

**Réf :.....**

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Mise au point d'un jus d'orange  
probiotique**

Présenté par :

**GHOUL Billal & HAMAM Oussama**

Soutenu le : **le 16 juillet 2022**

Devant le jury composé de :

Mr BARACHE Nacim	MAB	Promoteur
Mme BENDALI Farida	Pr	Présidente
Mme OUARABI Liza	MAB	Examinatrice

**Année universitaire : 2021 / 2022**

*Tout d'abord, nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant pour nous avoir donné la force et le courage pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier du fond du cœur notre encadrant Dr BARACHE Nacim, pour nous avoir offert les conditions nécessaires, de nous avoir guidé dans l'élaboration de ce travail et contribué largement à sa réalisation avec patience et dynamisme.*

*Nous remercions chaleureusement les membres de jury, dont la présidente Pr BENDALI Farida et l'examinatrice Dr OUARABI Liza qui ont accepté d'évaluer ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier Mr HADJAL Samir, responsable de la section Recherche et Développement au niveau de CEVITAL spa, ainsi que l'ensemble du personnel de l'unité TCHINA d'EL Kseur et les membres du Laboratoire de Microbiologie appliquée (LMA) au sein de l'Université de Bejaia pour leur coopérations.*

*Nos vifs remerciements vont également aux ingénieurs en Recherche et Développement Mr BECHAR Rachid et OUATMANI Toufik, pour leur soutien et encouragements.*

*Nos remerciements vont aussi à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin pour mener à bien ce travail.*

## ***Dédicaces***

*À la mémoire de ma très chère maman, qui nous a quitté très tôt, mais qui est toujours présente dans mon cœur ; j'espère que je serai toujours à la hauteur de ses espérances.*

*À mon cher père qui a toujours été là pour moi ; que Dieu tout puissant te garde et te procure santé, bonheur et longue vie.*

*À mes chères sœurs : Saida, Ilhem, Bouchera et à mes chers frères : Rafik et Abderraouf et à la femme de mon frère : Saida, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, vous protège et vous garde.*

*À L'âme de mon cher ami Redha qui nous a quitté avant l'arrivée de ce jour important dans mon cursus.*

*À mes chers amis Sofiane, Imad, Zoubir, Badis, Oussama, Nasro, Khaled et tous ceux qui m'ont soutenu, merci de faire partie de ma vie.*

*À mon binôme Oussama, je vous remercie pour vos efforts dans ce projet*

*À toutes les personnes qui comptent pour moi, tous ceux qui m'ont donné la force de continuer mon parcours.*

***Billal***

## ***Dédicaces***

*Au nom du bon Dieu tout puissant qui m'a*

*Donné le courage et la patience afin de*

*Réaliser ce travail, que je dédie :*

### ***À MES CHERS PARENTS***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon*

*Respect, mon amour éternel et ma*

*Considération pour les sacrifices que vous*

*Avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*À ma sœur, mon frère et ma belle Wissem.*

*À tous mes amis et camarades.*

***Oussama***

**ABTS:** Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

**COJEK :** Conserves& Jus d'El Kseur

**CMC:** Carboxyméthylcellulose

**DPPH:** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**ENAJUC :**Entreprise Nationale Des Jus& Conserves Alimentaires.

**FAO:** The food and Agriculture Organisation.

**FTAM:** flore totale aérobie mésophile

**JORA:** Journal Officiel de la République Algérienne

**MRS:** Man, Rogosa, Sharpe

**OMS:** Organisation Mondiale de la Santé

**PCA:** Plate Count Agar

**P4 :** jus conserver à 4°C

**P30 :** jus conserver à 30°C

**PP :**Jus pasteuriser deux fois

**SPA:** Société Par Action

**TSE:** Tryptone Sel Eau

**YGC:** Yeast extract Glucose Chloramphenicol

Figure 1 : Revivification de la souche et standardisation de l'inoculum .....	15
Figure 2 : pH mètre (Marque HACH) utilisé pour la mesure du pH.....	17
Figure 3 : Détermination de l'acidité titrable par une burette graduée. ....	18
Figure 4: Refractomètre(ATAGO) utilisé pour la mesure de °Brix. ....	18
Figure 5 : Evolution du pH du jus témoin conservé à 4°C et à 30°C pendant 6 jours de conservation.....	21
Figure 6: Evolution de l'acidité du jus témoin conservé à 4°C et à 30°C pendant 6 jours de conservation.....	22
Figure 7 : Evolution du pH des jus probiotiques (P4°C, P30°C, PP) pendant 9 jours de conservation.à 4°C et à 30°C.....	23
Figure 8 : Evolution de l'acidité titrable des jus probiotique (P4°C, P30°C, PP) pendant 9 jours de conservation à 4°C et à 30°C.....	24
Figure 9 : Suivi de la survie et de la croissance de la souche probiotique <i>L. plantarum</i> dans les jus probiotiques (P4°C, P30°C, PP) pendant 9 jours de conservation à 4°C et à 30°C .....	25
Figure 10 : Evolution du pH des jus probiotiques (P4°C) et le jus témoin pendant 31 jours de conservation à 4°C. ....	27
Figure 11 : Evolution de l'acidité dans le jus probiotique (P4°C) et le jus témoin pendant 31 jours de conservation à 4°C.....	27
Figure 12 : Activité antioxydante (DPPH, ABTS) du jus témoin et du jus probiotique au J21.....	29
Figure 13 : Activité antioxydante (DPPH, ABTS) du jus témoin et du jus probiotique au J31.....	29
Figure 14 : Suivi de la survie et de la croissance de la souche probiotique <i>L. plantarum</i> dans le jus d'orange stocké à 4°C pendant 31 jours.....	30
Figure 15 : Dénombrement de la flore d'altération (FTAM, levures et moisissures) dans le jus témoin et le jus probiotique durant la période de conservation à 4°C.....	31

Tableau II: Composition biochimique du jus d'orange pour 100g (Sharma et <i>al.</i> , 2017).....	5
Tableau III : Degré Brix des deux jus témoins pendant 6 jours de conservation. ....	22
Tableau IV : Degré Brix des trois jus probiotique pendant 9 jours de conservation à 4°C et à 30°C .....	25
Tableau V: Evolution du °Brix du jus probiotique (P4°) et le jus témoins pendant 31 jours de conservation à 4°C. ....	28

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>Synthese bibliographique .....</b>	<b>3</b>
<b>I. Les jus de fruits .....</b>	<b>3</b>
I.1. Généralité .....	3
I.2. Classification des jus de fruits .....	3
I.2.1. Pur jus obtenus à partir de fruits .....	3
I.2.2. Jus de fruits déshydratés .....	3
I.2.3. Nectar de fruits .....	3
I.2.4. Jus à base de concentrés de jus.....	4
I.3. Composition des jus de fruits reconstitué .....	4
I.3.1. Eaux traitées .....	4
I.3.2. Sucre liquide (sirop) .....	4
I.3.3. Concentré de jus de fruits.....	4
I.3.4. Carboxyméthylcellulose (CMC).....	4
I.3.5. Acide citrique .....	4
I.3.6. Acide ascorbique.....	5
I.4. Qualité nutritionnelle d'un jus d'orange .....	5
I.5. Facteurs d'altération des jus .....	6
I.5.1. Altération physico-chimique.....	6
I.5.2. Altération microbienne.....	7
I.5.3. Altération organoleptique .....	7
I.6. Techniques de conservation des jus.....	8
I.6.1. Traitement thermique .....	8
I.6.2. Réfrigération.....	8
I.6.3. Utilisation d'additifs chimiques .....	8
<b>II. PROBIOTIQUES.....</b>	<b>9</b>
II.1. Historique .....	9
II.2. Définition .....	9
II.3. Microorganismes probiotiques .....	10
II.4. Application dans la matrice alimentaire .....	10
II.4.1. Produits fermentés .....	10
II.4.2. Aliments lacto-fermentés d'origine végétale .....	10
<b>III. Jus probiotiques.....</b>	<b>11</b>
III.1. Jus de mangue .....	11
III.2. Jus de pêche.....	11

III.3.	Jus de pomme de cajou .....	11
III.4.	Jus de pomme .....	12
III.5.	Facteurs influencent la survie des probiotiques .....	12
III.5.1.	Facteurs améliorant la survie des probiotiques dans les jus.....	12
III.5.2.	Facteurs inhibant la survie des probiotiques dans les jus.....	13
III.6.	Stabilité et conditions de stockage .....	13
<b>Matriel et Méthodes.....</b>		<b>14</b>
<b>I.</b>	<b>Présentation de l'organisme d'accueil Ceval</b> .....	<b>14</b>
I.1.	Situation géographique de l'organisme d'accueil ( Ceval) .....	14
I.2.	Présentation de l'unité Tchina .....	14
I.3.	Situation géographique de l'unité Tchina .....	14
<b>II.</b>	<b>Préparation du jus probiotique .....</b>	<b>14</b>
II.1.	Production du jus d'orange reconstitué.....	15
II.2.	Revivification de la souche et standardisation.....	15
II.3.	Préparation de l'inoculum .....	16
II.4.	Inoculation du jus d'orange.....	16
<b>III.Analyses physico-chimiques.....</b>		<b>16</b>
III.1	Mesure du pH .....	16
III.2.	Détermination de l'acidité titrable .....	17
III.3.	Détermination du °Brix .....	18
III.4.	Activité antioxydante .....	19
III.4.1.	Préparation de l'extrait de jus.....	19
III.4.2	Piégeage du Radical DPPH.....	19
III.4.3	Piégeage du Radical ABTS.....	19
<b>IV.Analyses microbiologiques.....</b>		<b>20</b>
IV.1.	Préparation des dilutions décimales .....	20
IV.2.	Dénombrement de la Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM) .....	20
IV.3.	Dénombrement de levures et moisissures.....	20
IV.4.	Suivi de la survie de la souche probiotique .....	20
<b>RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>		<b>21</b>
<b>I.</b>	<b>Vérification du barème de traitement thermique.....</b>	<b>21</b>
I.1.	Résultats de l'analyse physico-chimique.....	21

---

I.1.1.	Evolution du pH et de l'acidité .....	21
I.2.	Résultats des analyses microbiologiques .....	23
I.2.1.	Résultats du dénombrement de la flore totale (FTAM) et levures et moisissures .....	23
<b>II.</b>	<b>Suivi des trois processus de mise au point de jus probiotique .....</b>	<b>23</b>
II.1.	Résultats de l'analyse physico-chimique.....	23
II.1.1.	Evolution de pH et de l'acidité titrable .....	23
II.1.2.	Evolution de °Brix.....	24
II.2.	Analyse microbiologique .....	25
II.2.1.	Dénombrement de la flore lactique .....	25
II.2.2.	Dénombrement des levures et moisissures .....	26
<b>III.</b>	<b>Suivi de processus de mise au point de jus probiotique P4°C .....</b>	<b>26</b>
III.1.	Résultats de l'analyse physico-chimique.....	26
III.1.1.	Evolution de pH et acidité .....	26
III.1.2.	Evolution du °Brix .....	28
III.1.3.	Evolution de l'activité antioxydante (DPPH, ABTS) .....	28
III.2.	Résultats des analyses microbiologique.....	30
III.2.1.	Dénombrement de la flore lactique .....	30
III.2.2.	Dénombrement de la flore d'altération (FTAM et levures et moisissures) .....	31
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>.....</b>	<b>33</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>.....</b>	<b>34</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>.....</b>	<b>42</b>

# **Introduction**

## INTRODUCTION

L'état nutritionnel des populations est affecté par une consommation élevée de sucres, de sel, d'acides gras saturés et trans, et une faible consommation de fibres, de vitamines et de minéraux essentiels. Ces habitudes sont les principales causes des maladies chroniques-dégénératives non transmissibles (**Granato et al., 2010**). Par conséquent, pour réduire le risque de telles maladies, il faudrait développer de nouveaux produits alimentaires qui contiennent des substances biologiquement actives tels que les aliments fonctionnels (**Fernandes et al., 2019**). Cependant, conformément à la définition mondiale, l'expression "aliment fonctionnel" est utilisée pour décrire les aliments ou les nutriments dont l'ingestion entraîne des changements physiologiques importants dans l'organisme (**Granato et al., 2010**). Ces aliments fonctionnels jouent un rôle clé dans initiation des habitudes alimentaires saines, en raison des préoccupations croissantes des consommateurs en matière de santé et de l'idée que l'alimentation a une incidence directe sur la santé (**Küster-Boluda et Vidal-Capilla, 2017**).

Les probiotiques sont disponibles dans une variété d'aliments tels que les produits laitiers, les produits à base de fruits et légumes et les compléments alimentaires etc. Parmi ces aliments avec des allégations de santé présumées qui ont été largement promues, les produits laitiers fermentés comme le yaourt, le fromage, les boissons et les desserts sont les véhicules de livraison les plus fréquents des probiotiques, principalement en raison de leurs propriétés nutritionnelles et physico-chimiques spécifiques et de leur capacité tampon à l'égard des conditions acides de l'estomac qui permet aux bactéries probiotiques d'atteindre l'intestin en nombre suffisant pour exercer leur effet thérapeutique. La majorité des produits laitiers probiotiques disponibles sur le marché contiennent des espèces de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* (**Yilmaz-Ersan et al., 2020**). Néanmoins, des inconvénients associés à la consommation de produits laitiers comprenant l'intolérance au lactose, la teneur en cholestérol et les protéines laitières allergènes ont été largement rapportés (**Suri et al., 2019**).

Toutefois, le marché des jus est l'un des marchés de produits les plus innovants dans le secteur de l'alimentation et des boissons, et l'un des segments les plus compétitifs de l'industrie des boissons, Poussé par la prise de conscience et la forte demande des consommateurs pour les produits sains (**Bogue et Sorenson, 2009**). Les jus de fruits font partie de ce que l'on appelle les "boissons du nouvel âge". Actuellement, les boissons naturelles, sans additifs ni conservateurs, dominent le marché des fruits et légumes, et les boissons à base d'ingrédients biologiques gagnent en popularité (**Priyadarshini et Priyadarshini, 2018**).

Les jus de fruits peuvent être d'excellentes matrices alternatives qui véhiculent et permettent la croissance des probiotiques, car ils sont riches en nutriments, en sucres, en fibres et complétés avec des ingrédients antioxydants, comme l'acide ascorbique et les vitamines (**Shah et al., 2010**).

C'est dans ce contexte que le présent travail s'inscrit, visant à maîtriser et à connaître les paramètres qui influencent l'incorporation d'une souche probiotique (*Lactipluntibacillus pluntarum*) dans un jus d'orange reconstitué afin de mettre au point un jus de fruits probiotique en association avec l'unité TCHINA (El-Kseur BÉJAÏA) du groupe Cevital et en collaboration avec l'équipe Recherche et développement.

A cet effet, notre étude se structure de la manière suivante :

- Une partie bibliographique qui comporte trois parties distinctes : Les jus de fruits, les probiotiques et les jus probiotiques.
- Une partie pratique où nous décrivons la méthodologie de sélection, de préparation et d'analyse des échantillons.
- Une partie où nous présentons et discutons nos résultats.
- Enfin une conclusion et des perspectives.

# **Synthèse**

# **bibliographique**

## **I. Les jus de fruits**

### **I.1. Généralité**

Le jus de fruits est le liquide non fermenté, mais fermentescible, tiré de la partie comestible de fruits sains, parvenus au degré de maturation approprié et frais ou de fruits conservés dans de saines conditions par des moyens adaptés et/ou par des traitements de surface post-récolte appliqués conformément aux dispositions pertinentes de la Commission du Codex Alimentarius. Certains jus peuvent être obtenus à partir de fruits comprenant des pépins, graines et peaux qui ne sont pas habituellement incorporés dans le jus, bien que des parties ou composants de pépins, de graines et de peaux impossibles à retirer par des bonnes pratiques de fabrication soient acceptés. Un jus simple est obtenu à partir d'un seul type de fruit. Un jus mélangé est obtenu en mélangeant deux ou plusieurs jus ou jus et purées obtenus à partir de différents types de fruits (**Codex Alimentarius, 2005**).

Les jus de fruits dont la composition est identique à celle des fruits ont un rôle important dans l'alimentation humaine par leur valeur gustative, nutritionnel et thérapeutique très élevées, ils sont une source de sucres, de vitamine C, de minéraux et de fibre. (**Scherer et al., 2012**).

### **I.2. Classification des jus de fruits**

#### **I.2.1. Pur jus obtenus à partir de fruits**

boisson fabriquée à partir de fruits par des procédés mécaniques. Il est fermentescible, mais non fermenté. Il a la couleur, l'arôme et le goût caractéristiques du fruit dont il est issu. Les jus de fruits frais ne subissent généralement pas de traitement thermique (**Hashemi et al., 2017**)

#### **I.2.2. Jus de fruits déshydratés**

Le jus de fruit déshydraté défini comme le produit obtenu à partir de jus de fruit d'une ou plusieurs espèces par l'élimination physique de la quasi-totalité de l'eau de constitution (**Li et al., 2020**).

#### **I.2.3. Nectar de fruits**

C'est le produit obtenu qui n'est pas fermenté mais fermentescible, qui est obtenu par addition d'eau et de sucres à du jus de fruit concentré, à de la pâte de fruit concentrée ou à un mélange de ces produits, et dont la teneur est minimale en jus, éventuellement en purée, à acidité constante minimale Teneur minimale en jus 25 à 50 %.et un acidité de 4 à 9 g/l. (**Hoffmann et al., 2017**)

#### **I.2.4. Jus à base de concentrés de jus**

Le concentré de jus est un produit liquide composé de la même quantité d'eau que le jus extrait lors du processus de concentration (**Rathi et al., 2022**). Il permet de restituer les arômes, les pulpes et les cellules que le jus avait perdus lors de la production, mais uniquement si ces éléments ont été récupérés lors du processus de production (**Oikeh et al., 2016**).

### **I.3. Composition des jus de fruits reconstitué**

#### **I.3.1. Eaux traités**

Les eaux traitées sont le principal constituant de jus de fruits, les jus sont des boissons nutritives et constituent une bonne source d'eau (**Hidalgo et Martín-Marroquín, 2019**), ce qui fait que l'eau représente la plus grande proportion (86%) dans cet aliment (**Silva et al., 2020**).

#### **I.3.2. Sucre liquide (sirop)**

L'application de sirop de sucre en post-récolte ou le stockage de coupes fraîches dans des solutions de jus de fruits appropriées comme additif est une pratique générale. Les sucres jouent un rôle essentiel dans les processus métaboliques complexes des produits frais en tant que sources de carbone et d'énergie (**Wang et al., 2020**).

#### **I.3.3. Concentré de jus de fruits**

Les jus de fruits sont généralement concentrés afin d'améliorer leur stabilité pendant le stockage et de réduire les coûts de manutention, d'emballage et de transport. L'évaporation thermique est la technique la plus utilisée dans la production industrielle de concentrés de jus de fruits. En plus d'une consommation d'énergie élevée, une grande partie des caractéristiques déterminant la qualité du jus frais y compris l'arôme, la couleur, les vitamines et les antioxydants, subissent des altérations remarquables par l'utilisation de températures de fonctionnement élevées (**Onsekizoglu Bagci, 2015**).

#### **I.3.4. Carboxyméthylcellulose (CMC)**

La Carboxyméthyl cellulose (CMC) obtenue à partir du séchage de l'exsudat de la tige des espèces asiatiques d'*Astragalus* et de l'alcali-cellulose, respectivement, c'est un stabilisateur approprié et courant en raison de ses propriétés notamment une viscosité élevée à faible concentration, une bonne suspension, un faible coût, etc (**Arinaitwe et Pawlik, 2014**).

#### **I.3.5. Acide citrique**

L'acide citrique (acide 2-hydroxy-1,2,3-propanetricarboxylique) est un acide tricarboxylique faible naturellement concentré dans les agrumes et principalement présent sous forme d'anion trivalent. L'acide citrique est couramment utilisé comme additif alimentaire pour donner de l'acidité et un goût amer aux aliments et aux boissons (**Penniston et al., 2008**). L'acide citrique pur est

incolore et facilement soluble dans l'eau avec un poids moléculaire de 210,14 g/mol et il est biodégradable (Angumeenal et Venkappayya, 2013).

### I.3.6. Acide ascorbique

Les jus de fruits sont une source importante d'acide ascorbique pour l'Homme. Cependant, l'acide ascorbique des jus de fruits est facilement oxydé et perdu pendant le séjour des jus, à des taux dépendant des conditions de stockage (Kabasakalis, 2000).

### I.4. Qualité nutritionnelle d'un jus d'orange

Le jus d'orange fait partie des jus les plus populaire, c'est un produit complexe qui subit des modifications physiques, chimiques et sensorielles au cours du processus de fabrication. Environ 76 % de la matière sèche hydrosoluble du jus d'orange est composée de glucides et 21 % est constituée de matière organique, d'acides aminés, de sels minéraux, de vitamines et de lipide. Les 3% restants sont constitués d'un grand nombre de composés divers, dont des flavonoïdes, des composés volatils, lipides et des caroténoïdes, etc. Ces composés ont une influence significative sur les propriétés sensorielles de ce produit (Hendrix et Redd, 1995).

**Tableau I:** Composition biochimique du jus d'orange pour 100g (Sharma et al., 2017).

Constituants	Valeurs
Extrait sec	13g
Protéines	0,2g
Lipides	0,2g
Glucides	10g
Valeurs énergétiques	180Kj 40Kcal
Minéraux	380mg
Na+	1,4mg
Ca+	170mg
Vitamines C	15mg
Carotènes	45mg
Acide folique	0,07mg
Vitamine E	0,035mg
Pectines	0,13mg

## I.5. Facteurs d'altération des jus

### I.5.1. Altération physico-chimique

#### ➤ Dégradation de la vitamine C

Le jus d'orange est une bonne source de vitamine C et de composés polyphénoliques, qui peuvent favoriser une bonne santé. La vitamine C est un antioxydant soluble dans l'eau qui est considéré comme l'un des plus importants au monde (**Klimczak et al., 2007**). Cependant, la décomposition de l'acide ascorbique se produit à la fois de manière aérobie et anaérobie et dépend de nombreux facteurs tels que l'oxygène, la chaleur, la lumière, la température et la durée de stockage. L'oxydation de l'acide ascorbique se produit principalement lors du traitement du jus d'agrumes, tandis que sa dégradation anaérobie se produit principalement pendant le stockage. Il a été rapporté que plusieurs produits de décomposition réactifs peuvent se produire lors de la dégradation de la vitamine C et ces composés peuvent se combiner avec des acides aminés, entraînant un processus de brunissement, qui est un autre problème de perte de qualité du jus pendant le stockage (**Burdurlu et al., 2006**).

#### ➤ Le brunissement non enzymatique

Au cours du processus de fabrication, des changements ont lieu dans la structure des produits fruitiers dérivés, et les traitements thermiques au cours des processus de conservation peuvent affecter la qualité des jus et des purées de fruits par des réactions de brunissement non enzymatique. dans les produits à base de fruits peut être inhibée par la réfrigération et par le contrôle de l'activité de l'eau dans les fruits déshydratés. La réaction de Maillard, qui se produit entre les groupes amino et les sucres réducteurs, est la principale cause du brunissement. Cette réaction améliore les caractéristiques sensorielles souhaitables de ces aliments, telles que la couleur, l'arôme et la saveur, mais elle peut aussi avoir des effets secondaires indésirables, car la réaction de Maillard entraîne une perte de la valeur nutritionnelle des aliments. Des études ont également révélé que les produits de la réaction de Maillard ont des propriétés anti oxydantes. La qualité étant très importante dans les produits alimentaires, la détérioration doit être contrôlée pendant le stockage (**Echavarría Vélez et al., 2011**).

#### ➤ Le brunissement enzymatique

Le brunissement enzymatique est le résultat de réactions chimiques rapides. Même la meilleure technologie de traitement ne peut empêcher le brunissement enzymatique pendant le dépulpage et le pressage du jus, à moins que des précautions particulières ne soient prises pour éviter l'oxygène. Le processus de brunissement enzymatique commence par l'oxydation initiale des phénols par l'enzyme polyphénol oxydase en présence d'oxygène. Ces quinones subissent d'autres réactions, catalysées enzymatiquement ou non, qui conduisent finalement à la formation de

pigments de mélanine. Le polyphénol oxydase aide à contribuer aux belles couleurs de certains aliments, comme les pruneaux et les fruits. La principale enzyme responsable de la réaction de brunissement est le polyphénol oxydase ,qui se produit en présence d'oxygène (**Echavarría Vélez et al., 2011**).

### **I.5.2. Altération microbienne**

L'identification et le dosage des différents acides organiques présents dans un jus de fruit sont importants car ils renseignent sur l'authenticité du produit, ainsi que sur les processus d'altération microbiologique que le jus a pu subir (**Saccani et al., 1995**). Les germes présents dans les jus et nectars de fruits proviennent en grande partie du fruit lui-même. Le nombre de micro-organismes dans le jus fraîchement pressé est généralement très élevé : cela dépend de l'état du fruit (propreté, maturité) et du processus d'extraction. D'autres contaminations sont provoquées par le sucre et les sirops, les matériaux et opérations utilisés dans la fabrication (**Perkins et van den Berg, 2009**).

### **I.5.3. Altérations organoleptiques**

#### **➤ Modification du goût**

Le changement de goût est principalement caractérisé par un goût acide. Un goût indésirable peut apparaître lors d'un traitement insalubre et pendant la période de déstockage (**Nout et al., 2003**).

#### **➤ Modification de l'arôme**

L'arôme des aliments est dû à l'irritation des récepteurs de la bouche et des voies nasales par tant d'ingrédients alimentaires. Les molécules odorantes volatiles qui causent les odeurs de nectar telles que les jus de fruits et les esters sont réduites pendant le stockage (**Nout et al., 2003**).

#### **➤ Modification de la couleur**

La couleur est un facteur important dans l'évaluation de la qualité des aliments surtout les jus et les nectars, où une diminution d'intensité correspond à un changement de produit. Ceci est généralement lié à la maturité des fruits utilisés, à la présence de contamination et à de mauvaises conditions de stockage (**Nout et al., 2003**).

## I.6. Techniques de conservation des jus

### I.6.1. Traitement thermique

La pasteurisation thermique est une forme relativement douce de traitement thermique qui est utilisée pour inactiver les micro-organismes relativement sensibles à la chaleur, tels que les bactéries végétatives, les levures et les moisissures, qui sont responsables de la détérioration ou de l'empoisonnement des aliments. En plus de l'inactivation microbiologique, la pasteurisation thermique est utilisée pour inactiver les enzymes des jus de fruits tels que la polyphénoloxydase (PPO), la lipoxygénase (LOX), la peroxydase (POD) et la pectine-méthylestérase (PME), qui sont responsables de la dégradation de la qualité. Ainsi, la durée de conservation des jus de fruits traités thermiquement peut être prolongée de plusieurs mois sans problème de sécurité ni perte importante de qualité à des températures basses ou élevées. Problèmes de sécurité ou de pertes de qualité importantes à basse température ou à température ambiante (**Ağçam et al., 2018**).

### I.6.2. Réfrigération

Le froid arrête ou ralentit l'activité cellulaire, les réactions enzymatiques et le développement des microbes. De ce fait, il prolonge la durée de vie des aliments en limitant leurs modifications. Néanmoins, les éventuels micro-organismes présents ne sont pas détruits et peuvent être réactivés dès qu'une température adéquate est rétablie. La réfrigération est un processus de refroidissement des aliments pour prolonger leur durée de conservation (la température de réfrigération se situe dans les alentours de 0°C à 4°C) (**Manu, 2016**).

### I.6.3. Utilisation d'additifs chimiques

Les additifs chimiques sont efficaces pour prévenir la contamination microbienne et les changements chimiques, qui provoquent la détérioration des aliments, mais ils sont très coûteux et provoquent des troubles de la santé (**Chatterjee et Abraham, 2018**). La teneur en additifs chimiques artificiels dans les produits alimentaires est importante en raison de leur double rôle dans la transformation et la consommation des aliments, à savoir, leur impact positif sur la durée de conservation ou les propriétés sensorielles des produits alimentaires (**Nakonieczna et al., 2016**).

### I.6.4. Fermentation

La fermentation est la méthode la plus ancienne de conservation des aliments. C'est un procédé simple, durable, qui ne fait pas intervenir la chaîne du froid et qu'est réalisable à petite et à grande échelle, ce qui explique que les aliments fermentés peuvent être fabriqués à la fois par l'industrie agroalimentaire. Le procédé technologique de fermentation qui est largement répandu

dans le monde permet d'élaborer des aliments très différents selon les conditions environnementales (température, humidité, etc).le contrôle microbien est nécessaire dans les boissons fermentées afin de maintenir la stabilité du produit pendant le stockage, étant donné que les paramètres physico-chimique sont directement liés à la teneur microbienne (**Erkaya et al., 2015**).

## II. PROBIOTIQUES

### II.1. Historique

La découverte de la relation symbiotique entre l'Homme et les bactéries a conduit à une nouvelle façon de voir les bactéries comme potentiellement bénéfiques, plutôt que pathogènes. Cette conception a été développée principalement grâce aux constatations du chercheur et prix Nobel Elie Metchnikoff en 1907, qu'ayant suggéré que l'ingestion des bactéries lactiques vivantes influençait positivement la microflore intestinale en réduisant dans le tube digestif la population des bactéries pathogènes et les activités toxiques microbiennes, par conséquent, elle induit une réduction des désordres intestinaux, une amélioration d'hygiène digestive, et donc une augmentation de l'espérance de vie (**S. et al., 2020**). Le terme probiotique a été introduit pour la première fois par Lilly et Stillwell en 1965 comme des facteurs dérivés des microorganismes et stimulant la croissance des autres microorganismes (**Gupta et Garg, 2009**). Entre temps, plusieurs travaux se sont développés selon le concept que l'ingestion de microorganismes peut améliorer la santé de l'hôte (**Gibson et al., 2017**). En 1991, Fuller a redéfini les probiotiques comme étant des préparations microbiennes vivantes, utilisées comme additifs alimentaires, ayant une action bénéfique sur l'animal hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale et depuis, plusieurs définitions des probiotiques ont succédé sur la base des nouvelles connaissances de leurs modes d'actions et de leurs effets bénéfiques sur la sante de l'hôte (**Mishra et al., 2018**).

### II.2. Définition

En 2002, lors de la consultation mixte entre l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), une définition officielle des probiotiques a été établie, et ils sont présentés comme «des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité suffisante, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère» (**Silva et al., 2020**). Ces microorganismes généralement sont des cultures mono ou mixtes qui améliorent les propriétés de la microflore indigène, participent en premier lieu à la digestion et influencent le système immunitaire. L'histoire souligne donc, que la définition actuelle pourrait encore évoluer, car les champs de recherche sont nombreux ce qui va permettre une meilleure compréhension des actions de ces probiotiques (**Lebeer et al., 2018**).

### II.3. Microorganismes probiotiques

Les probiotiques sont constitués de bactéries ou de levures naturellement présents chez l'homme, notamment au niveau de la flore digestive. On regroupe les souches utilisées comme probiotiques, trois grands groupes de micro-organismes probiotiques peuvent être distingués, et les bactéries lactiques, les plus représentées. Elles sont capables de digérer le lactose et de le convertir en acide lactique, qui constitue leur principal produit du métabolisme glucidique et diminue le pH environnemental. Elles incluent les genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*; Les bactéries non lactiques comme *Bacillus*, étaient utilisées dans la prévention et le traitement des diarrhées mais, devant l'absence d'essais de leur efficacité, ces bactéries ont été délaissées. Les levures, qui proviennent notamment de la souche *Saccharomyces cerevisiae boulardii* (Abd El-Hack et al., 2020). L'espèce *Lactiplantibacillus plantarum* est l'une des espèces les plus répandues des lactobacilles et elle est largement utilisée dans les technologies liées à l'alimentation. Ce germe présent dans les féculents, les céréales, la viande, les produits laitiers, les légumes, les fruits, les boissons, etc, est tolérant à l'acide est considéré comme un microorganisme sûr (GRAS) (Li et al., 2014).

### II.4. Application dans la matrice alimentaire

#### II.4.1. Produits fermentés

Aujourd'hui des centaines de matrices alimentaires différentes contiennent des probiotiques. L'industrie laitière est le plus grand secteur alimentaire où le plus grand nombre et la plus grande diversité de probiotiques sont utilisés pour améliorer la qualité des produits. Ces dernières années, on observe deux tendances importantes dans l'incorporation de probiotiques dans les produits laitiers :

- la fermentation des produits laitiers en utilisant soit uniquement des probiotiques sélectionnés, soit des souches traditionnelles en combinaison avec des probiotiques ;
- l'incorporation de souches probiotiques dans les matrices alimentaires.

Le lait fermenté et les yaourts sont le plus grand vecteur de probiotiques parmi tous les produits laitiers (Gao et al., 2021).

#### II.4.2. Aliments lacto-fermentés d'origine végétale

Plus récemment, il a été démontré que des souches spécifiques de bactérie lactique produisent une gamme d'autres composés antimicrobiens. Les microorganismes libèrent également des centaines de métabolites qui confèrent des propriétés organoleptiques souhaitables à l'aliment fermenté final. Au cours du XXe siècle, la popularité des aliments fermentés à base de plantes (à l'exclusion du pain, du vin et de la bière) a quelque peu diminué avec l'industrialisation de la production alimentaire, en particulier dans les pays occidentaux. Cependant, depuis 10 à 15 ans, les aliments fermentés à base de plantes font partie des nouvelles tendances alimentaires. Par exemple,

le marché du kéfir était estimé à environ 130 millions de dollars en 2014, alors qu'il était négligeable dans les années 1990. La fermentation permet d'étiqueter l'aliment comme entièrement naturel, permettant le développement de nouveaux aliments inspirés des aliments traditionnels. Par exemple, les boissons fermentées non alcoolisées, telles que le kombucha, présentent des avantages évidents pour les consommateurs à la recherche d'un goût similaire sans effets secondaires de l'alcool (**Bamforth et Cook, 2019**).

### III. Jus probiotiques

Le jus de fruit probiotique est une boisson fonctionnelle pour favoriser une meilleure santé et nutrition et apporte des avantages physiologique au consommateur. Ce boisson est préparée par fermentation avec des microorganismes vivants. (**Nagpal et al., 2012**). Alors qu'à l'origine l'objectif principal de la fermentation était la prolongation de la durée de conservation, les recherches scientifiques ont révélé différents processus impliqués dans la sécurité alimentaire, mais aussi la qualité des aliments et les propriétés organoleptiques. Les microorganismes probiotiques dans les aliments fermentés aident à prévenir la croissance d'agents pathogènes et d'altération soit par exclusion compétitive directe où par la production de composés antimicrobiens (**Beena Divya et al., 2012**). parmi les Différents types de jus de fruits probiotiques nous pouvons citer :

#### III.1. Jus de mangue

La mangue est une source importante d'antioxydants, de vitamines, de minéraux et de fibres alimentaires. Contrairement à de nombreux autres fruits, les mangues ne contiennent aucune protéine allergique et constituent une alternative saine aux produits laitiers pour la probiotification .La probiotification du jus de mangue a été réalisée par quatre bactéries lactiques( *L.acidophilus* , *L. delbrueckii* , *L. plantarum* et *L. casei*) (**Reddy et al., 2015**).

#### III.2. Jus de pêche

Les pêches sont riches de minéraux et de vitamines et contiennent une bonne quantité de sucre. Ils sont riches en composés phytochimiques, en fibres alimentaires et en polyphénols qui procurent des bienfaits pour la santé aux consommateurs..Ex: Le jus de pêche probiotique a été préparé en utilisant trois espèces différentes de bactéries lactique (*L.casei*., *L.delbrueckii* et *L. plantarum*) (**Hosseinpour et al., 2019**).

#### III.3. Jus de pomme de cajou

La pomme de cajou est un pseudo-fruit et c'est la partie de l'arbre qui la relie à la noix de cajou, le vrai fruit de l'arbre, elle est très populaire et très consommée sous forme de boisson et de jus concentré. La pomme de cajou est riche en fructose, glucose, minéraux, plusieurs acides aminés et est considérée comme un bon antioxydant avec une teneur élevée en acide ascorbique et en

phénols. Ex :Le jus de pomme de cajou probiotique est préparé en utilisant l'espèce *L. casei* avec une température de fermentation de 30°C et un pH initial de 6,4 (**Prommajak et al., 2014**).

#### **III.4.Jus de pomme**

La pomme, le fruit du pommier est largement cultivé et consommé est considéré comme une bonne source de fibre et un bon antioxydant, elle contribue à prévenir le risque de maladies cardiovasculaires, de diabète et d'obésité et certains cancers.Ex : Le jus de pomme probiotique est préparé en utilisant l'espèce *L.casei* (**de Souza Neves Ellendersen et al., 2012**).

#### **III.5.Facteurs influencent la survie des probiotiques**

La viabilité de bactéries probiotiques dépend des souches utilisées, l'interaction entre les espèces présentes, la production de peroxyde d'hydrogène par le métabolisme bactérien, les composants de la matrice alimentaire et l'acidité finale du produit (**Lebaka et al., 2018**).

##### **III.5.I.Facteurs améliorant la survie des probiotiques dans les jus**

Différents auteurs ont proposé des stratégies efficaces pour améliorer la survie des probiotiques dans les jus ; dans cette section, l'accent est mis sur quelques études de cas traitant de solutions intéressantes.

##### ➤ **Enrichissement avec des prébiotiques**

Un moyen facile d'améliorer la stabilité des probiotiques dans les jus de fruits pourrait être l'enrichissement du jus avec certains prébiotiques (fibres alimentaires, cellulose) ou avec certains ingrédients capables d'exercer un effet protecteur. (**Puligundla et al., 2020**).

##### ➤ **Adaptation et Induction de résistance**

L'exposition des probiotiques à un stress sub-létal pouvait induire une sorte de résistance et une réponse adaptative au stress (**Gobbetti et al., 2010**).

##### ➤ **Conservation sous réfrigération et utilisation d'antioxydants**

La viabilité des bactéries probiotiques dans les jus est négativement liée à la température de stockage, car la réfrigération pourrait assurer une survie plus longue, alors qu'un abus thermique pourrait montrer un effet néfaste (**Sohail et al., 2012**).

##### ➤ **Micro-encapsulation**

Des technologies de micro-encapsulation ont été conçues et appliquées avec succès à l'aide de différentes matrices pour protéger les cellules bactériennes des dommages causés par l'environnement extérieur. Plusieurs études ont rapporté que la micro-encapsulation pourrait fournir un environnement anaérobie plus favorable aux bactéries probiotiques sensibles, ainsi qu'une barrière physique contre les conditions acides dures du jus de fruit (**Homayouni et al., 2008**).

### III.5.2.Facteurs inhibant la survie des probiotiques dans les jus

Certains facteurs importants pourraient limiter la survie des probiotiques dans les jus :

➤ **Paramètres alimentaires**

Le pH, acidité titrable, oxygène moléculaire, activité de l'eau, présence de sel, de sucre et de produits chimiques, comme le peroxyde d'hydrogène, les bactériocines, les arômes et colorants artificiels (**Tripathi and Giri, 2014**).

➤ **Paramètres de traitement**

Traitement thermique, température d'incubation, vitesse de refroidissement, matériaux d'emballage et méthodes de stockage, niveaux d'oxygène, volume(**Tripathi and Giri, 2014**).

➤ **Paramètres microbiologiques**

Les caractéristiques de la souche probiotique, taux et proportion d'inoculation (**Tripathi and Giri, 2014**).

### III.6.Stabilité et conditions de stockage

Le nombre adéquat de micro-organismes probiotiques au moment de la consommation est un défi, car les conditions de stockage affectent la viabilité des organismes probiotiques (**Tripathi et Giri, 2014**). Les additifs alimentaires et les ingrédients tels que les sucres, les édulcorants, les sels, les composés aromatiques, les colorants naturels ou artificiels, les composés aromatisants naturels ou artificiels, les conservateurs acides, les enzymes et les nitrites peuvent inhiber la croissance des probiotiques (**Vinderola et al., 2002**). Les *Lactobacillus* sont généralement des organismes probiotiques plus robustes que *Bifidobacterium* et peuvent survivre dans des conditions difficiles de stockage et de transformation (**Sheehan et al., 2007**). Les lactobacilles sont résistants aux faibles pH et sont donc technologiquement adaptés aux applications alimentaires par rapport aux autres organismes probiotiques (**Gunyakti et Asan-Ozusaglam, 2019**).

# **Partie pratique**

## **Matériel & méthodes**

Notre travail de production et de suivi de jus probiotique a été réalisé en partie au niveau de l'unité d'ELKSEUR «Tchina», du laboratoire commun d'analyses physico-chimique et microbiologique au sein de la direction recherche et développement (R&D) du groupe Cevital, ainsi qu'au laboratoire de microbiologie appliquée (LMA, Université de Béjaïa).

## **I. Présentation de l'organisme d'accueil Cevital**

Cevital est le conglomérat le plus important en Algérie par son poids économique, son effectif, sa diversification, mais surtout son développement international. Cevital, c'est une société créée en 1998, sous forme juridique d'une société par action (SPA) dont les actionnaires principaux sont Mr. REBRAB Et FILS. Elle est l'un des investisseurs de l'industrie agroalimentaire les plus importants en Algérie. Cevital est constituée de plusieurs unités de production et équipée de la dernière technologie, son expansion et son développement font d'elle un important pourvoyeur d'emplois et de richesses.(Wikipédia)

### **I.1.Situation géographique de l'organisme d'accueil ( Cevial)**

Le complexe Cevital est implanté au niveau du quai du port de Bejaia, à 3 km sud-ouest de la ville, à proximité de RN° 26. Cette situation géographique de l'entreprise lui profite bien, étant donné qu'elle lui confère l'avantage de la proximité économique. En effet, elle se situe à proximité du port et de l'aéroport de Bejaia. Elle occupe une place stratégique qui lui permet de faciliter les relations avec son environnement extérieur. .(Wikipédia)

### **I.2.Présentation de l'unité Tchina**

Une unité de production de jus de fruits de Tchina, ex COJEK a été mise en exploitation en 1978 sous l'égide de SOGEDIA puis reprise, après restauration, par ENAJUC en 1982. Elle a été acquise par cevital auprès de l'entreprise UNAJUC, par cession d'actifs au mois de novembre 2006.

### **I.3.Situation géographique de l'unité Tchina**

L'unité « Tchina » est située dans la commune d'El Kseur, dans la zone d'activité a 25KM de bejaia, Elle est implantée dans une région a vocation agricole a 200m de la route nationale R26 liant Alger-Bejaia. Tous ces caractères lui confèrent un emplacement stratégique favorable facilitant l'opération d'approvisionnement et de distribution des produits.

## **II. Préparation du jus probiotique**

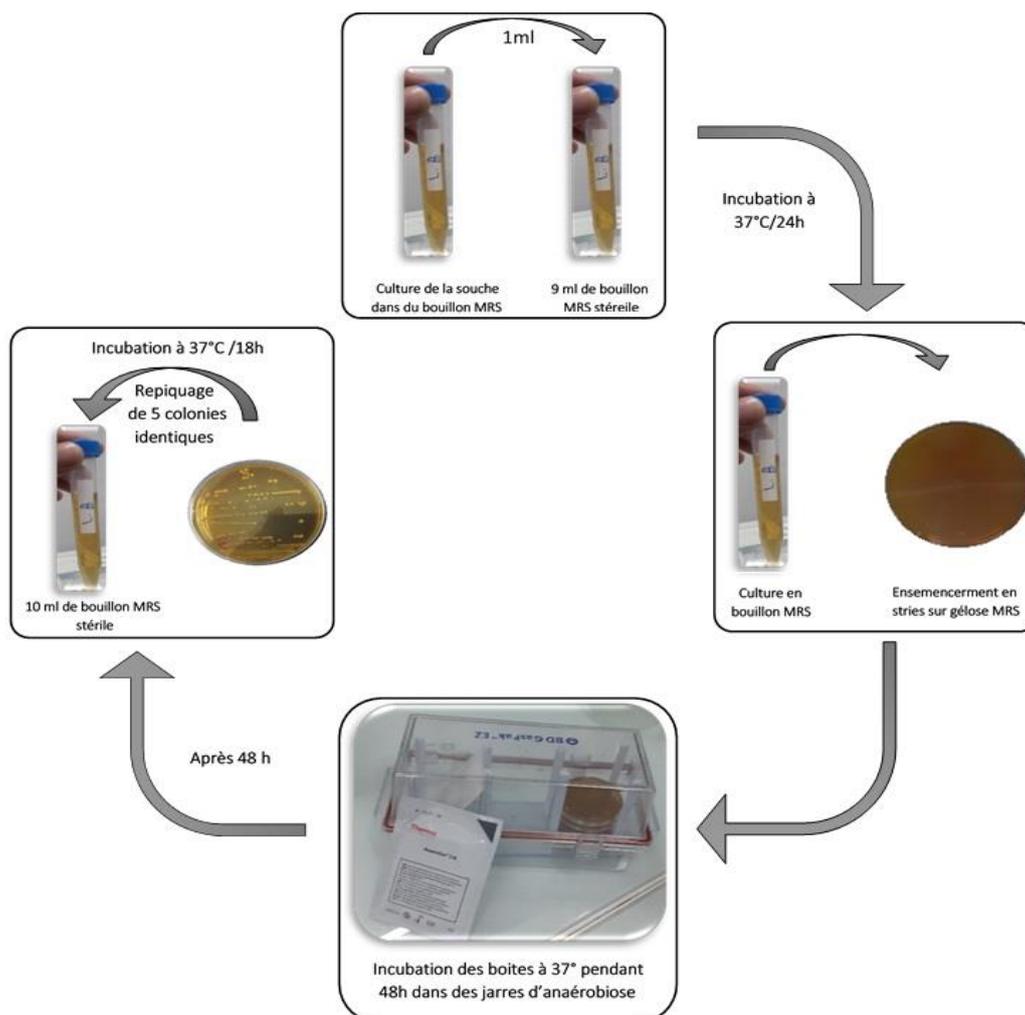
Ce travail a été réalisé grâce aux différents essais de mise au point d'un jus de fruits probiotique par l'utilisation de la souche de *Lactiplantibacillus plantarum* qui fait partie de la collection microbienne de laboratoire Microbiologique Appliqué (LMA, Université de Béjaïa), Cette souche est incorporer dans un jus d'orange préparé au niveau de l'unité Tchina.

## II.1. Production du jus d'orange reconstitué

Le jus a été préparé selon la recette du jus d'orange Tchina commercialisé, sans pour autant ajouter les conservateurs chimiques et sans apport d'acide citrique. Une fois que le jus a été réparti dans des flacons de 200 ml à des volumes différents selon son utilisation en cours de l'étude, un traitement thermique a été appliqué à 95°C pendant 20 mn, les paramètres physico-chimiques et microbiologiques du jus ont été vérifiés avec traitement.

## II.2. Revivification de la souche et standardisation de l'inoculum

Cette étape consiste à revivifier la souche *L. plantarum* qui a été conservée dans un bouillon MRS additionné de 20% (v/v) du glycérol, cette dernière a été revivifiée par un ensemencement bouillon/bouillon dans un 9 ml de bouillon MRS et incubation à 37°C/24h. Après incubation, la culture en bouillon a été ensemencé en striés sur gélose MRS, Les boites ont été incubées a 37°C pendant 48h dans une jarre d'anaérobiose. Ensuite, 5 colonies identiques ont été ensemencées dans 10 ml de bouillon MRS pour obtenir une charge de  $10^9$  UFC/ml après une incubation pendant 18h à 37°C.



**Figure 1:** Revivification de la souche et standardisation de l'inoculum

### II.3. Préparation de l'inoculum

Après l'incubation à 37 °C pendant 18h, 1 ml de la suspension a été pipeté et reparti dans des falcons de 15ml, et ces derniers ont été centrifugés à 8000g pendant 10 min à 4°C. Le surnageant a été éliminé tandis que le culot a été lavé deux fois avec une solution TSE, cette solution de lavage a été éliminée à son tour par centrifugation et le culot a été resuspendu dans 9 ml de jus d'orange préparé et pasteurisé au préalable.

### II.4. Inoculation du jus d'orange

Des flacons de 90 ml de jus pasteurisé ont été inoculés ou pas par la souche *L. plantarum* afin de réaliser les protocoles suivants :

➤ **Fermentation continue (P30°C)**

Les flacons de 90 ml de jus d'orange pasteurisés ont été inoculés avec la souche *L. plantarum* à une charge de  $10^3$  UFC/ml et incubés à 37 °C pendant 6h, par la suite ils ont été reincubés à 30 °C.

➤ **Fermentation stoppée par réfrigération (P4°C)**

Les flacons de 90 ml de jus d'orange pasteurisés ont été inoculés avec la souche *L. plantarum* à une charge de  $10^7$  UFC/ml et incubés à 37 °C pendant 6h, et ensuite ils ont été stockés à 4 °C.

➤ **Fermentation stoppée par traitement thermique (PP)**

Les flacons de 90 ml de jus d'orange pasteurisés ont été inoculés avec la souche *L. plantarum* à une charge de  $10^7$  UFC/ml et incubés à 37 °C pendant 6h, ensuite ils ont été pasteurisés une deuxième fois pour inhiber la croissance de la souche probiotique et reincubés à 30 °C.

## III. Analyses physico-chimiques

### III.1. Mesure du pH

Le potentiel hydrogène (pH) est mesuré à l'aide d'un pH-mètre «Marque HACH». L'électrode du pH-mètre, préalablement étalonné, et rincé avec de l'eau distillée, puis directement introduit dans l'échantillon du fromage. La valeur de pH de l'échantillon est obtenue par simple lecture sur l'écran de l'appareil.



**Figure 2 :** pH mètre (Marque HACH) utilisé pour la mesure du pH

### III.2.Détermination de l'acidité titrable

Le titrage de l'acide lactique se fait par une solution l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 0,1N en présence de quelque goutte de phénophtaléine comme indicateur coloré (**Zhang et al., 2016**).

10 ml du jus ont été prélevés dans un erlenmeyer, titré par la solution du NaOH jusqu'au virage de la couleur vers le rose.

L'acidité titrable (AT) est exprimée en gramme par litre de jus est obtenue selon la formule suivante :

$$AT (g/L) = V \times 0.64$$

V : volume de NaOH utilisé

0,64 : coefficient d'acidité (Acide citrique)

0,9 : coefficient d'acidité (à partir de T6)



**Figure 3 :** Détermination de l'acidité titrable par une burette graduée.

### III.3.Détermination du °Brix

L'indice réfraction ou degré Brix détermine le taux de matières sèches solubles dans le jus. Cet indice est mesuré à l'aide d'un refractomètre, les résultats sont exprimés en degré Brix (**Wee et al., 2019**). Pour mesurer cet indice, un petit volume de jus a été mis sur la plaque du refractomètre préalablement nettoyé avec l'eau distillée et séché à l'aide d'un papier absorbant, l'appuie sur un bouton permet le démarrage de la mesure et la valeur est indiquée sur le refractomètre.



**Figure 4:** Refractomètre(ATAGO) utilisé pour la mesure de °Brix.

### III.4. Activité antioxydante

#### III.4.1. Préparation de l'extrait de jus

Un volume de 30 ml de jus fermenté ou jus non fermenté a été mélangé à 60 ml de méthanol et mis sous sonication pendant 30 min à 40 °C, le mélange a été centrifugé à 8000xg pendant 10 min pour obtenir les surnageants qui ont été filtrés à travers d'un filtre hydrophile de 0.45 µm, et utilisés comme extraits pour déterminer l'activité de piégeage des radicaux DPPH et ABTS (Purkiewicz et al., 2020).

#### III.4.2. Piégeage du Radical DPPH

1 ml d'extrait de jus est mélangé avec 2 ml de solution méthanolique de DPPH (0,045 mg/ml). L'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, après avoir maintenu le mélange dans l'obscurité pendant 30 minutes. La capacité de piégeage des radicaux (RSA) est exprimée en termes de pourcentage d'inhibition du DPPH en utilisant la formule suivante :

$$\text{DPPH RSA (\%)} = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100$$

A<sub>0</sub> : est l'absorbance de la solution de radicaux DPPH sans échantillon

A<sub>s</sub> : est l'absorbance de l'échantillon

#### III.4.3. Piégeage du Radical ABTS

L'activité de piégeage des radicaux ABTS du jus est mesurée par le test de décoloration des cations ABTS avec de légères modifications. Le cation radical ABTS (ABTS•+) est produit par réaction d'une solution d'ABTS 7 mM avec du persulfate de potassium 2,45 mM. Le mélange est mis dans l'obscurité pendant 12 h à température ambiante avant utilisation. La solution ABTS•+ est diluée avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0,70 ± 0,02 à 734 nm. Ensuite, 300 µL d'extrait de jus est mis à réagir avec 5 ml de la solution ABTS•+ diluée et l'absorbance est mesurée sur un spectrophotomètre ultraviolet à 734 nm après 6 min. Le RSA est exprimé en termes de pourcentage d'inhibition de l'ABTS à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{ABTS RSA (\%)} = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100$$

A<sub>0</sub> : l'absorbance de la solution de radicaux ABTS sans échantillon.

A<sub>s</sub> : l'absorbance de l'échantillon.

## IV. AnalyseS microbiologiques

### IV.1. Préparation des dilutions décimales

A partir de chaque flacon de jus préparé (fermenté ou non fermenté) considéré comme solution mère, 1 ml de jus a été prélevé et homogénéisé dans 9 ml d'une solution TSE (Tryptone Sel Eau), cette suspension correspond à la dilution  $10^{-1}$ . A partir de cette solution, des dilutions décimales ont été effectuées en allant de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-10}$ .

### IV.2. Dénombrement de la Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM)

Le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) est effectué sur gélose PCA (Plate Count Agar). 1ml de chaque dilution décimale allant de la SM à  $10^{-5}$  est ensemencé en masse en utilisant la gélose PCA à raison de deux boîtes par dilution. L'incubation est réalisée pendant 72h à 30°C. 1 ml de la solution TSE a été ensemencé dans les mêmes conditions précédente et considéré comme témoins négatif. Le résultat de dénombrement des boîtes retenues sont exprimés selon la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma \text{ colonies}}{(n1 + 0.1n2) D}$$

**N** : nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit.

**$\Sigma$  colonies** : somme des colonies des boîtes retenues.

**n1** : nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue.

**n2** : nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue.

**D** : facteur de la première dilution retenue.

### IV.3. Dénombrement des levures et moisissures

1 ml de la solution mère et des dilutions  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$  a été ensemencé en masse sur gélose YGC (Yeast extract Glucose Chloramphenicol) à raison de deux boîtes par dilution. L'incubation a été faite à 25°C pendant 5 jours.

### IV.4. Suivi de la survie de la souche probiotique

1ml de la dilution  $10^{-3}$  à  $10^{-10}$  a été ensemencé en masse sur gélose MRS (Man, Rogosa, Sharpe) à raison de deux boîtes par dilution. L'incubation a été faite à 37°C pendant 48h.

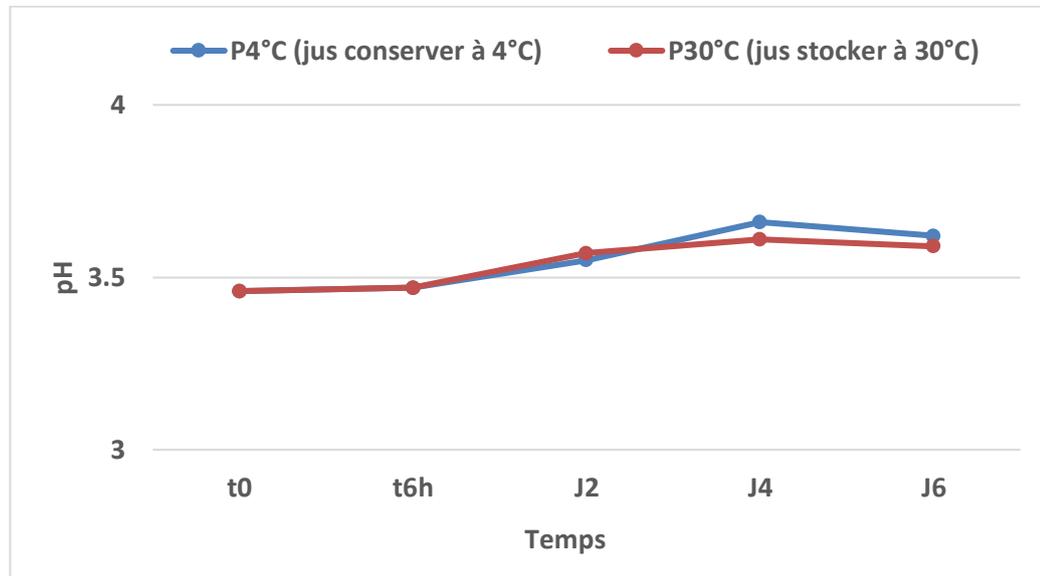
# **Résultats et discussion**

## I. Vérification du barème de traitement thermique

### I.I. Résultats de l'analyse physico-chimique

- Evolution du pH et de l'acidité

Les valeurs du pH enregistrées au cours de conservation à 4°C et à 30°C du jus non ensemencé (témoin), sont regroupées dans la figure ci-dessous :

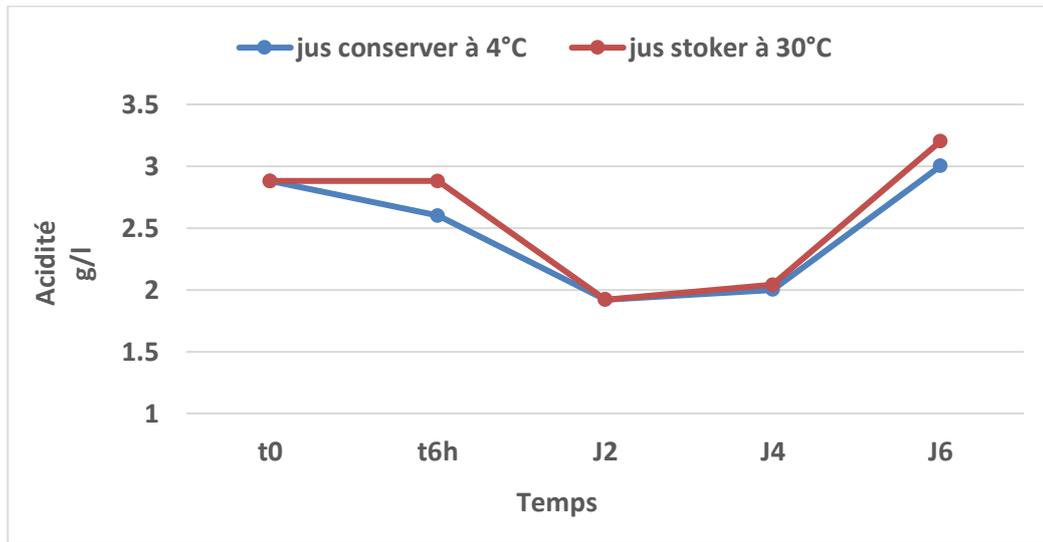


**Figure 5 :** Evolution du pH du jus témoin conservé à 4°C et à 30°C pendant 6 jours de conservation.

Les résultats révèlent une légère variation de 3.46 jusqu'au 3,62 pour le jus témoin conservé à 4°C et de 3,46 jusqu'au 3.59 pour le jus conservé à 30°C, au bout de 6 jours de conservation. Ces valeurs obtenues sont proches de celles du jus de fruit d'orange non fermenté (Nawaz et al., 2021), la variation du pH du jus non ensemencé lors de la conservation à 4°C, et l'incubation à 30°C pendant 6 jours n'a pas présenté de changement ce qui nous renseigne sur la qualité microbologique du jus car le changement du pH peut être expliqué par une prolifération microbienne (Ratzke et Gore, 2018).

Concernant, l'acidité a été suivie au cours de la conservation, les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 6

Les résultats obtenus de l'acidité titrable du jus étudié, montrent une stabilité de l'acidité pendant la période de conservation pour les deux jus conservés à 4°C à 30°C, avec les mêmes valeurs, ces valeurs sont très proches de celles rapportées par Julian et al., (2021). L'acidité est en relation étroite avec le pH, elle peut être due essentiellement à l'ajout de l'acide citrique et ascorbique (Able et al., 2018).



**Figure 6:** Evolution de l’acidité du jus témoin conservé à 4°C et à 30°C pendant 6 jours de conservation.

• **Evolution du °Brix**

Les résultats de la détermination du degré Brix de deux jus (P4°C et P30°C) sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau II :** Degré Brix des deux jus témoins pendant 6 jours de conservation.

Temps	t0h	t6h	J2	J4	J6
°Brix P4°C	11,30	11,10	11,53	11,53	11,55
°Brix P30°C	11,30	11,10	11,50	11,51	11,55

Les résultats obtenus montrent que les valeurs du °Brix sont comprises entre 11,10 et 11,55 pour les deux jus témoins tout au long de la période de conservation, les valeurs indiquées par le °Brix elle reflètent essentiellement les sucres, il convient de rappeler que ces derniers constituent la fraction majoritaire des matières solubles présentes initialement dans le jus d’orange (Wibowo et al., 2015).

## I.2. Résultats des analyses microbiologiques

- **Résultats du dénombrement de la flore totale (FTAM) et levures et moisissures**

Les résultats obtenus du dénombrement de la FTAM et des levures et moisissures du jus témoin (jus nonensemencé), conservé à 4°C et 30°C, montrent une absence de ces deux flores microbiennes dans notre jus pendant 6 jours, ceci confirme l'efficacité du traitement thermique (95°C/20min) effectué, qui a probablement inhibé la prolifération microbienne initiale pendant cette période.

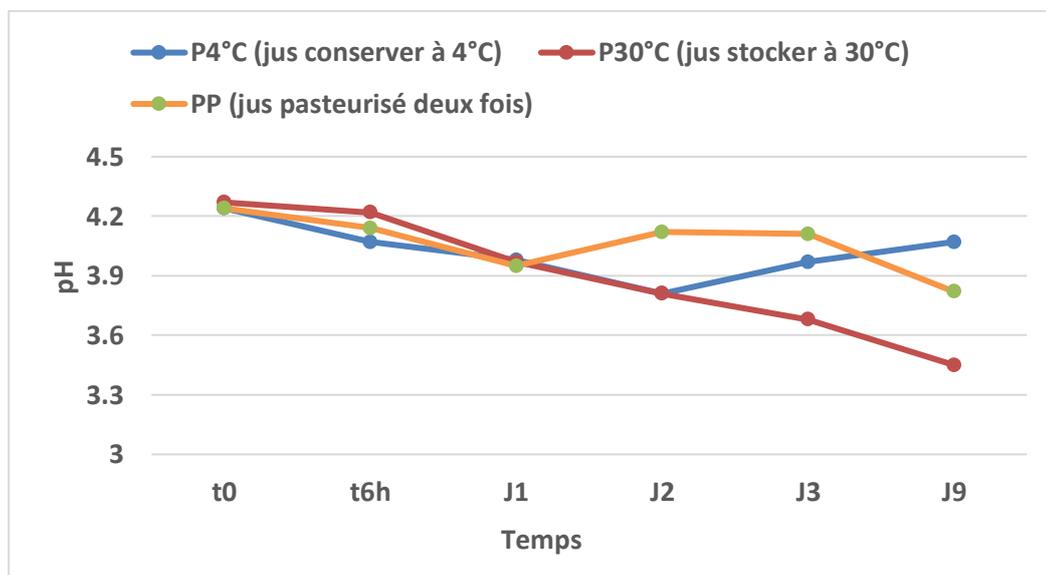
L'absence de la FTAM et des levures et moisissures dans le jus est favorable pour le développement de la souche probiotique dans le jus d'orange et pour le déroulement de la fermentation (Dahal et al., 2020).

## II. Suivi des trois processus de mise au point de jus probiotique

### II.1. Résultats de l'analyse physico-chimique

- **Evolution de pH et de l'acidité titrable**

Les résultats du pH des trois jus probiotiques (P4°C, P30°C, PP) sont représentés dans la figure suivante :

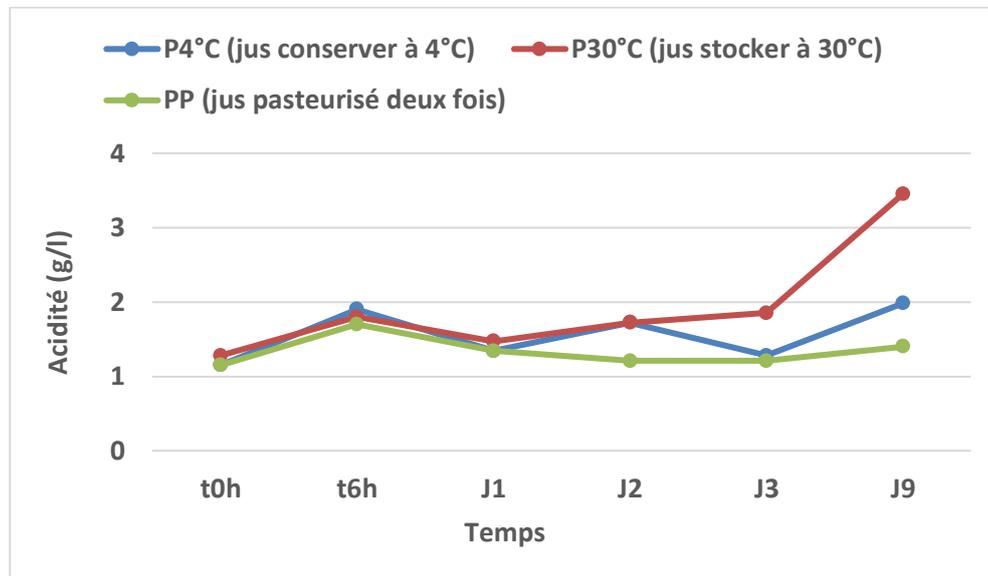


**Figure 7 :** Evolution du pH des jus probiotiques (P4°C, P30°C, PP) pendant 9 jours de conservation. à 4°C et à 30°C.

Les valeurs du pH des jus probiotiques analysés varié entre 4,24 et 4,07 pour le jus P4°C et de 4,27 et 3,45 pour le jus P30°C, et de 4,24 et 3,82 pour le jus PP, on constate que les valeurs de pH ont plus diminué dans le jus P30 suivi du jus PP et en fin le jus P4 a marqué une légère diminution.

Cette diminution pourrait est due à l'ajout de notre souche *L. plantarum* qui dégrade les sucres présentent dans le jus d'orange et le transforme en acides organique, ce qui a entrainé une diminution du pH et une augmentation de l'acidité, cependant, les valeurs de pH enregistrés sont plus proche à celle du jus d'orange probiotique de **Worku et al., (2021)**.

Les valeurs de l'acidité titrable des jus probiotiques (P4°C, P30°C, PP) sont présentées dans la figure suivante :



**Figure 8 :** Evolution de l'acidité titrable des jus probiotiques (P4°C, P30°C, PP) pendant 9 jours de conservation à 4°C et à 30°C

Selon ce graphe, nous remarquons que les valeurs de l'acidité ont augmenté pour les trois jus probiotiques durant les 6 heures de fermentation d'environ de 1,20 g/l jusqu'à 2,80g/l, et ensuite l'acidité a diminué jusqu'à 1,90g/l en J1. Depuis l'acidité ne cesse d'augmenter jusqu'au 4,85g/l pour le P30°C et 2,78 g/l pour le P4°C, alors que PP l'acidité a atteint 1,97 g/l, ces valeurs sont inférieures à celle de **Yuasa et al., (2021)**.

L'augmentation de l'acidité après 6h de fermentation pourrait être due à la production de l'acide lactique en métabolisant le sucre par la souche *L. plantarum*. Toutefois, la diminution enregistrée entre 6 heures et J1 pourrait être expliquée par le faite que la souche probiotique a métabolisé l'acide citrique présent dans le jus lors de la fermentation, tandis que l'acidité du protocole PP a diminué a cause de la 2<sup>ème</sup> pasteurisation effectuée, alors que l'augmentation de l'acidité des trois jus pourrait être justifiée par la production de l'acide lactique.

- **Evolution de °Brix**

Les résultats du °Brix des trois jus probiotiques pendant 9 jours de suivi sont montrés dans le tableau suivant :

**Tableau III :** Degré Brix des trois jus probiotique pendant 9 jours de conservation à 4°C et à 30°C

Temps	t0h	t6h	J1	J2	J3	J9
°Brix P4°C	11,47	11,36	11,42	11,39	11,43	11,49
°Brix P30°C	11,47	11,41	11,52	11,39	11,41	11,35
°Brix pp	11,47	11,40	11,46	11,40	11,49	11,49

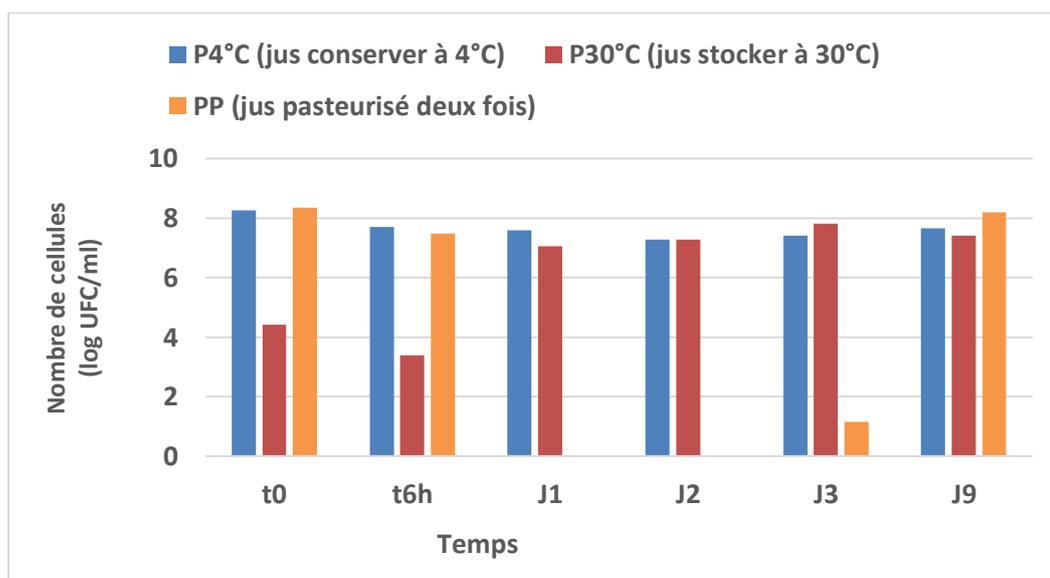
Les résultats représentés dans le tableau précédent du °Brix montrent des valeurs stables pour le jus P4°C et le jus PP ,et une légère variation a été enregistrée pour le jus P30°C, d’après ces résultats on peut conclure que la température du stockage n’a pas une influence considérable sur le °Brix du jus probiotique, nos résultats sont proches de ceux rapportés pour le jus de fruit probiotique produit par (Shah et al., 2010b).

La stabilité du °Brix pourrait se justifier par les métabolites de la souche probiotique qui consomme le sucre et transforme ce dernier en acide lactique et autres métabolites solubles malgré la diminution du taux de sucre, sachant que le °Brix représente l’extrait sec total soluble.

## II.2.Analyse microbiologique

- **Dénombrement de la flore lactique**

Les résultats du suivi de la survie de la souche probiotique *L. plantarum* pendant 9 jours selon le protocole réalisé, sont illustrés dans la figure 9.



**Figure 9 :** Suivi de la survie et de la croissance de la souche probiotique *L. plantarum* dans les jus probiotiques (P4°C, P30°C, PP) pendant 9 jours de conservation à 4°C et à 30°C

D'après les résultats obtenus, la charge initial a été d'environ de  $2.10^8$  UFC/ml pour le jus P4°C et le PP cette charge a diminué après 6h de fermentation, ceci correspond probablement à l'adaptation de la souche probiotique au milieu. Ensuite la charge de la souche probiotique dans le jus P4°C est restée stable pendant 9 jours de conservation à 4°C, par contre une absence de la souche a été enregistré dans le jus PP durant le J1 et J2, est le résultat de la 2<sup>ème</sup> pasteurisation effectuée pour le protocole PP, mais à partir du J3 jusqu'au J9 une repousse a été détectée. Tandis que pour le jus P30°C la charge initial a été inférieure à celle de P4°C et PP et égale à  $2,6.10^4$  UFC/ml, cette charge a aussi connu une diminution après 6h de fermentation, ensuite la charge bactérienne a augmenté jusqu'à  $2,5.10^7$  UFC/ml après 9 jours l'incubation à 30°C.

Les résultats indiquent que la souche probiotique utilisée est résistante à l'acidité et que le jus d'orange constitue une bonne matrice pour la survie de la souche probiotique, ces valeurs enregistrées sont proches de celles rapportées par **Shah et al., (2010b)**.

- **Dénombrement des levures et moisissures**

Les résultats du dénombrement des levures et moisissures montrent une absence de ces microorganismes dans les trois jus probiotique (P4°C, P30°C, PP), ceci pourrait être justifié par l'efficacité du traitement thermique de notre jus, ou bien par l'activité antimicrobienne de la souche probiotique *L. plantarum*. **Moreira et al., (2017)**. Ont trouvé des résultats presque identique a celles de nos résultats lors de la mise au point d'un jus de la mangue probiotique.

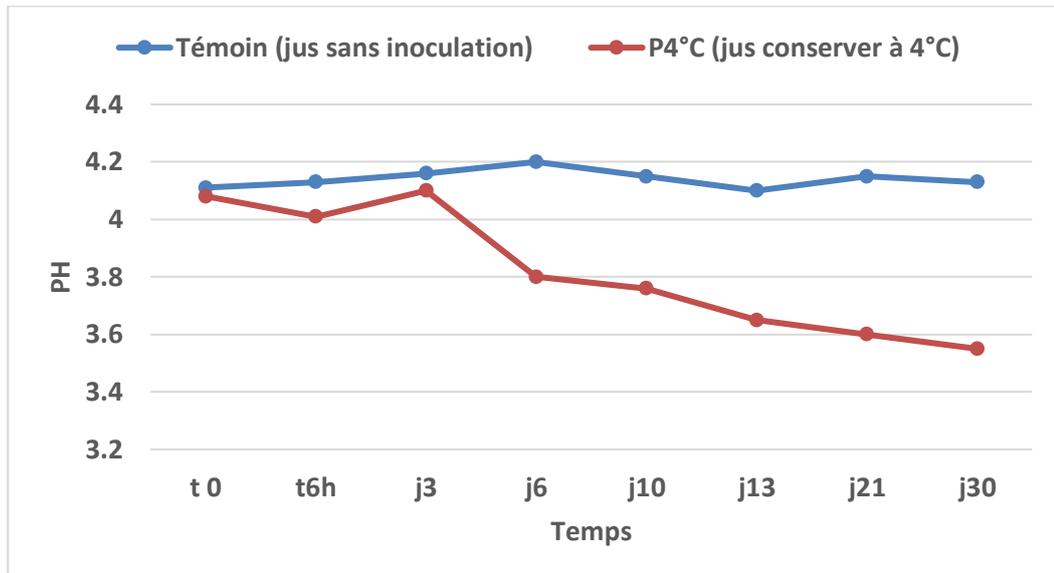
Les *Lactobacillus* ont une activité antifongique importante, Parmi les souches de *Lactobacillus*, *L.plantarum* qui a une efficacité importante en tant qu'agent bio-conservateur, et qui retarde la croissance des microorganismes d'altération dans les aliments (**Abouloifa et al., 2021**).

### III.Suivi de processus de mise au point de jus probiotique P4°C

#### III.1.Résultats de l'analyse physico-chimique

- **Evolution de pH et acidité**

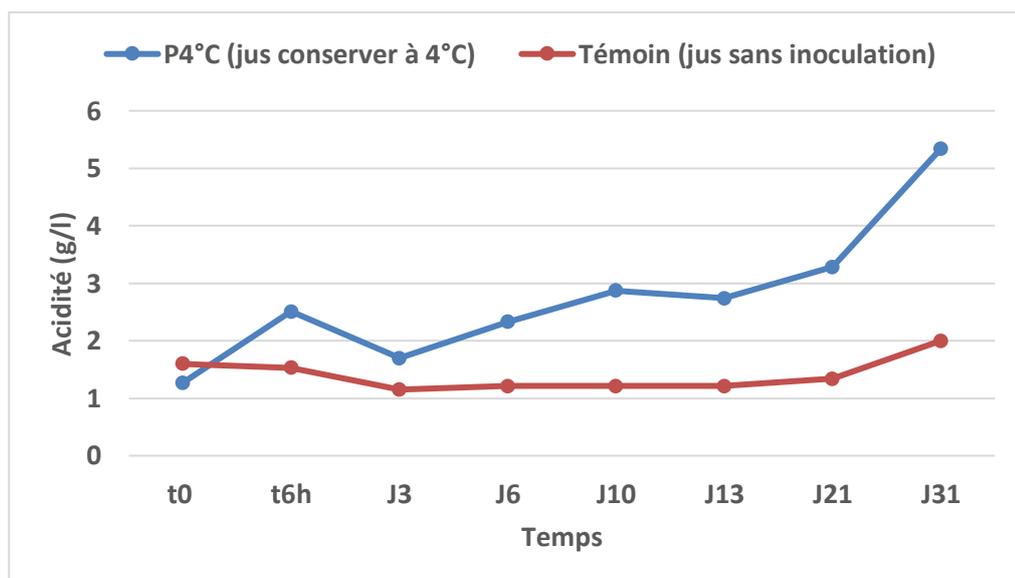
Les résultats de la mesure du pH du jus probiotique P4°C et le jus témoin, obtenus après 31 jours de conservation à 4°C sont présentés dans la figure suivante :



**Figure 10 :** Evolution du pH des jus probiotiques (P4°C) et le jus témoin pendant 31 jours de conservation à 4°C.

Les résultats obtenus montrent la stabilité des valeurs du pH obtenus pour le jus témoin pendant 31 jours de conservation à 4°C à une valeur de (4,15). Tandis que le pH du jus probiotique a diminué d’une valeur de 4,08 jusqu’au 3,55 durant la période de sa conservation, Cela pourrait être due à la continuité de l’activité métabolique de la souche *L. plantarum* à basse température par la production d’acides organique, abaissant le pH. Cependant, ces valeurs sont supérieures à celle enregistrées par **Olivares et al., (2019)**.

Concernant les résultats de l’acidité titrable du jus probiotique (P4°C), ainsi que le jus témoin après 31 jours de conservation sont représentés dans la figure ci-dessous :



**Figure 11 :** Evolution de l’acidité dans le jus probiotique (P4°C) et le jus témoin pendant 31 jours de conservation à 4°C.

Les résultats obtenus montrent une acidité initial presque similaire entre le jus probiotique et le jus témoins d'environ de 1,5 g/l, cette acidité est resté stable dans le jus témoin pendant la conservation à l'exception du jour 21 et 31, par contre l'acidité du jus probiotique a augmenté jusqu'à 5,34 g/l au bout du J31. Cette augmentation pourrait être due de la production de l'acide lactique en métabolisant le sucre présent dans le jus par la souche probiotique, ces valeurs d'acidité sont supérieures à celles rapportées lors de la mise au point jus de pomme fermenté par *L. plantarum* (Hossain et al., 2022).

- **Evolution du °Brix**

Les résultats du suivi du °Brix du jus probiotique ainsi que le jus témoin, sont présentés dans le tableau suivant :

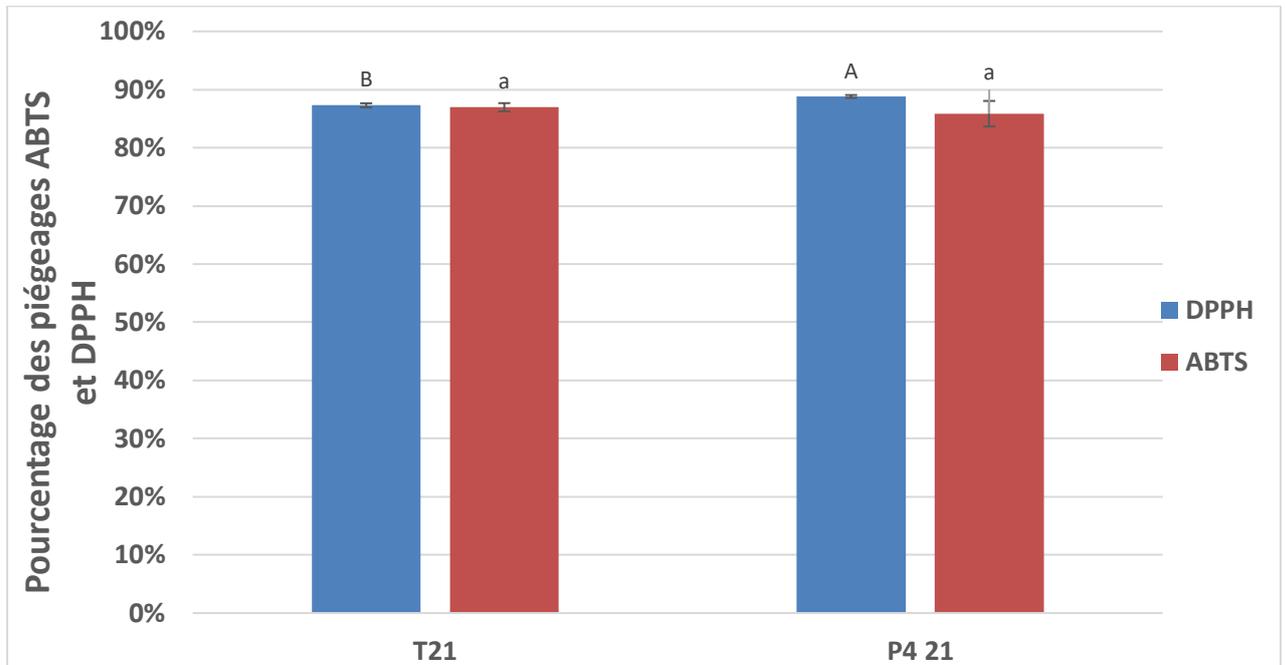
**Tableau IV:** Evolution du °Brix du jus probiotique (P4°) et le jus témoins pendant 31 jours de conservation à 4°C.

Temps	t0h	t6h	J3	J6	J10	J13	J21	J31
°Brix de Jus témoin	11,20	11,21	11,20	11,17	11,16	11,18	11,16	11,30
°Brix de Jus probiotique	11,18	11,22	11,23	11,22	11,20	11,22	11,20	11,37

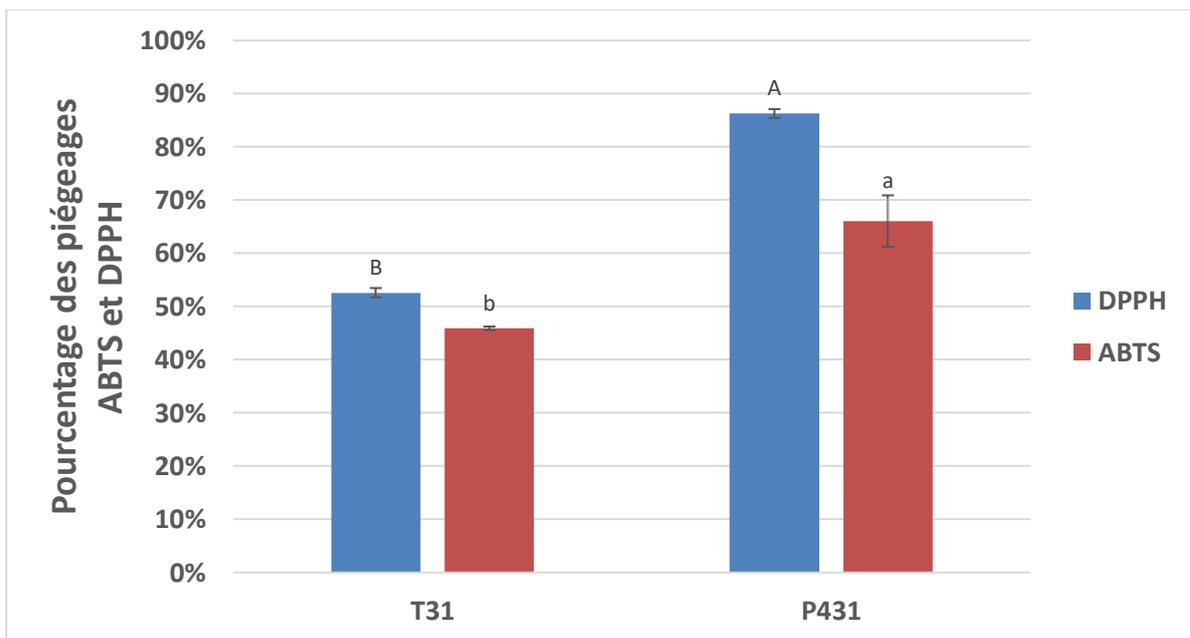
Les résultats obtenus dans le suivi du °Brix pour le jus témoin et le jus probiotique montrent une stabilité des valeurs de °Brix entre 11,16 et 11,37 pendant 31 jours de conservation. Comme il a été indiqué pour le suivi du °Brix dans les expériences précédentes, la stabilité du °Brix est probablement due à la réduction de taux de sucre dans le jus probiotique, et transformé ensuite en acide lactique. Usaga et al., (2022) ont trouvé des valeurs proches lors du suivi du °Brix d'un jus de fruit probiotique.

- **Evolution de l'activité antioxydante (DPPH, ABTS)**

Les résultats de l'activité antioxydante (DPPH, ABTS) du jus témoin et du jus probiotique au cours du J21 et J31 sont illustrés par les figures 12 et 13 ;



**Figure 12 :** Activité antioxydante (DPPH, ABTS) du jus témoin et du jus probiotique au J21



**Figure 13 :** Activité antioxydante (DPPH, ABTS) du jus témoin et du jus probiotique au J31

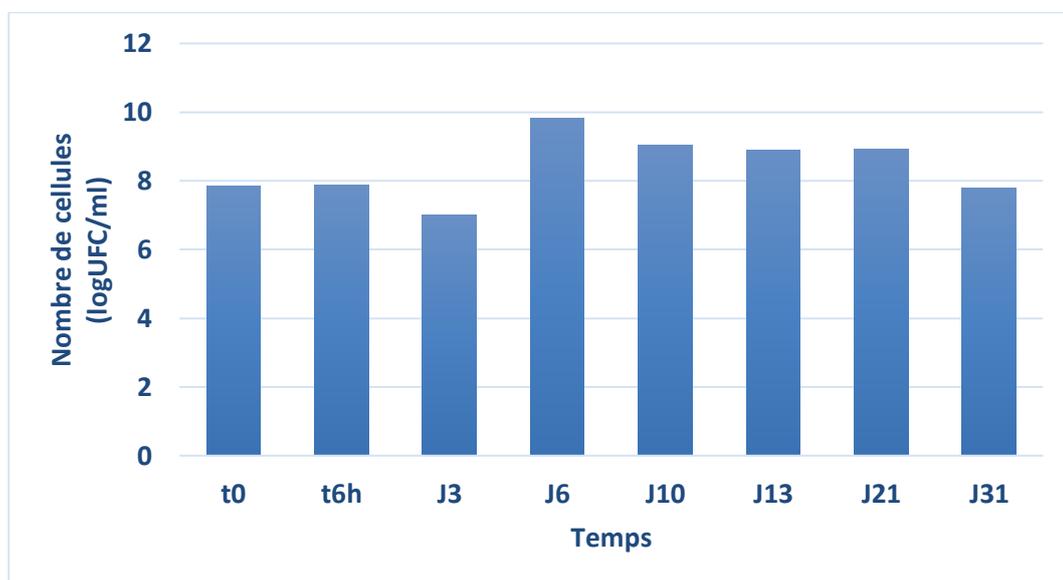
Les résultats de l'activité antioxydante du jus témoin montrent une diminution du pouvoir antioxydant à l'égard du radical DPPH de 87,23% en J21 jusqu'à 52,61% en J31, et concernant le radical ABTS il y a eu une diminution de 86,96% en J21 à 45,91% en J31. Ceci pourrait être due au phénomène d'oxydation et la dégradation des composés phénoliques (Zheng et al., 2014). Alors que le jus probiotique a montré une stabilité dans l'activité antioxydante qui variée de 88,95% en J21 et 86,27% en J31, concernant, l'ABTS la réduction est de 85,85% en J21 jusqu'à 66,07% en

J31 moins importante en comparant à celle enregistrée pour le jus témoin, cette différence est probablement justifiée par la libération des composés phénoliques dans le jus probiotique (Zheng et al., 2014). Lors de l'élaboration d'un jus de kiwi probiotique par Zhou et al., (2020), ils ont enregistré des valeurs proches de nos résultats. La capacité de piégeage des radicaux libres pendant la fermentation est principalement liée à la teneur en composés polyphénoliques (Zhou et al., 2020).

### III.2. Résultats des analyses microbiologique

- **Dénombrement de la flore lactique**

Les résultats du suivi de la survie de la souche probiotique *L. plantarum* dans le jus d'orange, pendant 31 jours de conservation à 4°C sont montrés par la figure 14

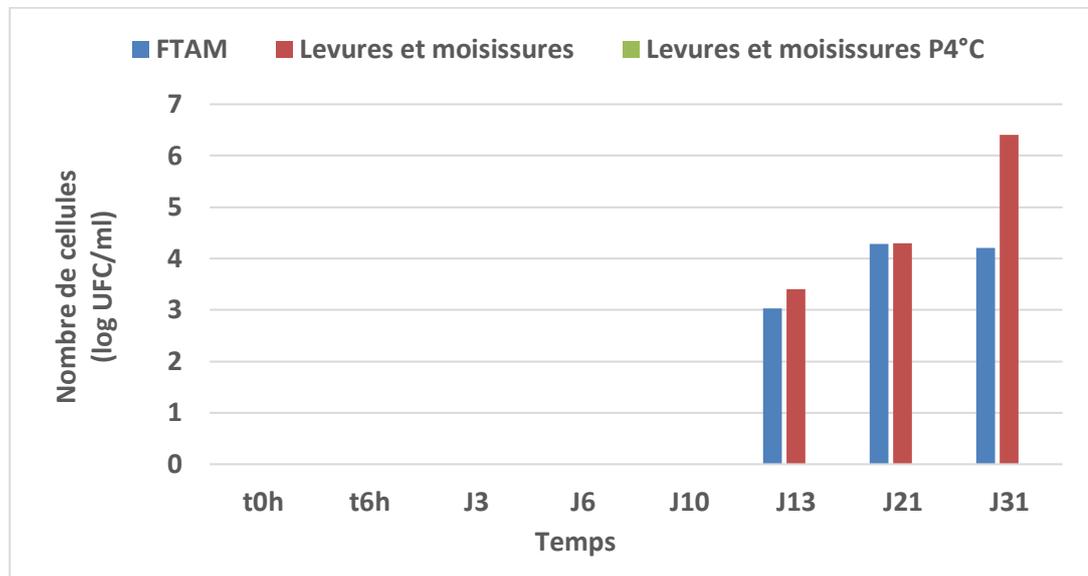


**Figure 14 :** Suivi de la survie et de la croissance de la souche probiotique *L. plantarum* dans le jus d'orange stocké à 4°C pendant 31 jours

Les résultats obtenus lors du dénombrement de la souche *L. plantarum* dans le jus d'orange fermenté montrent une survie de cette dernière pendant 31 jours de conservation à une charge de  $6,2 \cdot 10^7$  UFC/ml sachant que la charge initiale a été de  $6,9 \cdot 10^7$  UFC/ml. La viabilité de la souche lactique enregistrée malgré l'acidité du milieu et les conditions de stockage à froid (4°C), est influencée par la méthode de préparation de la culture, l'état des cellules inoculées, température de stockage, taux d'oxygène et présence des fibres (Ying et al., 2013). Malganji et al., (2015) ont enregistrés un taux de viabilité dans le jus de raisins qui est similaire à celui rapporté de notre jus probiotique.

- **Dénombrement de la flore d'altération (FTAM et levures et moisissures)**

Les résultats de dénombrement de la flore totale et des levures et moisissures dans le jus témoin et le jus probiotique durant le stockage au froid, sont montrés par la figure ci-dessous :



**Figure 15 :** Dénombrement de la flore d'altération (FTAM et levures et moisissures) dans le jus témoin et le jus probiotique durant la période de conservation à 4°C

Les résultats obtenus au cours du suivi de la flore d'altération dans le jus témoin et le jus probiotique, montrent une absence des levures et moisissures dans le jus probiotique pendant le stockage à froid de ce dernier. Ceci pourrait être justifié par la charge initial faible des levures et moisissures, grâce à l'efficacité du traitement thermique et à l'activité antimicrobienne de notre souche probiotique *L. plantarum*. Cependant, le jus témoin a montré une apparition de la flore totale et des levures et moisissures à partir du J13 d'une charge de  $1,8 \cdot 10^3$  UFC/ml et  $2,54 \cdot 10^3$  UFC/ml respectivement et cette charge a augmenté jusqu'à  $1,6 \cdot 10^4$  UFC/ml (FTAM) et  $2,58 \cdot 10^6$  UFC/ml (levures et moisissures) pendant le J31, l'apparition de ces microorganismes pourrait être expliquée par l'absence des conservateurs habituellement ajoutés pour inhiber la croissance de la flore d'altération. Toutefois, **Dahal et al., (2020)** ont trouvés des résultats proches à ceux de notre jus probiotique.

# Conclusion

## Conclusion

Cette étude a examiné la survie d'une bactérie probiotique (*Lactiplantibacillus plantarum*) dans un système modèle de jus de fruits. Les résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques de cette étude ont affirmé que la souche probiotique *L. plantarum* est compétente et apte à survivre et croître à des taux de  $10^8$  UFC/ml dans un jus d'orange fermenté avec un pH bas de 3,45 et une acidité élevée de 4,85 g/l à une température de 30°C pendant 9 jours.

Les jus de fruits représentent un support prometteur pour les bactéries probiotiques ; toutefois, certains inconvénients et limites pourraient empêcher leurs production au niveau industriel, à savoir la survie des probiotiques tout au long du stockage et l'impact possible des bactéries sur les caractéristiques sensorielles et l'acceptation globale. Alors que cette souche probiotique est capable de survivre au froid à 4°C à un pH de 3,70 et une acidité élevée de 5,34 g/l pendant 31 jours, avec un taux de viabilité  $6,2 \cdot 10^7$  UFC/ml. De plus, la présence de la souche probiotique a permis une certaine stabilité à l'égard du stress oxydatif comparant avec le jus témoins qui a été affecté lors du stockage.

Le pouvoir bio-conservateur de cette souche probiotique permettra son utilisation comme une alternative aux conservateurs chimiques fortement utilisés dans les jus.

Cependant, des essais de maîtriser d'autres analyses physico-chimiques et microbiologiques sont nécessaires afin de s'assurer les résultats obtenus et aussi l'essai de suivi ces paramètres dans une durée plus longue, enfin l'essai de mise au point d'un jus probiotique non fermenté.

# **Références**

## **bibliographique**

- Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Shafi, M. E., Qattan, S. Y. A., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., et al. (2020).** Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 104, 1835–1850. doi: 10.1111/jpn.13454.
- Able, N. C., Atheba, G. P., Amin, N. C., Brou, G. A., and Kpaibe, A. S. (2018).** Contrôle de la teneur en saccharose et de l'acidité de boissons sucrées commercialisées à Abidjan, Côte d'Ivoire. 7.
- Abouloifa, H., Gaamouche, S., Rokni, Y., Hasnaoui, I., Bellaouchi, R., Ghabbour, N., et al. (2021).** Antifungal activity of probiotic *Lactobacillus* strains isolated from natural fermented green olives and their application as food bio-preservative. *Biological Control* 152, 104450. doi: 10.1016/j.biocontrol.2020.104450.
- Ağçam, E., Akyıldız, A., et Dündar, B. (2018).** “Thermal Pasteurization and Microbial Inactivation of Fruit Juices,” in *Fruit Juices* (Elsevier), 309–339. doi: 10.1016/B978-0-12-802230-6.00017-5.
- Angumeenal, A. R., et Venkappayya, D. (2013).** An overview of citric acid production. *LWT - Food Science and Technology* 50, 367–370. doi: 10.1016/j.lwt.2012.05.016.
- Arinaitwe, E., et Pawlik, M. (2014).** Dilute solution properties of carboxymethyl celluloses of various molecular weights and degrees of substitution. *Carbohydrate Polymers* 99, 423–431. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.08.030.
- Bamforth, C. W., et Cook, D. J. (2019).** *Food, Fermentation, and Micro-organisms*. John Wiley & Sons.
- Beena Divya, J., Kulangara Varsha, K., Madhavan Nampoothiri, K., Ismail, B., et Pandey, A. (2012).** Probiotic fermented foods for health benefits: Probiotic food. *Eng. Life Sci.* 12, 377–390. doi: 10.1002/elsc.201100179.
- Bogue, J., et Sorenson, D. (2009).** Managing Customer Knowledge During the Concept Development Stage of the New Food Product Development Process. *Journal of International Food & Agribusiness Marketing* 21, 149–165. doi: 10.1080/08974430802589667.
- Burdurlu, H. S., Koca, N., et Karadeniz, F. (2006).** Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering* 74, 211–216. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.03.026.
- Chatterjee, A., et Abraham, J. (2018).** “Microbial Contamination, Prevention, and Early Detection in Food Industry,” in *Microbial Contamination and Food Degradation* (Elsevier), 21–47. doi: 10.1016/B978-0-12-811515-2.00002-0.
- Codex Alimentarius (2005).** Normes générales Codex pour les jus et les nectars de fruits Codex. STAN 247-2005, pp 19.
- Dahal, S., Ojha, P., et Karki, T. B. (2020).** Functional quality evaluation and shelf life study of synbiotic yacon juice. *Food Sci Nutr* 8, 1546–1553. doi: 10.1002/fsn3.1440.

- de Souza Neves Ellendersen, L., Granato, D., Bigetti Guergoletto, K., et Wosiacki, G. (2012).** Development and sensory profile of a probiotic beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei*: Probiotic beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei*. *Eng. Life Sci.* 12, 475–485. doi: 10.1002/elsc.201100136.
- Echavarría Vélez, A. P., Torras, C., Pagán, J., et Ibarz, A. (2011).** Fruit Juice Processing and Membrane Technology Application. *Food Engineering Reviews* 3, 136–158. doi: 10.1007/s12393-011-9039-3.
- Erkaya, T., Başlar, M., Şengül, M., et Ertugay, M. F. (2015).** Effect of thermosonication on physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of ayran during storage. *Ultrasonics Sonochemistry* 23, 406–412. doi: 10.1016/j.ultsonch.2014.08.009.
- Fernandes, S. S., Coelho, M. S., et Salas-Mellado, M. de las M. (2019).** “Bioactive Compounds as Ingredients of Functional Foods,” in *Bioactive Compounds* (Elsevier), 129–142. doi: 10.1016/B978-0-12-814774-0.00007-4.
- Gao, J., Li, X., Zhang, G., Sadiq, F. A., Simal-Gandara, J., Xiao, J. (2021).** Probiotics in the dairy industry—Advances and opportunities. *Comp Rev Food Sci Food Safe* 20, 3937–3982. doi: 10.1111/1541-4337.12755.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., et al. (2017).** Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 14, 491–502. doi: 10.1038/nrgastro.2017.75.
- Gobbetti, M., Cagno, R. D., et De Angelis, M. (2010).** Functional Microorganisms for Functional Food Quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50, 716–727. doi: 10.1080/10408398.2010.499770.
- Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., Faria, J. de A. F., et Shah, N. P. (2010).** Probiotic Dairy Products as Functional Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9, 455–470. doi: 10.1111/j.1541-4337.2010.00120.x.
- Gunyakti, A., et Asan-Ozusaglam, M. (2019).** *Lactobacillus gasseri* from human milk with probiotic potential and some technological properties. *LWT* 109, 261–269. doi: 10.1016/j.lwt.2019.04.043.
- Gupta, V., and Garg, R. (2009).** PROBIOTICS. *Indian Journal of Medical Microbiology* 27, 202–209. doi: 10.4103/0255-0857.53201.
- Hashemi, S. M. B., Mousavi Khaneghah, A., Barba, F. J., Nemati, Z., Sohrabi Shokofti, S., et Alizadeh, F. (2017).** Fermented sweet lemon juice ( *Citrus limetta* ) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Functional Foods* 38, 409–414. doi: 10.1016/j.jff.2017.09.040.
- Hendrix, C. M., et Redd, J. B. (1995).** “Chemistry and technology of citrus juices and by-products,” in *Production and Packaging of Non-Carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages*, ed. P. R. Ashurst (Boston, MA: Springer US), 53–87. doi: 10.1007/978-1-4615-0949-3\_2.
- Hidalgo, D., et Martín-Marroquín, J. M. (2019).** “Adding Sustainability to the Beverage Industry Through Nature-Based Wastewater Treatment,” in *Processing and Sustainability of Beverages* (Elsevier), 1–36. doi: 10.1016/B978-0-12-815259-1.00001-X.

- Hoffmann, J. F., Zandoná, G. P., dos Santos, P. S., Dallmann, C. M., Madruga, F. B., Rombaldi, C. V., (2017).** Stability of bioactive compounds in butiá (*Butia odorata*) fruit pulp and nectar. *Food Chemistry* 237, 638–644. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.05.154.
- Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M. R., Yarmand, M. S., et Razavi, S. H. (2008).** Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry* 111, 50–55. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.03.036.
- Hossain, M., Das, R., Yasin, M., Kabir, H., et Ahmed, T. (2022).** POTENTIALS OF TWO LACTOBACILLI IN PROBIOTIC FRUIT JUICE DEVELOPMENT AND EVALUATION OF THEIR BIOCHEMICAL AND ORGANOLEPTIC STABILITY DURING REFRIGERATED STORAGE. *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering* 23, 131–140.
- Hosseinpour, A., Shahsavari, S., et Mahmoudi, R. (2019).** Chemical, Sensory and Survival Properties of *Lactobacillus Plantarum* in Peach Juice. *J. Qazvin Univ. Med. Sci.*, 342–351. doi: 10.32598/JQUMS.23.4.342.
- Julian, H., Khoiruddin, K., Julies, N., Edwina, V., et Wenten, I. G. (2021).** Pineapple juice acidity removal using electrodeionization (EDI). *Journal of Food Engineering* 304, 110595. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2021.110595.
- Kabasakalis, V. (2000).** Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. *Food Chemistry* 70, 325–328. doi: 10.1016/S0308-8146(00)00093-5.
- Klimczak, I., Małecka, M., Szlachta, M., et Gliszczyńska-Świgło, A. (2007).** Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 313–322. doi: 10.1016/j.jfca.2006.02.012.
- Küster-Boluda, I., et Vidal-Capilla, I. (2017).** Consumer attitudes in the election of functional foods. *Spanish Journal of Marketing - ESIC* 21, 65–79. doi: 10.1016/j.sjme.2017.05.002.
- Lebaka, V. R., Wee, Y. J., Narala, V. R., et Joshi, V. K. (2018).** “Development of New Probiotic Foods—A Case Study on Probiotic Juices,” in *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods* (Elsevier), 55–78. doi: 10.1016/B978-0-12-814625-5.00004-2.
- Lebeer, S., Bron, P. A., Marco, M. L., Van Pijkeren, J.-P., O’Connell Motherway, M., Hill, C.. (2018).** Identification of probiotic effector molecules: present state and future perspectives. *Current Opinion in Biotechnology* 49, 217–223. doi: 10.1016/j.copbio.2017.10.007.
- Li, S., Huang, R., Shah, N. P., Tao, X., Xiong, Y., et Wei, H. (2014).** Antioxidant and antibacterial activities of exopolysaccharides from *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 and *Lactobacillus plantarum* R315. *Journal of Dairy Science* 97, 7334–7343. doi: 10.3168/jds.2014-7912.
- Li, Y., Wang, X., Wu, Z., Wan, N., et Yang, M. (2020).** Dehydration of hawthorn fruit juices using ultrasound-assisted vacuum drying. *Ultrasonics Sonochemistry* 68, 105219. doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105219.
- Malganji, S., Sohrabvandi, S., Jahadi, M., Nematollahi, A., et Sarmadi, B. (2015).** Effect of Refrigerated Storage on Sensory Properties and Viability of Probiotic in Grape Drink. *Applied Food Biotechnology* 3. doi: 10.22037/afb.v3i1.10544.

- Manu, D. K. (2016).** Antimicrobial Activity of Cinnamaldehyde or Geraniol alone or Combined with High Pressure Processing to Destroy *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in Juices. 11169439. doi: 10.31274/etd-180810-5596.
- Mishra, S., Behera, P., Kar, B., et Ray, R. (2018).** “Advances in Probiotics, Prebiotics and Nutraceuticals,” in, 121–141. doi: 10.1007/978-3-319-74820-7\_7.
- Moreira, R. M., Martins, M. L., Leite Júnior, B. R. de C., Martins, E. M. F., Ramos, A. M., Cristianini, M.,. (2017).** Development of a juçara and Ubá mango juice mixture with added *Lactobacillus rhamnosus* GG processed by high pressure. *LWT* 77, 259–268. doi: 10.1016/j.lwt.2016.11.049.
- Nagpal, R., Kumar, A., et Kumar, M. (2012).** Fortification and fermentation of fruit juices with probiotic lactobacilli. *Ann Microbiol* 62, 1573–1578. doi: 10.1007/s13213-011-0412-5.
- Nakonieczna, A., Paszkowski, B., Wilczek, A., Szyplowska, A., et Skierucha, W. (2016).** Electrical impedance measurements for detecting artificial chemical additives in liquid food products. *Food Control* 66, 116–129. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.01.044.
- Nawaz, A., Sameer, M., Akram, F., Tahir, S. F., Arshad, Y., Haq, I. U. (2021).** Kinetic and thermodynamic insight of a polygalacturonase: A biocatalyst for industrial fruit juice clarification. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 20, 1029–1045. doi: 10.24275/rmiq/Bio2355.
- Nout, M. J. R., Hounhouigan, J., et Boekel, M. A. J. S. V., Tiny (2003).** *Les aliments: transformation, conservation, et qualitt??*.
- Oikeh, E. I., Omoregie, E. S., Oviasogie, F. E., et Oriakhi, K. (2016).** Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. *Food Sci Nutr* 4, 103–109. doi: 10.1002/fsn3.268.
- Olivares, A., Soto, C., Caballero, E., et Altamirano, C. (2019).** Survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* (prepared by vibration technology) in fruit juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology* 42, 42–48. doi: 10.1016/j.ejbt.2019.10.002.
- Onsekizoglu Bagci, P. (2015).** Potential of Membrane Distillation for Production of High Quality Fruit Juice Concentrate. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55, 1098–1113. doi: 10.1080/10408398.2012.685116.
- Penniston, K. L., Nakada, S. Y., Holmes, R. P., et Assimos, D. G. (2008).** Quantitative Assessment of Citric Acid in Lemon Juice, Lime Juice, and Commercially-Available Fruit Juice Products. *Journal of Endourology* 22, 567–570. doi: 10.1089/end.2007.0304.
- Perkins, T. D., et van den Berg, A. K. (2009).** “Chapter 4 Maple Syrup—Production, Composition, Chemistry, and Sensory Characteristics,” in *Advances in Food and Nutrition Research* (Elsevier), 101–143. doi: 10.1016/S1043-4526(08)00604-9.
- Priyadarshini, A., et Priyadarshini, A. (2018).** “Market Dimensions of the Fruit Juice Industry,” in *Fruit Juices* (Elsevier), 15–32. doi: 10.1016/B978-0-12-802230-6.00002-3.
- Prommajak, T., Leksawasdi, N., et Rattanapanone, N. (2014).** Biotechnological Valorization of Cashew Apple: A Review. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences* 13. doi: 10.12982/cmujns.2014.0029.

- Puligundla, P., Mok, C., et Park, S. (2020).** Advances in the valorization of spent brewer's yeast. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 62, 102350. doi: 10.1016/j.ifset.2020.102350.
- Purkiewicz, A., Ciborska, J., Tańska, M., Narwojsz, A., Starowicz, M., Przybyłowicz, K. E.. (2020).** The Impact of the Method Extraction and Different Carrot Variety on the Carotenoid Profile, Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Juices. *Plants* 9, 1759. doi: 10.3390/plants9121759.
- Rathi, D.-N. G., Rashed, A. A., et Noh, M. F. M. (2022).** Determination of retinol and carotenoids in selected Malaysian food products using high-performance liquid chromatography (HPLC). *SN Appl. Sci.* 4, 93. doi: 10.1007/s42452-022-04955-8.
- Ratzke, C., et Gore, J. (2018).** Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions. *PLoS Biol* 16, e2004248. doi: 10.1371/journal.pbio.2004248.
- Reddy, L. V., Min, J.-H., et Wee, Y.-J. (2015).** Production of Probiotic Mango Juice by Fermentation of Lactic Acid Bacteria. *Microbiology and Biotechnology Letters* 43, 120–125. doi: 10.4014/mbl.1504.04007.
- S., A., G., Z., O., S., et Gharib, S. (2020).** Antimicrobial activity and Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated From Traditional Fermented Dairy Products. *Journal of Modern Research* 0, 0–0. doi: 10.21608/jmr.2020.22931.1015.
- Saccani, G., Gherardi, S., Trifirò, A., Soresi Bordini, C., Calza, M., et Freddi, C. (1995).** Use of ion chromatography for the measurement of organic acids in fruit juices. *Journal of Chromatography A* 706, 395–403. doi: 10.1016/0021-9673(95)00206-3.
- Scherer, R., Rybka, A. C. P., Ballus, C. A., Meinhart, A. D., Filho, J. T., et Godoy, H. T. (2012).** Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. *Food Chemistry* 135, 150–154. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.03.111.
- Shah, N. P., Ding, W. K., Fallourd, M. J., et Leyer, G. (2010a).** Improving the Stability of Probiotic Bacteria in Model Fruit Juices Using Vitamins and Antioxidants. *Journal of Food Science*, no-no. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01628.x.
- Shah, N. P., Ding, W. K., Fallourd, M. J., et Leyer, G. (2010b).** Improving the Stability of Probiotic Bacteria in Model Fruit Juices Using Vitamins and Antioxidants. *Journal of Food Science*, no-no. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01628.x.
- Sharma, H. P., Patel, H., et Sugandha (2017).** Enzymatic added extraction and clarification of fruit juices—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57, 1215–1227. doi: 10.1080/10408398.2014.977434.
- Sheehan, V. M., Ross, P., et Fitzgerald, G. F. (2007).** Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 8, 279–284. doi: 10.1016/j.ifset.2007.01.007.
- Silva, A. F. R., Monteiro, M., Resende, D., Braga, S. S., Coimbra, M. A., Silva, A. M. S. (2020).** Inclusion Complex of Resveratrol with  $\gamma$ -Cyclodextrin as a Functional Ingredient for Lemon Juices. *Foods* 10, 16. doi: 10.3390/foods10010016.
- Sohail, A., Turner, M. S., Prabawati, E. K., Coombes, A. G. A., et Bhandari, B. (2012).** Evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus acidophilus* NCFM

- encapsulated using a novel impinging aerosol method in fruit food products. *International Journal of Food Microbiology* 157, 162–166. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.025.
- Suri, S., Kumar, V., Prasad, R., Tanwar, B., Goyal, A., Kaur, S. (2019).** Considerations for development of lactose-free food. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism* 15, 27–34. doi: 10.1016/j.jnim.2018.11.003.
- Tripathi, M. K., et Giri, S. K. (2014).** Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods* 9, 225–241. doi: 10.1016/j.jff.2014.04.030.
- Usaga, J., Barahona, D., Arroyo, L., et Esquivel, P. (2022).** Probiotics survival and betalains stability in purple pitaya (*Hylocereus* sp.) juice. *NFS Journal* 27. doi: 10.1016/j.nfs.2022.05.001.
- Vinderola, C. G., Costa, G. A., Regenhardt, S., et Reinheimer, J. A. (2002).** Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal* 12, 579–589. doi: 10.1016/S0958-6946(02)00046-8.
- Wang, S., Zhou, Q., Zhou, X., Zhang, F., et Ji, S. (2020).** Ethylene plays an important role in the softening and sucrose metabolism of blueberries postharvest. *Food Chemistry* 310, 125965. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125965.
- Wee, S., Chan, N. W., et Thennakoon, S. (2019).** *Environmental Management & Sustainable Development Series 2 Environmental Management & Sustainable Development Series 2 2019 Environmental Management & Sustainable Development Series 2*.
- Wibowo, S., Grauwet, T., Santiago, J. S., Tomic, J., Vervoort, L., Hendrickx, M. (2015).** Quality changes of pasteurised orange juice during storage: A kinetic study of specific parameters and their relation to colour instability. *Food Chemistry* 187, 140–151. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.03.131.
- Worku, K., Kurabachew, H., and Umar, Y. (2021).** Probiotication of Fruit Juices by Supplemented Culture of *Lactobacillus acidophilus*. 45–48. doi: 10.5923/j.food.20190902.03.
- Yilmaz-Ersan, L., Ozcan, T., et Akpınar-Bayizit, A. (2020).** Assessment of socio-demographic factors, health status and the knowledge on probiotic dairy products. *Food Science and Human Wellness* 9, 272–279. doi: 10.1016/j.fshw.2020.05.004.
- Ying, D., Schwander, S., Weerakkody, R., Sanguansri, L., Gantenbein-Demarchi, C., et Augustin, M. A. (2013).** Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein and resistant starch matrices: Probiotic survival in fruit juice. *Journal of Functional Foods* 5, 98–105. doi: 10.1016/j.jff.2012.08.009.
- Yuasa, M., Shimada, A., Matsuzaki, A., Eguchi, A., et Tominaga, M. (2021).** Chemical composition and sensory properties of fermented citrus juice using probiotic lactic acid bacteria. *Food Bioscience* 39, 100810. doi: 10.1016/j.fbio.2020.100810.
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Zhao, F., Sun, Z., et Liao, X. (2016).** Quality comparison of carrot juices processed by high-pressure processing and high-temperature short-time processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 33, 135–144. doi: 10.1016/j.ifset.2015.10.012.

- Zheng, X., Yu, Y., Xiao, G., Xu, Y., Wu, J., Tang, D. (2014).** Comparing product stability of probiotic beverages using litchi juice treated by high hydrostatic pressure and heat as substrates. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 23, 61–67. doi: 10.1016/j.ifset.2014.01.013.
- Zhou, Y., Wang, R., Zhang, Y., Yang, Y., Sun, X., Zhang, Q. (2020).** Biotransformation of phenolics and metabolites and the change in antioxidant activity in kiwifruit induced by *Lactobacillus plantarum* fermentation. *J Sci Food Agric* 100, 3283–3290. doi: 10.1002/jsfa.10272.

## Annexes

### Gélose MRS :

#### Pour 1 litre de milieu

- Polypeptone .....	10,00 g
- Extrait de viande .....	10,00 g
- Extrait autolytique de levure .....	5,00 g
- Glucose .....	20,00 g
- Tween 80 .....	1,08 g
- Phosphate dipotassique .....	2,00 g
- Acétate de sodium .....	5,00 g
- Citrate d'ammonium.....	2,00 g
- Sulfate de magnésium.....	0,20 g
- Sulfate de manganèse .....	0,05 g
- Agar agar bactériologique .....	15,00 g

### Milieu YGC :

#### Pour 1 litre de milieu

-Extrait de levure .....	5,00 g
-Glucose.....	20,00 g
-Chloramphénicol.....	0,15 g
-Agar .....	15,00 g

### Milieu PCA

-Tryptone.....	5,00 g
-Extrait de levure.....	2,50 g
-Glucose.....	1,00 g
-Agar Agar bactériologique.....	15,00 g

## Résumé

Le but de ce travail a été la mise au point d'un jus de fruit probiotique à base d'orange (jus industriel reconstitué) de l'unité «TCHINA» en utilisant la souche lactique *L. plantarum*, ce jus probiotique est destiné à tous les consommateurs en générale et spécialement aux personnes qui ne peuvent pas consommer de produits laitiers en raison de leur intolérance au lactose, au risque cardiovasculaire et aux protéines allergènes. Le travail comporte le suivi des paramètres physico-chimiques et microbiologiques de jus d'orange non ensemencé (témoin), et du jus probiotique (P4°C, P30°C, PP), notre étude montre une diminution des valeurs de pH, et une augmentation de l'acidité, tandis que le °Brix est resté stable après 31 jours de stockage à 4°C. De plus le jus probiotique a montré une bonne activité antioxydante comparais au jus témoins. Les résultats de l'analyse microbiologique ont montré une viabilité de  $6,2 \cdot 10^7$  UFC/ml de la souche lactique dans le jus d'orange et l'absence de la flore totale et des levures et moisissures dans ce dernier, ce qui montre l'efficacité de cette souche probiotique comme bioconservateur.

**Mots clés :** jus probiotique, *L. plantarum*, bioconservation, activité antioxydante.

## Abstract

The aim of this work was the development of a probiotic orange juice (reconstituted industrial juice) from the "TCHINA" unit using the lactic strain *L. plantarum*, this probiotic juice is intended for all consumers and especially for people who cannot consume dairy products due to their intolerance to lactose, cardiovascular risk and allergenic proteins. The work involves the monitoring of physico-chemical and microbiological parameters of uninoculated orange juice (control), and probiotic juice (P4°C, P30°C, PP), our study shows a decrease in pH values, and an increase in acidity, while the °Brix remained stable after 31 days of storage at 4°C. Moreover, the probiotic juice showed a good antioxidant activity compared to the control. The results of the microbiological analysis showed a viability of  $6.2 \cdot 10^7$  CFU/ml of the lactic strain in the orange juice and the absence of total flora and of yeasts and moulds in the latter, which shows the effectiveness of this probiotic strain as a bioconservative.

**Key words:** Probiotic juice, *L. plantarum*. bioconservation, antioxidant activity.