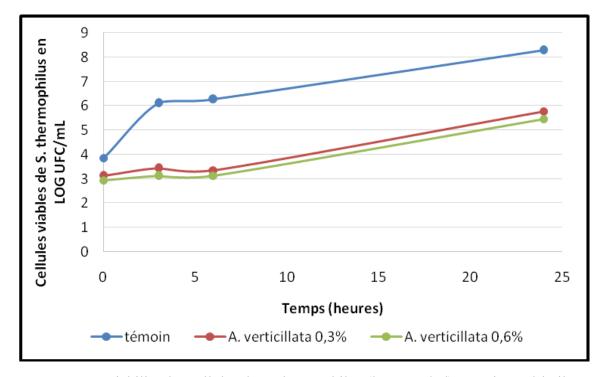


Figure21: Viabilité des cellules de S. thermophilus (log UFC/ml) soumises à l'huile essentielle de *Ammoides verticullata* pendant 24h de contact à la température de 40 °C. Témoin : -Culture pure de S. thermophilus en absence d'huile essentielle

Après 3 h de contact entre les bactéries lactiques et l'HES on a enregistré une croissance médiocre du nombre de cellules de *S. thermophiles* en enregistrant 0.38UFC/ml pour la concentration de 0,6% et 0.15. Pour 0,3% comparée au témoin qui donnée une croissance de 2.25 UFC/ml

A partir de 6h on a observé une élévation régulière pour les 2 concentrations en huiles essentielles ainsi que le témoin.

La différence entre les 2 concentrations (0,3 et 0,6%) de *Thymus ciliatus* et le témoin nous révèlent des différences de croissance respectivement de l'ordre de(2.12 et 2.01UFC/ml.) et 2.02 UFC/ml

Juste après la mise en contact des HES (0,3 et 0,6%) avec la souche *S. thermophilus* (t0) on a remarqué que la viabilité de ces dernières ne se comportent pas de la même manière que le témoin car plus la concentration de l'huile essentielle de *Ammoides verticullata* utilisée était forte plus la viabilité a été affectée en enregistrant 2.93UFC/ml Avec 0,6% d'HES et 3.11UFC/ml avec 0,3% d'HES comparé au témoin qui a enregistré 3.85 UFC/ml.

Après 3 h de contact entre les bactéries lactiques et les HES on a enregistré une croissance médiocre du nombre de cellules de *S. thermophilus* en enregistrant 0.18UFC/ml pour la concentration de 0,6% et 0.31 UFC/ml pour 0,3% d'HES comparée au témoin qui donnée une croissance de 2.25 UFC/ml.

A partir de 6h on a observé une élévation régulière pour les 2 concentrations en huiles essentielles ainsi que le témoin.

La différence entre les 2 concentrations (0,3 et 0,6%) d'Ammoides verticillata et le témoin nous révèlent des différences de croissance respectivement de l'ordre de (2.42 et 2.33UFC/ml.) et 2.02.

III. L'évaluation du l'acidité

L'évaluation de l'acidité de nos HES d'*Ammoides verticillata* et *thyms ciliatus* ont été faite sur le yaourt. Les résultats de l'inhibition ou du ph ont résumés dans le tableau :

Au t0 le pH est neutre 7.15 dans le tube témoin alors que les autres tubes le pH commence a diminué et devenu acide a partir de 8h à 24h (pH 5.12-4.21±0.05-0.35)

On remarque que les valeurs du ph TC 0.3% elles sont identique à t0;t2, et même pour les valeurs du pH TC 0.6%;AV 0.3%; AV 0.6% elles sont identique par rapport aux temps t0;t2 (7.16-7.19±0.01-0.02).

La valeur du pH pour les échantillons au t8 est devenu entre 6.20 et 6.55 ± 0.01 -0.07et après 24 h on remarque q'ila ya une faible acidité du yaourt(5.32- 5.63 ± 0.31 -0.50) para port au témoin.

<u>Tableau 7</u>: les valeurs du pH de yaourt

	t0	t2	t4	t6	t8	t24
Témoin	7.15	6.84	0.03±6.45	6.16±0.07	5.12±0.05	4.21±0.35
Tc 0.3%	0.02 ±7.15	0.01±7.15	0.04±7.19	0.02±7.19	0.03±6.55	0.31±5.32
Tc 0.6%	0.01±7.16	0.02±7.16	0.01±7.18	0.01±7.19	0.01±6.78	0.29±6.68
Av 0.3%	0.02±7.21	0.02±7.21	0.01±7.17	0.01±7.18	0.07±6.20	0.50±5.72
Av 0.6%	0.04±7.18	0.04±7.18	0.01±7.19	0.03±7.19	0.03±6.20	0.50±5.63

Chapitre II. Discussion générale

En accord avec nos résultats plusieurs auteurs dont parmi **Kivanç et al.(1991**) ont constatés qu' a des concentration élevés des HES du Cumin la croissance de *lactobaccillus plantarium* est retardée, par contre les HES d'origan inhibe la croissance de *lactobaccillus plantarium* même a faible concentration.

Dans une autre étude réalisée par **Chouliara et al.** (2007), à 1% d'HES d'origan une forte efficacité s'est manifestée vis-à-vis des bactéries lactiques étudiées (en enregistrant une inhibition dépassant 6 Log UFC) comparée à 0,1% (avec 1,7 log UFC d'inhibition).

Tiwari et Pandey (1981) reportent que les HES et les extraits de toutes les plantes étudiées ont exercés une inhibition des bactéries lactiques par contre Nes et Skjelkvale (1982), ont constaté que les extraits des plantes étudiées dans leurs cas ont stimulés la croissance des bactéries lactiques.

Garcia-Ruiz et *al.* (2012) ont constaté que l'extrait phénolique du thym et d'Eucalyptus exercent un effet inhibiteur sur les *lactobacillus casei* en enregistrant des IC₅₀ respéctivement de l'ordre de 2.92g/l et 0.24g/l.

Zaika et *al.* (1983) ont enregistré une réduction des bactéries lactiques en culture pure de l'ordre de 4 logs UFC après addition de l'huile essentielles d'Origan à raison de 4 g/L.

Dans le travail réalisé par **Hayouni et al.** (2008), *lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* s'est montrée la plus sensible en enregistrant une inhibition totale après trois jours de contact avec 25, 5 et 2,5µl d'huile essentielle de *Melaleuca armillaris*, ce qui concorde avec nos résultats, viens par la suite *lactobacillus casei* avec une absence de croissance après 72heures de contacte avec 25µl d'HES de la même plante étudiée.

Nair et *al.* (2015) ont constaté que l'utilisation du carvacrol à 1% (composé des HES) a exercé une inhibition dépassant 3 log UFC après 14 jours de contacte et que cette inhibition est dose dépendante.

Les HES de cinnamon, cardamon et peppermint, étudiées par **Hadad khodaparast et** *al.* (2007), réduisent les bactéries lactiques dans le yaourt aromatisé par contre les HES d'origan et ses composés inhibent les *lactobacillus plantarium* et *Leuconostoc mesenteroides* dans les milieux liquides.

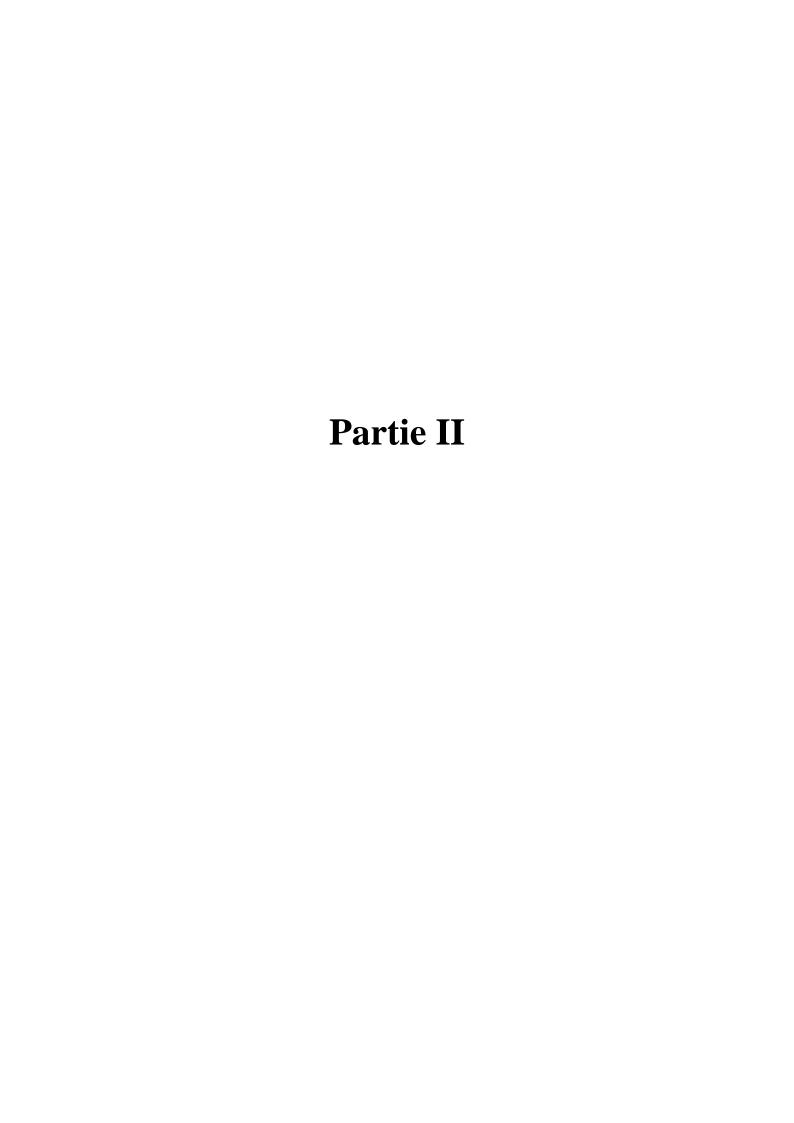
Conclusion

Conclusion

Le présent travail portant sur l'étude des HES d'Ammoides verticillata et Thymus ciliatus associé au HES, nous a permis de tirer des certain conclusions :

D'une part, l'obtention de l'HES par hydrodistillation reste une méthode simple et efficace, et donne un rendement intéressant. Le calcule de rendement moyen en HES de nos plantes nous a révélé une valeur importante comprise entre 3,7 et 1% pour l'*Ammoides verticillata et* 3% pour le *Thymus ciliatu*.

D'autre part, malgré les bienfaits des huiles essentielles, mais il est déconseillé de les mettes au début de la préparation de yaourt parce que ces huiles ont un rôle inhibiteur pour les bactéries lactiques constituant la flores lactique, ces derniers ainsi leur rôle important pour le corps humain on peut les ajouter après la préparation le moment des étapes final à cause de leur gout indésirable ,par conséquent ;il est possible de l'ajouter au yaourt à la fin de la préparation du yaourt brassé.



Références bibliographiques

A

Abdelouahid, D.A.; Bekhechi, C. (2004). Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles *d'Ammoides Verticillata* (Nounkha): *Rev, biologie et santé* 4(2):1-10.

Amarti F. Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. & Chaouch A. (2010). Composition chimique et actvité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus Algeriensis* boiss. Reut. Et *Thymus ciliatus* (desf) Benth. du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 14(1): 141-148.

Ashraf, M.; bhatty, M.K. (1975). Studies on the essential oils of the Pakistan species of the family umbelliferae .1. *Trachyspermum Ammi* (L) .Spargue (Ajowan) seed oil. Pakistan.j.Sci .Ind. Res., p18, 232-235.

B

Badjah, H.A.T. (1987). Extraction, analyse et évolution de la qualité des huiles essentielles des Lavandes Algériennes. Thèse de Magister, faculté des sciences de l'université d'Alger.

Bekhechi C. (2002). Analyse de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* (Nûnkha) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien. *Mémoire de Magister*, option Biologie Moléculaire et Cellulaire, université Abou Bakr Belkaïd.

Bendahou M. (2007). Composition chimique et propriétés bilogiques des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de l'Ouest Algérien. *Thèse de Doctorat d'Etat*, option biochimie, université Abou Bah Belkaïd Tlemcen.

Benhabiles N. (1995). Comparaison des Huiles essentielles de deux espèces Algériennes de romarin : Rosmarinus eryocalyx et Rosmarinus officinalis linne extraction et étude analytique. Thèse de magister, Ecole Nationnale Polytechnique, El HarrachAlger

Beniston N.T. & W.S. Beniston. (1984). Fleurs d'Algérie. – Entreprise Nationale du Livre, Alger: 359 pages.

Benoit B. (2012) -Nomenclature de la flore de la France. Rev Tela Botanica BDNFF v 4.02.

Bnouham M., Benalla W., Asehraou A. & Berrabah M. (2012). Antibacterial activity of essential oil from *Ptychotis verticillata*. *Spatula*, **2(1)**: 69-73.

Bounatirou S., Smiti S., Miguel M. G., Faleiro L., Rejeb M. N., Neffati M., Costa M. M., Figueiredo A. C., Barroso J. G. et Pedro L. G. (2007). Chemical composition, antioxydant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. *Food chemistry*, **105**: 146-155.

Bergamaier D. (2002). Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de lactobacillus rhamnosus RW2959M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de Doctorat, Université de Laval, Canada Fin de la conversation.

Bousmaha-Marroki L., Atik B.F., Tomi F. & Casanova J. (2007). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. ssp. eu-ciliatus Maire from Algeria. *Journal of Essential oil Researh*, **19**(5): 490-493.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie – phytochimie : Plantes médicinales. Tec. Et Doc. Lavoisier

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie- photochimie, plantes médicinales, 2^{em} édition. *Ed. Tec et Doc Lavoisier. Paris*.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie- photochimie, plantes médicinales, 3^{em} édition. *Ed. Tec et Doc Lavoisier. Paris*.

Burbott A. & Loomis P. (1987). Development, oil storage of dehiscence and peltate trichomes in Thymus vulgaris. *Nord J. Bot*, **3:** 245-504.

Bylund G., (1995): Dairy processing handbook. Edition Tetra Pak Processing Systems. Sweden. 436 pages.

 \mathbf{C}

Carrée P. (1953). Précis de technologie et de chimie industrielle. Tome II. Ed. Balliére J. B. et fils. 432 pages.

Chandra S. (2004). Effect of altitude on energy exchange characteristics of some alpine medicinal crops from central Himalayas. *Journal of Agronomy and crop science*,

190 (1):13-20.

Chialva F., Monguzzi F., Manitto P. & Akgul A. (1993). Essential oil constituents of Trachyspermum copticum (L.) fruits. Journal of Essential Oil Research, 5: 105 – 106

Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G.(2007). Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 C. Food Microbiol. 24, 607.

Crespo M.E., Gomis E., Jimenez J et Navarro C., (1991). Special oil of Thymus serpylloides ssp gardorensis.

Croteau.R (1981). Biosyntheses of monoterpenes in biosynthesis of isoprenoid compounds. JW. Porler and SL. Spurgeon. Ed John Wiley, New York: vol 1,225-282.

D

Dellaglio F., De Rossart H., Torrianis S., Curk M. Et Janssens D. (1994). Caractérisation générale des bactéries lactiques. Tec&Doc (Eds), Lorica, 1, 252116. Fin de la conversation

Dob T., Dahmane D., Benabdelkader T. & Chelghoum C. (2006). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii*. *Pharmaceutical Biology*, **44(8):** 607 – 612.

Doleyres Y. (2003). Production en contenue du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse Doctorat. Université de Laval. Quebec. 167 pages.

 \mathbf{E}

El-Keltawi N. E. & Croteau R. (1986a). Influence of ethephon and daminozide on growth and essentiel oil content of peppermint and sage. *Phytochem*, **25:** 1285-1288.

El-Keltawi N. E. & Croteau R. (1986b). Influence of phosphon D and cycocel on growth and essentiel oil content of peppermint. *Phytochem*, **25:** 1603-1606.

El Ouariachi E., Tomi P., Bouyanzer A., Hammouti B., Desjobert J. M., Costa J. & Paolini J. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and solvent extracts of *Ptychotis verticillata* from Morocco. *Food and Chemical Toxicology*,

49: 533–536.

G

García-Ruiz, A., Moreno-Arribas, M. V., Martín-Álvarez, P. J., & Bartolomé, B. (2012). Comparative study of the inhibitory effects of wine polyphenols on the growth of enological lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 145,426e431.

Garnero J., (1975). Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention, du contrôle et de l'étude de la composition des huiles essentielles. *Journée de dermato-pharmacie (Nice)*, 105-126.

Garnéro J. (1991). Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. techn. Encyclo. Me. Nat., (Paris-France), Phytothérapie-Aromathérapie.

Garnier G, Bezanger-Beauquesne L, Debraux G (1961): Ressources medicinales de la flore française, Vol 2, Vigot Freres, Paris, pp. 962–964.

Ghanbari H., Saghravanian N., Zakery M., Mahdavi S. N., Baradaran N. E., Zareian J. M. & Parsaei H. (2008). Histological evaluation of *Curcuma longa-ghee* formulation and hyaluronic acid on gingival healing in dog. *Journal of Ethno pharmacology* **120**: 335-341.

Guenther E., 1950 - The essential oïl origin in plants production analysis (1). *Ed. R.E kreiger,* 1972.

Guiraud Joseph-Pierre (2003): Microbiologie alimentaire. Paris: Dunod: RIA, 614 pages.

Goudarzi Gh-R., Saharkhiz M-J., Sattari M., Zomorodian K. (2011). Antibacterial Activity and Chemical Composition of Ajowan (*Carum copticum* Benth. & Hook) Essential oil .*Rev*, *J. Agr. Sci. Tech.* 13: 203-208.

Grysole, J. (2005). Huiles essentielles: de la plante à la commercialisation- Manuel pratique.140-162.

Guenther, E. (1950). The essential oil origin in plants production analyses (1).

Ed. R.E kreiger, 1972.

Guinochet M. et Vilmorin R. (1975) Flore de France fascicules. Ed. centre national de la recherche scientifique France.

Guinoiseau E. (2010). Molecules antibacteriennes issus d'huiles essentielles : Séparation, identification et mode d'action. Thése doctorat, Universté De Corse-Pasquale paoli.

Η

Hadad Khodaparast M, Mehraban Sangatash M, Karazhyan R, Habibi Najafi MB, Beiraghi Toosi S. (2007). Effect of Essential Oil and Extract of Ziziphora clinopodioides on Yoghurt Starter Culture Activity. World Applied Science Journal 2, 194-197.

Haddouchi F., Lazouni H. A., Meziane A. & Benmansour A.(2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique scienc*, **05(2):** 246-259.

Hashemi M. B., Niakousari M., Saharkhiz M. J. & Eskandari M. H. (2014). Stabilization of sunflower oil with *Carum copticum* Benth & Hook essential oil. *J. Food Sci. Technol.*, **51(1)**: 142–147.

Hatanaka A., Kajiwara T., Sekiya J. (1987): Biosynthesis pathway for C6-aldéhydes formation from linolenic acid in green leaves. Chem phys Lipids. 44, 341-361.

Hayouni EA, Chraief I, Abedrabba M, Bouix M, Leveau JY, Mohammed H, Hamdi M. (2008): Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *Int J Food Microbiol*. 125: 242–251.

Hazzit M., Baaliouamer A., Faleiro M. L., & Miguel M. G. (2006). Composition of the Essential Oils of *Thymus* and *Origanum* Species from Algeria and Their Antioxidant and Antimicrobial Activities. *J. Agric. Food Chem.*, **54:** 6314-6321.

Houmani Z., Azzoudj S., Naxakis G. & Skoula M. (2002). The Essential Oil Composition of Algerian Zaâtar: *Origanum* spp. and *Thymus* spp. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. 9(4): 275-280.

Hui, Y. H., L. Meunier- Goddik, A. S. Hansen, J. Josephsen, W. K. Nip, P. S. Stanfield, F. Tolda (2004): Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology. Marcel Dekker editions. 670 pages.

I

Iserin P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, 2ème ED Larousse.Londres ;

143; p225-226.

J

Journal Officiel. (1998) norme nationale N°35.

K

Kambouche N. & El-Abed D. (2003). Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague from Oran (Algeria). *Journal of Essential Oil Research*, **15:** 10-11.

Khajeh M., **Yamini Y., Sefidkon F. & Bahramifar N.** (2004). Comparison of essential ou composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, **86:** 587-591.

Kholkhal F. (2014). Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp. *coloratus* et ssp. *eu-ciliatus*. Thèse de doctorat en Biologie. *Université de Tlemcen*. 200 pages.

Kivanç, M., A. Akgule and A. Dogan. (1991). Inhibitory and stimulatory effects of cumin, oreganoand their essential oil on growth and acid production of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostocmesenteroides*. Intl. J. Food Microbiol., 13: 81-85.

Jagetia G & Baliga M. (2005). The effect of seasonal variation ou the Antineoplastic activity of *Alstonia scholaris* R.Br.in Hela cells. *Journal of Ethnopharmacology*. **96** (1-2): 37-42.

 \mathbf{L}

Lamoureux L. (2000). Exploitation de l'activité β 2 galactosidase de culture de bifidobacteries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto2oligosaccharides. Mémoire de maitrise, Université de Laval, Canada.

Lang G. et Buchbauer G. (2012). A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragr. J.* **27:** 13–39.

Laouer H., Zerroug M. M., Sahli F., Chaker A. N. Valentini G., Ferretti G., Grande M. & Anaya J. (2003). Composition and Antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. essential oil. *Journal of Essential oil Research*, **15:** 135-138.

Lawrence B. M. (1980). The existance of intraspecific differences in specific genera in the Labiatae family. *Paper presented at VIIIe international congress of essential oils, Cannes*, pp118-123.

Loziane, K.; Vaiciniuene, J.; Venkutoins, P.R. (1998). Chemical composition of the essential oil of irreping thyme *Thymus planta medica*, 64:772-773.

Lucchesi M.E. (2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à extraction des huiles essentielles, thèse de doctorat en sciences, discipline : chimie., université de la Réunion, faculté des sciences et technologies components.fromspices and herbs and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil.*Int. J. Food. Microbiol.* 60 : 219-229.

M

Madi A. (2010): caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Thèse de magister. université de Mentouri Constantine.

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

Marty-Teysset C. De La Torre F. And Garel J-R. (2000). Increased production of hydrogen peroxide by lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus upon aeration:

involvement. Applied and Environmental Microbiology, 66(1), 2622267.

Mekadder, A. (1995). Contribution à l'étude qualitative et quantitative de l'huile essentielle d'*Ammoides Verticillata* (Nounkha) de la région de Tlemcen et de son pouvoir antimicrobien .Mémoire d'ingéniorat, Institue de Biologie, Université de Tlemcen.

Merad R. (1973). Contribution à l'étude qualitative et quantitative de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nounkha) de la région de Tlemcen et de son pouvoir antimicrobien. Mémoire d'Ingériorat, Institut de Biologie, Université de Tlemcen.

Miguel M. G. (2010). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils:

A Short Review. *Molecules*, **15:** 9252-9287.

Millago H., Guisson IP., Naculma O. & Traore A S. (2005). Savoir traditionnel et médicament traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre centre européen de santé humanitaire; Lyon.

N

Nair, D., Sharma, C.S., Nannapaneni, R., Kiess, A., Schilling, W. (2015). Reduction of Salmonella on turkey breast cutlets by plant derived compounds. Foodborne Pathog. Dis. 11, 981 e987.

Narayana C., Wiswanadham R.K., Thirumala Rao S.D. (1968). Recovery of fatty oil from spent seeds of ajowan (*Trachspermum ammi* linn) seeds. Oil technological research institute, Anantapur.

Nes, I.F., and R. Skjelkvale. (1982). Effect of natural spices and oleoresins on Lactobacillus plantarum in the fermentation of dry sausage. J. Food Sci. 47, 1618-1625.

Nickavar B., Adeli A. & Nickavar A. (2014). TLC-Bioautography and GC-MS Analyses for Detection and Identification of Antioxidant Constituents of *Trachyspermum copticum* Essential Oil. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **13(1):** 127-133.

Nicole M. (1996): Aperçu de l'aromathérapie. Info.essence.2 : P 4-5.

Nigram C., Shakum W. & Levi L. (1963). Determination of trace constituents of oil of *Ajowan. Perfumery Essential Oil Record*, **54:** 25 - 28.

O

Okunda A. L. (2002). Ageratum conyzoides.L. (Asteraceae), Fitoterapia.73 (1):1-16.

P

Padrini F., Lucheroni M.T. (1996). Le grand livre des huiles essentielles. Ed. de Vecchi.

Paris M. et Hurabielle M. (1981). Abrégé de matière médicale (pharmacognosie).

Ed. Masson. P339.

Passet J(1979) : La variabilité chimique chez le thym, ses manifestation, sa signification. Parfums, cosmétiques, aromes. 28,39-42.

Peyron L. (2000). Aspect international du marché des plantes aromatiques et médicinales . Annales de la recherche forestière au Maroc, N° spéciale, Casablanca 16 Novembre ,3-14.

Q

Quezel, P.; Santa, S. (1963). Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Ed centre national de la recherche scientifique*.663 p.

R

Richard, H.; Bendjilali, B.; Banquour, N.; Baritaux, O. (1985). Etude de divers huiles essentielles du Thymus du Maroc. Lebensxm-*Wiss. Tec*, 18,105-110.

Rasic, J.L.j., J.A. Kurmann (1978): Yogurt. Scientific Grounds, Technology, Manufacturing and Preparations. Copenhagen, Denmark: Technical Publishing Dairy House, pp 26–99, 297–301.

Roussel Y., Pebay M., Guedon G., Simonet J.P. And Decarisn B. (1994). Physical and genetic map of streptococcus thermophilus A054. Journal of Bacteriology,

176(24), 74132 7422.

Roux., (2008). Conseil en aromathérapie ., 2 ème Edition, pro-officia., p187. Their main components upen Cryptococcus neoformans. Mycopathologia. 128 : p 151-153.

S

Sangwan N.S., Farooqui A. H. A., Shabih F. & Sangwan R. S. (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regul.* 34: 3-21.

Saxelin, M., R. Korpela and A. Mayra-Makinen. (2003): Functional dairy products in: Dairy processing Improving quality. CRC Press LLC. 546 pages.

Schirner M. (2004). Huiles essentielles : description de plus de 200 huiles essentielles et huiles végétales. *Guy Trédaniel*, pp 23.

Solomakos N., Govaris A., Koidis P. & Botsoglou N. (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Science*, **80:** 159–166.

Soto Mendivil E.A., Moreno Rodriguez J.F., Espinosa M.E., Garcia Fajardo J.A., Obledo Vazquez E.N. (2006). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of thymus vulgaris against alternaria citri. e-Gnosis, 4, 1-7.

Sijelmassi, A. (1991). Les plantes médicinales du Maroc. 2^{éme} ed. Le Fennec, 1991.

T

Tamime, **A. Y.**, **R. K. Robinson** (2007): Tamime and Robinson's Yoghurt. Science and technology. Third edition. Woodhead Publishing, CRC Press 791 pages.

Tefiani C. (2015): Les propriétés biologiques des huiles essentielles de *Curcuma longa*, *Ammoides verticillata* et *Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus*. Thèse de Doctorat en sciences de l'université de Mostaganem. 145 pages.

Tiwari, ICP. and Pandey, A. (1981) Effect of some ~tte,Lt_tlal oils on lactic acid bacteria. J. Sci. Res.(Bhopal) 3, 161-163.

V

Valnet.T (1984). Aromathérapie, traitement des maladies par les essences des plantes . Ed Maloine S.A, Paris.

 \mathbf{W}

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

Wehmer, C. (1931). Die Planzehnnostoff; Zweiter Band, 1931.

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

 \mathbf{Z}

Zhiri, A. (2006). Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré.

Ed. Nutra News.16p.

Zyyat, A.; Legssyer, A.; Mekhefi, H.; Dassouli, A.; Serhrouchni, M.; Bendjelloun,W. (1997). Phytotherapy of hypertention and diabets in oriental Morocco;

journal of ethnopharmacology. Elsevier.

Référence web

www.farmaline.be/pharmacie/commander/yalacta-ferment-yaourt-bleu/

ANNEX

Milieux de cultures:

Annex1

> Milieu MRS

Gélose MRSest utilisée pour la culture et le dénombrement des Lactobacilles dans les produits laitiers et les autres produits alimentaires ainsi que dans les produits destinés à l'alimentation animal (Guiraud, 2003).

<u>Tableau</u>: Composition du milieu de culture MRS (Guiraud, 2003):

Constituants	Milieu MRS- gélose (Guiraud, 2003)
Peptone	10g/l
Extrait de viande	10g/l
Extrait de levure	20g/l
Glucose	05g/l
Tween 80(=polysorbate80)	01ml
Tween 80 (=polysorbate80)	02g/l
Acétate de sodium	05g/l
Citrate triammonique	02g/l
Sulfate de magnésium	200mg/l
Sulfate de manganèse	50mg/l
pH	0.6
gélose	15g

Annex2:

Le milieu M17

Le milieu M17 sert pour la culture et la numération des Streptocoques lactiques dans le lait et les produits laitiers, ainsi que pour la caractérisation et la différenciation des Streptocoques lactiques et de leurs bactériophages. Il est également bien adapté pour le dénombrement de *Streptococcus thermophilus* dans les yaourts natures ou arômatisés, brassés ou non, ainsi que dans les yaourts contenant des morceaux de fruits (Guiraud, 2003).

<u>**Tableau**</u>: Composition du milieu de culture M17 (Guiraud, 2003):

Composition	(grammes/litre)
Tryptone	5,0
Peptone de soja	5,0
Infusion de viande	5,0
Extrait de levure	2,5
Acide ascorbique	0,5
Sulfate de magnésium	0,25
Glycérophosphate disodique	19,0
Agar	11,0
рН	$6,9 \pm 0,2$

Résumé

Les huiles essentielles renferment plusieurs constituants qui sont bénéfiques pour le corps humain. Cependant il est difficile de les consommer directement. Pour cette raison on a étudié leurs effet sur vecteur alimentaire tel que le yaourt.

Ce dernier en le préparant, on ajoute l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* et d' *Ammoïdes verticullata* avec des concentrations de 0.3 et 0.6%, pour compter le nombre des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) nous avons utilisé deux milieu de cultures représenté par MRS et M17.En suivant l'activité antimicrobienne à intervalles temporels différents et en même temps nous avons fait le constat du changement de l'acidité par le pH mètre.

Comme déduction définitive, il s'est avéré que les huiles essentielles ont une influence négative sur les bactéries lactique qui à l'origine sont utiles pour le corps humain. Donc, il est déconseillé d'ajouter des huiles essentielles dans la première étape de la préparation du yaourt.

Mots clés : huile essentielle, yaourt, bactéries lactiques, Thymus ciliatus, Ammoïdes verticillata.

Abstrat

Essential oils contain many components whitch are beneficial to the humain dody but it is olifficult to directely consume them.however,we are can consume them indirectelly by adding them to food such as yoghurt.

During the preparation of yoghurt,we have added *verticullata Ammoïdes oil and Ciliatus Thymus* with different quantities 0.3%, 0.6% and to calculate the number of micro-organisms,we have used of an average the cultivation characterized in MRS et M17.then, we have looked into the non –virus movement through different time and at the some time,we have observed as well the change of the rate of acidityby pH metre instrument.

A result, it has been found out that the oils have a negative impact on the lact bacteria which are in the origin useful to the human body, so it is not recommended to add the essential oils in the first phase of the preparation of yoghurt.

Key word :essential oil,yoghurt,lactic bacteria, Thymus ciliatus and Ammoïdes verticillata.

الملخص

تحتوي الزيوت الأساسية على مكونات عديدة تعود بالفائدة على جسم الإنسان،غير انه من الصعب استهلاكها مباشرة و لكن بإمكاننا تناولها بطريقة غير مباشرة و ذلك باضافتها المواد الغدائية كالياوورت . أثناء تحضير الياوورت قمنا باضافة زيت الزعيترة و زيت نبتة نوخة بكمية 0.3 %- 0.6% و لحساب عدد الجسيمات الدقيقة،قمنا باستعمال وسطي زراعة المتمثلين في MRS و MRS و تتبعنا الحركة اللاجرثومية عبر أزمنة مختلفة و في نفس الوقت قمنا بتتبع تغير نسبة الحموضة بواسطة جهاز pH متر .و كنتيجة نهائية تبين لنا أن للزيوت الأساسية تأثير سلبي على الهكتيريا اللبنية و التي هي في الأصل مفيدة لجسم الانسان، اذا لا ينصح بإضافة الزيوت الأساسية في المرحلة الأولى من تحضرير الياوورت.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية،الياوورت،بكتيريا اللبنية،نبتة الزعيترة،نبتة نوخة.