الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supèrieur et de la Recherche Scientifique

جـــامعـــة محمد الصديق بن يحيى جـيـــجـــل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires

كلية عـــلوم الطـبيعة والحـــياة
قســـم : الميكروبيولوجيا التطبيقية وعلوم التغذية

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**
Filière: Sciences Alimentaires

Option : Agroalimentaire et Control de Qualité

Thème

Formulation d'un jus probiotique à base de la carotte et de la betterave

Membres de Jury

Président (e) : Dr DAIRI S
Examinatrice : Dr BOUSSOUF L
Encadrant : Dr BOUBEZARI M. T

Présenté par

Melle : Mekhalfa Samira
Melle : Keroun Salsabil

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Année Universitaire 2021-2022

Numéro d'ordre (bibliothèque) :.....

Remerciements

*D'*abord nous tenons à remercier, le bon Dieu de nous avoir permis d'arriver à ce jour, de nous avoir accordé la santé, le courage et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

*N*ous voudrions tout d'abord adresser toute notre gratitude à notre promoteur, ***Mr Boubzari M. T*** d'avoir accepté de nous encadrer et pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils et ses encouragements durant l'évolution de ce travail

*N*ous tenons également à remercier les membres de jury d'avoir accepté de siéger à notre Soutenance, tout particulièrement : de nous honorer de bien vouloir porter son attention bienveillante à ce travail en acceptant de présider le jury ***Mr Dairi. S***

*N*os vifs remerciements pour ***Mme Boussouf. L*** qui a accepté d'examiner ce travail, qu'elle trouve ici toutes nos reconnaissances

*N*ous remercions sincèrement ***Mr Khenouf. T*** pour son aide à réaliser l'analyse statistique de nos résultats de mémoire et aussi ***Mme Bouchefra. A*** qui ont aidé à la manipulation au laboratoire

*N*ous tenons à remercier tout le personnel du laboratoire pour leur aide technique et scientifique ainsi que leur disponibilité et gentillesse.

Merci également pour nos familles et à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce modeste travail.

Enfin nous remercions toute la promo de 2022 contrôle de qualité

Samira Salsabil

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que Je dédie

A mes chères parents ; A mon père et à ma mère qui sont fourni pour moi tous ce qui est impossible pour ma réussite ; et qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.

A mes chers frères et sœurs et toute ma famille

***MEkhalfa** qui m'encouragée.*

A tous mes amis

*A mon binôme **Salsabil** pour cette expérience inoubliable avec vous.*

A tous les collègues de la promo de contrôle de qualité et sciences alimentaires

Et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Samira

Dédicace

Je dédie ce modeste travail avec un grand plaisir

A l'être le plus cher de ma vie ma mère

Qui m'a donné de l'amour et du courage durant toutes

Mes années d'étude.

A mon cher père j'espère que dieu le protège

A mon grand frère je lui souhaite une vie

Plein de bonheur et du succès

A ma petite sœur

A ma copine et ma sœur ***Hanane*** *mes meilleurs vœux de santé et de la joie pour elle*

Enfin je dédie ce mémoire à toute ma famille

et tous mes collègues de la promo 2022

Contrôle de qualité.

Salsabil

Liste des Abréviations

µg E G/ml : µg equivalent glucose/ml

Abs : Absorbance

AFNOR : Association Française de Normalisation

AlCl3 : chlorure d'aluminium

BL : Bactéries Lactique

DO: Densité optique.

DPPH : 1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl ;

EAG : Equivalent d'acide gallique

EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments

EPS : Exopolysaccharides

FAO : Food Agriculture Organisation

FDA : Agence fédérale américaine des produits alimentaires et médicamenteux

FRAP： Ferric Reducing Ability of Plasma.

JARA : Journal Algérien des Régions Arides

JC : Jus non lactofermenté

JL : Jus lactofermenté

KCl : Chlorure de potassium;

LAB : lactic acid baceria ;

Lb : *Lactobacillus* ;

LOX : lipoxygénase

Mg EQ 3-G : mg d'équivalent de quercétine-3-glucoside

MO : Matière organique

mPa/s : milipascal-seconde

MRS : Gélose de Man, Rogoza et Sharpe ;

MS : Matière sèche

NaCl : Chlorure de sodium ;

NaOH : Hydroxyde de sodium ;

ppm : Portion par million

PPO : polyphénoloxidase

PRF : Pouvoir réducteur ferrique

rpm : Rotation par minute

SAA : Spectroscopie d'Absorption Atomique

TFC : Dosage du contenu total en flavonoïdes

TSS : Taux de solides solubles

UFC : Unité formant colonie

UTN : Néphélométrie unité standard de mesure de la turbidité

Liste des tableaux

Numéro	***Titre***	***N° Page***
1	Composition chimique de la carotte	4
2	Composition biochimique de la betterave	6
3	Composés bioactifs du jus de carotte-betterave	14
4	Microorganismes probiotiques	16
5	Taux du rendement de jus de carotte -betterave préparé	41
6	Taux de solides solubles totaux (°Brix)	45
7	Quantités des métaux lourds (ppm) dans les jus par	54
8	Teneur en acide lactique du jus de légume fermenté préparé	55

Liste des figures

Numéro	***Titre***	***N°*** ***Page***
1	*Daucus carotta*	3
2	Diagramme de fabrication du jus de carotte	10
3	Diagramme de fabrication du jus de la betterave	11
4	Mécanismes d'adhésion aux cellules épithéliales	22
5	Diagramme de fabrication de jus de légume lacto- fermenté	28
6	Réaction de l'antioxydant et du radicale libre DPPH	38
7	Dénombrement des bactéries lactiques	39
8	Taux d'humidité des jus de légumes préparés	42
9	Teneur en matière sèche des jus de légumes préparés	43
10	Teneur en cendres des jus de légumes préparés	44
11	Conductivité électrique des jus de légumes préparés	46
12	Turbidité des jus de légumes préparés	47
13	Viscosité des jus de légumes préparés	48
14	Densité des jus de légumes préparés	49
15	Ph des jus de légumes préparés	50
16	Acidité des jus de légumes préparés	52
17	Teneurs en protéines des jus de légumes préparés	53

18	Teneurs en sucres des jus de légumes préparés	53
19	Teneur en polyphénols des jus de légumes préparés	56
20	Teneurs en flavonoïdes des jus de légume préparés	58
21	Teneurs en caroténoïdes des jus de légume préparés	59
22	Teneurs en vitamine C des jus de légumes préparés	60
23	Teneur en bétaxanthines de jus de légumes préparés	61
24	Teneur en bétacyanines des jus de légumes préparés	61
25	Pouvoir du piégeage radical DPPH° des jus de légumes préparés	62
26	Pouvoir réducteur ferrique des jus de légumes préparés	63
27	Evolution du nombre des colonies (UFC/ml)	64
28	Effet des probiotiques sur les critères sensoriels de jus de légumes préparés	66

Liste des photos

Numéro	***Titre***	***N° Page***
1	Aspect microscopique du genre *Lactobacillus*	26
2	Etapes de préparation du jus	28
3	Etape de minéralisation	33
4	Etape de distillation (A), étape de titration (B)	33
5	Mise en évidence de la présence des pectines dans les jus de légumes préparés	50

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Introduction ……...1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les légumes et les jus.....3

I.1 Carotte.....3

I.1.1 Description botanique.....3

I.1.2 Variété.....3

I.1.3 Origine et production.....3

I.1.4 Composition chimique et valeur nutritionnelle.....3

I.1.5 Effet sur la santé.....4

I.2 Betterave.....4

I.2.1 Description botanique.....4

I.2.2 Types de la betterave.....5

I.2.3 Origine et production.....5

I.2.4 Composition chimique et valeur nutritionnelle.....5

I.2.5 Effet sur la santé.....6

I.3 Jus.....6

I.3.1 Classification des jus.....7

I.3.2 Jus de légumes.....8

I.3.3 Classification des jus de légumes.....8

I.3.4 Jus de légumes lacto-fermentés.....8

I.3.5 Jus de carotte.....9

I.3.6 Jus de betterave.....10

I.3.7 Technologies de fabrication du jus.....12

I.3.8 Procédés de conservation de jus.....12

I.3.8.1 Traitements thermiques.....12

I.3.8.2 Acidification.....13

I.3.9 Composés bioactifs dans le jus.....14

Chapitre II : Généralités sur les probiotiques.....15

II.1 Définition 15
II.2 Classification des probiotiques 15
II.3 Allégation santé des bactéries probiotiques 16
II.4 Bienfaits des probiotiques sur la santé 17
II.5 Bactéries lactiques probiotiques 18
II.6 Importance biotechnologiques des probiotiques 18
II.6.1 Affinage de fromages 18
II.6.2 Activité acidifiante 19
II.6.3 Activité protéolytique 19
II.6.4 Activité lipolytique et formation de substances aromatiques 19
II.6.5 Formation des exopolysaccharides 19
II.6.6 Biopréservation des aliments 20
II.7 Critère de sélection des souches probiotiques 20
II.7.1 Critères de sécurité 20
II.7.2 Critères fonctionnels 21
II.7.3 Critères technologiques 22
II.8 Mécanisme d'action des probiotiques 23
II.8.1 Renforcement de la fonction barrière de l'intestin 23
II.8.2 Production des substances antimicrobienne 23
II.8.3 Stimulation immunitaire 23
II.8.4 Production d'adhésine et de mucine 24
II.9 Survie des probiotiques 24
II.9.1 Survie des probiotiques dans le tube digestif 24
II.9.2 Survie des probiotiques dans les jus 25

Etude expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthode 26
III.1 Matériels 26
III.1.1 Matériel végétale 26
III.1.2 Matériel biologique 26
III.2 Méthodologie de travail 27
III.2.1 Revivification des souches 27
III.2.2 Préparation des inoculats 27
III.2.3 Prétraitement de matière première, fabrication du jus de carotte /betterave 27
III.2.4 Détermination du rendement d'extraction de jus 28
III.3 Analyses physicochimiques 29
III.3.1 Détermination de la teneur en eau 29

III.3.2 Détermination de la matière organique et des cendres 29
III.3.3 Détermination des solides solubles totaux (SST) 30
III.3.4 Mesure de la conductivité électrique 30
III.3.5 Mesure de la turbidité 30
III.3.6 Mesure de la viscosité 30
III.3.7 Mesure de la densité 31
III.3.8 Recherche de la pectine 31
III.3.9 Détermination du pH 31
III.3.10 Détermination de l'acidité titrable 31
III.3.11 Détermination de la teneur en protéines 32
III.3.12 Dosage des sucres totaux 33
III.3.13 Détermination du contenu minéral 34
III.3.14 Détermination de la teneur d'acide lactique 34
III.4 Dosage des composés bioactifs dans le jus 35
III.4.1 Dosage des composés phénoliques totaux 35
III.4.2 Dosage du contenu total en flavonoïdes (CTF) 35
III.4.3 Dosage des caroténoïdes 36
III.4.4 Dosage de la vitamine C 36
III.4.5 Dosage des bétalaines 37
III.5 Activité antioxydante 37
III.5.1 Test du pouvoir réducteur de fer (PRF) 37
III.5.2 Test du radical libre (DPPH°) 38
III.6 Analyse microbiologique 39
III.6.1 Dénombrement des bactéries lactiques 39
III.7 Analyse sensorielle 40
III.8 Analyse statistique 40
Chapitre IV : Résultats et discussions 41
IV.1 Rendement de jus 41
IV.2 Analyses physicochimiques 41
IV.2.1 Teneur en eau 41
IV.2.2 Cendres 43
IV.2.3 Degré Brix 44
IV.2.4 Conductivité électrique 45
IV.2.5 Turbidité 46
IV.2.6 Viscosité 47
IV.2.7 Densité 48

IV.2.8 Recherche de pectine 49
IV.2.9 pH 50
IV.2.10 Acidité titrable 51
IV.2.11 Teneur en protéines 52
IV.2.12 Sucres totaux 53
IV.2.13 Contenu minérale (cuivre, zinc, cadmium) 54
IV.2.14 Acide lactique 55
IV.3 Caractéristiques phytochimiques de jus 56
IV.3.1 Polyphénols totaux 56
IV.3.2 Flavonoïdes 57
IV.3.3 Caroténoïdes 58
IV.3.4 Vitamine C 59
IV.3.5 Bétalaines 60
IV .4 Activité antioxydante 62
IV.4.1 Test du radical libre (DPPH) 62
IV.4.2 Pouvoir réducteur ferrique (PRF) 63
IV.5 Evolution des caractéristiques microbiologiques 64
IV.6 Analyse sensorielle 65
Conclusion 67
Références bibliographiques 68
Annexes
Résumé

Introduction

Introduction

L'évolution actuelle dans l'industrie des boissons s'oriente vers des nouvelles combinaisons de probiotique et de jus de fruits ou légumes additionnés parfois des composants bioactifs renforçant leurs qualités diététiques et thérapeutiques. Parmi les obstacles à la consommation de ces produits, leur fragilité, leur faible durée de conservation sont les raisons couramment évoquées par les consommateurs.

La consommation des fruits et légumes a un effet sur la santé reconnu qui peut être associé à leur potentiel antioxydant et nutritionnel (Petruzzi et *al*., 2017). La variété et les pigmentations des légumes leur confèrent également la capacité d'offrir d'autres avantages en plus des nutriments courants tels que les vitamines et les minéraux pour lesquels ils sont surtout connus (Aderinola et *al*., 2019).

Néanmoins les jus mélanges, les smoothies et les boissons fermentées et enrichies sont une manière populaire pour consommer les fruits et les légumes frais à fin de contribuer à une alimentation et à un mode de vie sains (Petruzzi et *al*., 2017).

La carotte (*Daucus carota L*.), l'un des légumes de la nutrition humaine la plus utilisée, comporte des bienfaits sur la santé humaine, elle est riche en bêta-carotène, acide ascorbique, tocophérol est classée comme aliment vitaminé. Les carottes sont une bonne source de glucides, de calcium, de phosphore, de fer, de potassium, de magnésium, de cuivre, de manganèse et de soufre (Reisch et *al*., 2017). Egalement, la betterave est une source d'énergie, elle doit l'essentiel de son apport énergétique à sa richesse en glucides, elle est plus ou moins riche en eau, elle contient aussi de nombreuses vitamines particulièrement du groupe B et C (Medkour et Gasmi. 2017). La consommation de la betterave réduit le risque d'obésité, diabète et des maladies cardio-vasculaires (Kumar et *al*., 2016).

Les aliments fermentés contiennent des organismes qui ont des effets bénéfiques sur la santé et sont généralement considérés comme des "probiotiques". Selon la (FAO) l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture et l'Organisation mondiale de la santé (OMS), ces probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte (Sharma et *al*., 2021).

Les bactéries lactiques (LAB) sont couramment utilisées comme probiotiques ou des souches fonctionnels dans l'industrie alimentaire et des boissons. Ces organismes de démarrage produisent de l'acide lactique comme un produit final principal de la fermentation des glucides.

Depuis l'Antiquité, ces microorganismes ont joué un rôle essentiel dans la fermentation des aliments en raison de leurs attributs physiologiques. Les BL peuvent acidifier rapidement les aliments par la production d'acides organiques, ce qui prolonge la durée de conservation.

L'ajout de ces souches peut également selon plusieurs recherches, améliorer la saveur et la texture des matrices alimentaires et renforcer les effets des probiotiques sur l'organisme, telle que *L Plantarum, L casei, L acidophilus*. Certains consommateurs, en particulier les végétaliens et les personnes souffrant de l'intolérance au lactose, sont de plus en plus intéressés par l'achat et la consommation des produits fermentés non laitiers. Cette demande a conduit au développement de produits fermentés basés sur des matrices alimentaires non laitières. Par exemple, les légumes et les fruits ont été suggérés comme des milieux idéaux pour la croissance des BL (Chen et *al*., 2019).

Cette présente étude s'inscrit dans le cadre de la préparation d'un jus supplémenté en probiotique à base des légumes frais (carotte –betterave) pour pouvoir transmettre les bienfaits de ces microorganismes probiotiques à l'organisme humain, et aussi pour soulever les problèmes des personnes souffrant de l'intolérance au lactose.

L'objectif principale de ce travail est de suivi l'évolution des probiotiques dans le jus durant le stockage à 4°C pour confirmer l'hypothèse que le jus de carotte –betterave est un bon véhicule des probiotiques.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralités sur la carotte, la betterave et le jus

I. Généralités sur les légumes et les jus

I.1 Carotte

I.1.1 Description botanique

La carotte est une espèce herbacée bisannuelle de la famille des apiaceae, la fleur de la carotte est une ombelle aplatie en forme de parapluie, les fleurs sont généralement blanches, et les feuilles de carotte sont composées. La forme de la racine de carotte est toujours conique (Que et *al*., 2019).

Figure 01 : *Daucus carotta* (Olalude et *al.*,2015)

I.1.2 Variété

L'espèce **(*Daucus carotta L)*** est cultivée dans toutes les zones tempérées du monde. La plupart des variétés actuelles dérivent des variétés anciennes, il existe actuellement plus de 400 variétés de carotte, on site quelques types : *Nantais (Napoli), Presto, Premia, Carlo Bangor,Corinna, Austria, Grivola, ErnaCortina, Ibiza,Fidra* (Official Journal of the European Union. 2015).

I.1.3 Origine et production

Les carottes sont originaires d'Asie sont parmi les cultures de légumes les plus importantes dans le monde pour la consommation et les plus importantes sur le plan économique (Xu et *al*., 2019). Les meilleurs pays producteurs de carottes dans le monde entre 1994 et 2014 sont : la chine avec 17.3 millions de tonnes, les États-Unis, l'Ukraine avec 10 millions de tonnes, la plus élevée en Europe et la cinquième au monde (www.fr.ripleybelieves.com). En Algérie entre 2020/2021 environ 5582,00 quintaux de carotte ont été produites dans la wilaya de Jijel sur une superficie de 31 ,50 hectares (DSA, Jijel. 2022).

I.1.4 Composition chimique et valeur nutritionnelle

La carotte est une source de divers macro- et micronutriments. Elle a une bonne valeur nutritive avec 42 kcals d'énergie.

Le goût des carottes est principalement dû à la présence d'acide glutamique et à l'action tampon des acides aminés libres. Elle est riche en vitamines (notamment A, B1, B2, B6, B12 et C), minéraux, phyto-nutriments, sucres, fibres et en composants bioactifs (Surbhi et *al*., 2018). Les carottes sont communément classées selon la couleur de leurs racines : blanche, noire, orange, jaune pourpre et rouge, cette pigmentation a un impact significatif sur la présence de composés bioactifs. La racine de carotte orange contient des grandes quantités d'α-carotène qui est la source la plus riche en β-carotène (précurseur de la vitamine A) (Purkiewicz et *al*., 2020). La composition chimique de la carotte est représentée dans le tableau 01.

Tableau 01 : Composition chimique de la carotte (Surbhi et *al*., 2018).

Composants	Valeurs
Humidité (%)	86-88.8
Glucides (mg/100mg)	6-10.6
Protéines (mg/100mg)	0.7-1.0
Matière grasse (mg/100mg)	0.2-0.5
Fibres (mg/100mg)	1.2-2.4

I.1.5 Effet sur la santé

Le développement en connaissances scientifiques a conduit les consommateurs à être plus conscients de l'alimentation et de la santé. Ils préfèrent consommer des aliments plus nutritifs et frais. La carotte est utilisée pour de nombreuses applications médicinales et thérapeutiques. Parmi les bienfaits sur la santé, réduire le risque de maladie cardiaque, d'hypertension artérielle et le nettoyage du foie. Sa consommation régulière améliore la santé oculo-visuelle (Surbhi et *al*., 2018). Les carottes jouent un rôle centrale dans la protection contre le développement des différents types de cancers (Deding et *al*., 2020).

I.2 Betterave

I.2.1 Description botanique

La betterave (*Beta vulgaris*) est classée comme une herbacée bisannuel de la famille des chenopodiacées dont la racine est gonflée avec une forme ronde, aplatie ou conique (El-Dakak et *al*., 2017). Les feuilles montrent un long pétiole solide et un large limbe entier vert sombre (aujardin.info). Tout est comestible dans la betterave, y compris les racines.

I.2.2 Types de la betterave

Elle est connue sous plusieurs noms communs comme betterave, blette et épinard-betterave (Kale et *al*., 2018). La betterave comprend également les types agricoles suivants (Masih et *al*., 2019) :

- Betteraves sucrières (*var. altissima*), de mangroves utilisées pour la production du sucre.
- Betteraves fourragères (*var. alba*), destinée à l'alimentation animale.
- Betteraves rouges (*Beta vulgaris ssp. vulgaris*), cette dernière étant de loin la plus consommée

I.2.3 Origine et production

L'origine de la betterave est la région méditerranéenne, puis elle a été largement développée dans les continents de l'Europe, l'Amérique, et l'Asie en raison de l'augmentation de sa popularité (Akan et *al*., 2021).

En Algérie, entre 2020/2021, environ 1240,00 quintaux de la betterave ont été produites dans la wilaya de Jijel sur une superficie de 6,00 hectares (DSA, Jijel. 2022).

I.2.4 Composition chimique et valeur nutritionnelle

La betterave rouge est un légume à faible teneur en matières grasses, elle est riche en amidon et en glucides principalement le saccharose

La betterave est une source des fibres solubles, des protéines, étant un produit à valeur calorique modérée. Les racines de betterave sont riches en vitamines C, A, E, K. Ils ont une teneur importante en vitamine B ainsi que l'acide folique.

Les racines des betteraves sont une bonne source de minéraux, comme le manganèse (bon pour la santé des os), le magnésium, le potassium, le sodium, le phosphore, le fer, le zinc, le cuivre, le bore, la silice et le sélénium (Ceclu et *al*., 2020). La couleur rouge intense de la betterave provient de leur forte concentration en bétalaines (Kale et *al*., 2018), qui se compose de deux pigments principaux : bétacyanine (rouge-violet) et bétaxanthines (jaune- orangé) (Sawicki et *al*., 2016). Le tableau suivant représente la composition biochimique de la betterave.

Tableau 02 : Composition biochimique de la betterave (Ceclu et *al*., 2020).

Composés	Valeurs%	
	Racine	Feuilles
L'eau	91.3%	91%
Protéines	1.89%	2.20%
Glucides	7.23%	4.33%
Fibres	3.25%	3.7%

I.2.5 Effet sur la santé

Les bienfaits de la betterave rouge pour la santé démontrés par les études *in vitro* et précliniques comprennent un effet anti-oxydant, antidépresseur, anti-mutagène, anti-cancérogène, diurétique, hépato protecteur, en plus des propriétés immuno-modulatrices. La consommation de la betterave rouge peut aussi contribuer à la protection contre les maladies liée à l'âge (Ceclu et *al*., 2020).

I.3 Jus

Les fruits et légumes sont riche en plusieurs composants biologiquement actifs qui contribuent à une bonne santé et diminuent le risque des maladies chroniques (Henning et *al*., 2017).

Le jus est une méthode efficace pour promouvoir la consommation des fruits et légumes, il est très populaire dans de nombreux pays. Plusieurs études montrent que le jus fait partie d'une alimentation équilibrée offrant une réduction profonde des risques de nombreuses maladies telle que les cancers, les maladies neurodégénératives et les maladies cardiovasculaires (Zheng et *al*., 2017). Les jus sont également une source riche en vitamine C, caroténoïdes, flavonoïdes et en fibres alimentaires, etc. L'acide ascorbique et les polyphénols sont les principaux antioxydants présents dans la variété de jus fournissant des propriétés saines aux jus. Ceux-ci contribuent également à la saveur et les attributs de couleur des fruits et légumes (Khandpur et *al*., 2015).

I.3.1 Classification des jus

Les boissons ne respectant pas la réglementation ne peuvent donc pas être appelées «jus de fruits», mais «boissons aux fruits ou à base de jus de fruits». Les jus sont classés comme ceci :

I.3.1.1 Jus naturels

Sont obtenus par pressage ou extraction d'une seule espèce de matière première et ne contiennent pas d'ajout de sucre ni d'eau ni d'autre jus. Ils sont donc composés uniquement de fruits (Enquête alimentation).

I.3.1.2 Nectars

Nectar de fruit est le produit non fermenté et composé de jus, de purée ou de pulpe de fruits auxquels sont ajoutés de l'eau. La teneur minimale en fruits est réglementée. Les nectars sont le plus souvent réalisés à partir de fruits non consommables sous forme de jus, car trop épais (banane, abricot, pêche, poire) ou trop acides (fruits rouges) (Alimentarius, C. 2005).

I.3.1.3 Jus à base de concentré

Sont obtenus à partir de jus dit « concentré » ; c'est-à-dire obtenu par pression des fruits, pasteurisés puis concentrés par évaporation de l'eau. Ils sont ainsi plus compacts et plus faciles à transporter et stocker.

I.3.1.4 Jus mélangés

Chez lesquels à un jus de base, est ajouté jusqu'à 35% d'un autre jus d'une autres espèce de fruits. On mélange aussi les jus de différente sorte obtenus d'une même espèce de matière première (Salem et *al*., 2003).

I.3.1.5 Jus gazéifiés

Saturé par le gaz carbonique qui augmente la propriété rafraîchissante et sa valeur alimentaire (Salem et *al*., 2003).

I.3.1.6 Jus fermentés

Obtenus par transformation partielle ou complète du sucre naturel en alcool éthylique Salem et al. (2003) soit par fermentation spontanée soit par ajout de ferments ou de probiotiques. L'ajout de ce dernier est considéré par le consommateur comme une valeur ajoutée et un marqueur de haute qualité (Garcia et *al*., 2020).

I.3.2 Jus de légumes

Le jus de légume est le produit naturel provenant de la pression des légumes frais, sains et mûrs, non fermentés (Codex Alimentarius Commission. 2000). Les jus de légumes appartiennent au groupe des aliments fonctionnels qui jouent un rôle important dans le régime alimentaire de l'homme. Certaines études ont indiqué qu'elles pourraient aider à prévenir plusieurs maladies majeures de la civilisation, telles que les problèmes cardiaques, le cancer, le diabète et l'obésité, ainsi que la prévention et réduction de plusieurs carences en micronutriments. En vue de ses propriétés liées à la santé, ils ont attiré l'attention des consommateurs.

Cependant, les jus de légumes crus ont un potentiel de marché limité, en raison de sa courte durée de vie, qui devrait normalement être consommé en quelques jours (Nasiłowska et *al*., 2018).

Les jus de fruits et légumes peuvent donc être considérés comme un apport journalier complémentaire de fruits et légumes (Drieskens et *al*., 2018).

Le mélange de jus est l'une des meilleures méthodes pour améliorer l'arôme, le goût et la qualité nutritionnelle. Il peut améliorer la teneur en vitamines et minéraux en fonction du type et de la qualité des fruits et légumes utilisés (El-Dakak et *al*., 2017), comme exemple le jus de mélange de carottes-betteraves.

I.3.3 Classification des jus de légumes

En général les jus de légumes ont une faible acidité et un pH de l'ordre de 5.5-6.5, les jus de légumes en dépendance de leur acidité peuvent être classés en quatre groupes (Salem et *al*., 2003) :

- jus de légumes acides avec le pH 4.5 environ.
- jus de légumes légèrement acides avec un pH supérieur à 4.5.
- jus acidifiés, on emploie les acides organiques ou minéraux pour abaisser leurs pH.
- jus de légumes ayant subi une fermentation lactique.

I.3.4 Jus de légumes lacto-fermentés

La fermentation a pour premier intérêt de permettre la conservation de matières premières périssables, sans chaîne du froid. C'est un procédé biologique qui consiste en l'utilisation des bactéries lactiques afin de transformer les sources de carbone présentent en acide lactique. La matière première est ainsi transformée biochimiquement.

Les caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles développées par la fermentation dépendent de la composition de l'écosystème de fermentation (matière première et microorganismes) et des paramètres physicochimiques appliqués (température de fermentation et présence d'oxygène par exemple) (Harle., 2020).

Les boissons contenant des cellules viables de probiotiques sont généralement des produits à base de lait, par ex, les yaourts.

Cependant, au cours de la dernière décennie, la demande de produits probiotiques non laitiers a augmenté pour différentes raisons (incidence croissante de l'intolérance au lactose et/ou inquiétude quant à la teneur élevée en cholestérol de certains produits, nouveaux modes de vie, etc.) (Speranza et *al* ., 2020).

De nombreuses matrices végétales peuvent maintenir une grande viabilité des probiotiques, indiquent que la survie des probiotiques dans les matrices végétales est un défi important, puisque les probiotiques exercent une diminution considérable du Ph, nutriments et l'accumulation d'acide lactique. Cependant, des études ont rapporté une viabilité supérieure à 10^6 UFC/mL pendant le stockage, ce qui fait de ces matrices végétales une alternative aux matrices laitières (Agronomie environnement et santé. 2017).

I.3.5 Jus de carotte

Le jus de carotte est produit à partir de carottes (*Daucus carota* L.), contient non seulement de nombreux composants alimentaires importants comme les vitamines, les minéraux et les fibres, mais il est également considéré comme l'une des sources les plus riches en composés bioactifs bénéfique à la santé humaine. La consommation de jus de carotte présente également d'autres effets physiologiques bénéfiques, notamment une augmentation des niveaux d'antioxydants et une réduction de l'inflammation (Zou et Jiang. 2016). Il a été signalé que la consommation de jus de carotte tend à avoir un effet cytotoxique plus important contre les cellules cancéreuses. Il peut également améliorer le système immunitaire, protège contre les accidents vasculaires cérébraux, l'hypertension artérielle, l'ostéoporose, l'arthrite, les maladies cardiaques, l'asthme bronchique et les infections des voies urinaires (Adubofuor et *al*., 2016). D'autres études ont examiné la pertinence du jus de carotte produit avec des bactéries probiotiques comme boisson fonctionnelle. Le jus de carotte semble être un bon milieu pour les souches probiotiques (Shori. 2016). Le diagramme suivant représente les étapes de fabrication de jus de carotte.

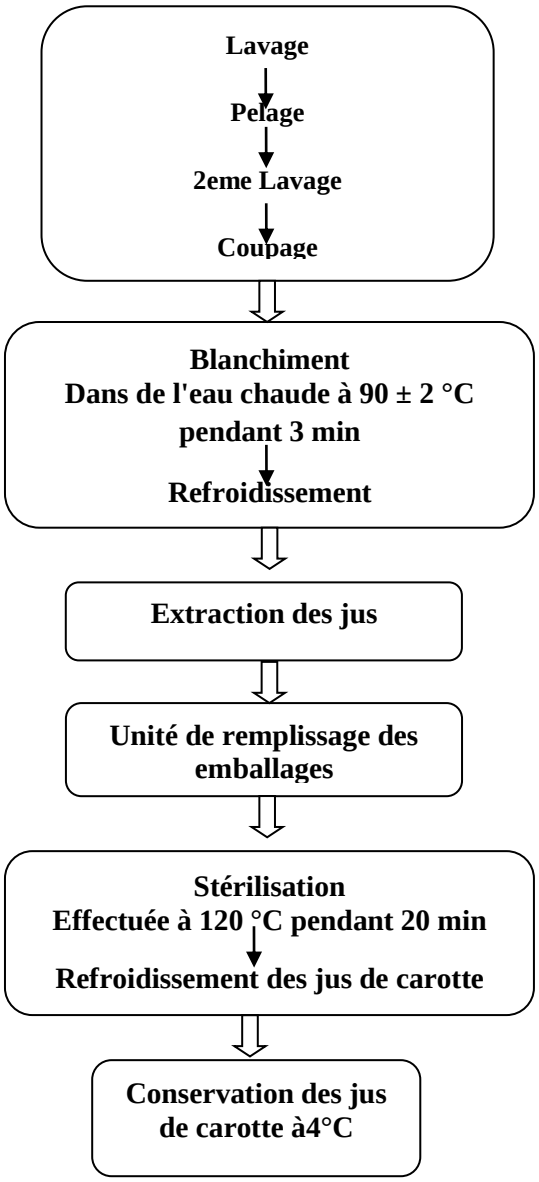


Figure 02 : Diagramme de fabrication du jus de carotte (Skoczylas et *al* ., 2020)

I.3.6 Jus de betterave

Le jus de betterave rouge a gagné une popularité en raison de son activité biologique et son utilité potentielle comme aliment fonctionnel qui présente des bienfaits favorable sur la santé et aide à prévenir les maladies (Desseva et *al*., 2020). Les rapports scientifiques ont indiqué que le jus de betterave possède beaucoup d'avantages nutritionnels et médicinaux; en plus de sa richesse en vitamines et minéraux tels que le phosphore, le calcium, le magnésium, le soufre; il est également une excellente source de nombreux antioxydants. La propriété antioxydante aide à prévenir la formation de tumeurs cancéreuses, ce qui fait de lui donc un puissant agent anticancéreux. Son efficacité contre le cancer du côlon et de l'estomac a été établie par diverses études, comme celle du (El-Dakak et *al*., 2017).

Le jus de betterave est riche en sucre qui peut être utilisé comme source carbonée de fermentation pour la production de biomasse microbienne (Djilali et *al*., 2020). Le diagramme suivant schématise les étapes de fabrication du jus de la betterave.

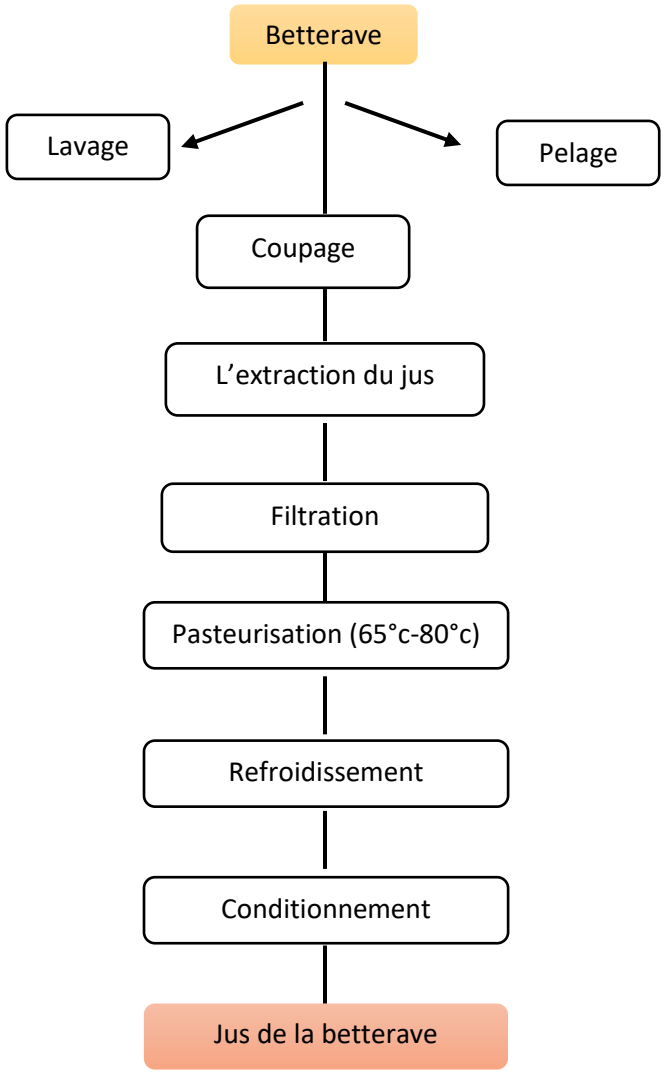


Figure 03 : Diagramme de fabrication du jus de la betterave (Dhiman et al., 2021)

I.3.7 Technologies de fabrication du jus

I.3.7.1 Le blanchiment thermique

L'obtention des grandes quantités de jus de haute qualité dépend de la méthode d'extraction technologique utilisée et du prétraitement de la matière première avant le pressage, les prétraitements les plus prometteurs sont le blanchiment.

Le blanchiment thermique est l'une des méthodes les plus utilisées sur les légumes avant de presser le jus pour préserver la couleur, éliminer l'air emprisonné qui risquent de se retrouver dans l'emballage final du produit, minimiser le brunissement non-enzymatique, inactiver les enzymes et les microbes, tuer les parasites de la surface des légumes et augmenter le taux d'extraction des ingrédients bioactifs. Ces procédés sont conçus pour effectuer une relaxation des tissus de légume et donc pour faciliter le processus de pressage. Le rendement du procédé et la quantité d'ingrédients actifs obtenus dépendent de la température et de la durée du procédé ; généralement, un bain-marie est utilisé pour maintenir une température de 70-100°C pendant plusieurs minutes (1-10 min) (Adubofuor et *al*., 2016) ce qui entraine des pertes dans certains composants bioactifs. Le traitement thermique induit souvent une perte de nutriments, une altération de la couleur ainsi que des modifications des propriétés sensorielles (Petruzzi et *al*., 2017).

I.3.7.2 Cuisson à la vapeur

La cuisson consiste à chauffer un aliment à un certain niveau sur une période donnée et dans un environnement bien défini. La cuisson à la vapeur est un processus qui met l'aliment en contact direct avec la chaleur en supprimant le phénomène d'osmose, l'eau devenant vapeur à la température de 100°C. La vapeur permet également une cuisson homogène tout en préservant les qualités des aliments cuits (Turkmen et *al*., 2005).

I.3.8 Procédés de conservation de jus

I.3.8.1 Traitements thermiques

I.3.8.1.1 Pasteurisation

Les légumes sont très périssables et doivent être conservés de façon appropriée (Peng et *al*., 2017).

La pasteurisation thermique est une forme relativement douce de traitement thermique qui est utilisée pour inactiver les microorganismes relativement sensibles à la chaleur, tels que les microorganismes végétatifs, bactéries, levures et moisissures, qui sont responsables de la détérioration ou de l'intoxication alimentaire.

En plus de l'inactivation microbiologique, la pasteurisation thermique est utilisée pour inactiver les enzymes des jus de fruits comme la polyphénoloxidase (PPO), la lipoxygénase (LOX), la peroxydase (POD), 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 risques ou pertes de qualité du jus à basse température ou à température ambiante (Ağçam et *al*., 2018).

Les procédés de pasteurisation utilisés dans l'industrie ne tuent pas tous les micro-organismes dans les aliments, ils ne ciblent que les pathogènes pertinents et les organismes de détérioration qui peuvent croître pendant l'entreposage et la distribution (Peng et *al*., 2017).

I.3.8.1.2 Réfrigération

Le froid arrête ou ralentit l'activité cellulaire, les réactions enzymatiques et le développement des micro-organismes. Il prolonge ainsi la durée de vie des denrées alimentaires en limitant leur altération. Néanmoins, les micro-organismes éventuellement présents ne sont pas détruits et peuvent reprendre leur activité dès le retour à une température favorable.

Cette technique consiste à abaisser la température pour prolonger la durée de conservation des aliments. À l'état réfrigéré, les cellules des tissus animaux et végétaux restent en vie pendant un temps plus ou moins long, et les métabolismes cellulaires sont seulement ralentis. La température des aliments réfrigérés est comprise entre 0°C et + 4°C pour les denrées périssables les plus sensibles (Www.economie.gouv.fr).

I.3.8.2 Acidification

Traditionnellement, la durée de conservation des jus de légumes a été améliorée en utilisant des techniques thermiques qui inactivent les enzymes et les micro-organismes. (Jabbar et *al*., 2014). D'autres méthodes les plus utilisées pour d'acidification des jus de légumes comprennent, l'ajout d'acide organique, tel que l'acide citrique et l'acide acétique. L'utilisation des bactéries productrices d'acide, et le mélange avec des jus de fruits acides tels que jus d'orange, de citron, de pomme et de canneberge (Yu et *al*., 2012).

I.3.9 Composés bioactifs dans le jus

Tableau 3 : Composés bioactifs du jus de carotte et de betterave

Composants bioactifs	Jus de carottes	Références	Jus de betteraves	Références
Caroténoïdes	α-carotène, β-carotène lutéine, zéaxanthine et lycopène	Purkiewicz et al. (2020).	β-carotène, dérivés oxygénés (xanthophylle comme la lutéine)	Chhikara et al. (2018)
Antioxydants	Caroténoïdes	Purkiewicz et al. (2020).	Bétalaïnes (bétacyanines, bétaxanthines)	Babarykin et al. (2019)
Polyphénols	Acide (Chlorogénique, férulique, p-coumarique, caféique)	Purkiewicz et al. (2020).	Acide férulique	Dhiman et al. (2021)
Flavonoïdes	Anthocyanines, monomères et polymères de flavon-3-ol, flavonols et proanthocyanidines	Tanguler et al. (2021).	bétagarine, bétavulgarine, cochliophiline	Chhikara et al. (2018)
Vitamine	Thiamine, la riboflavine et le complexe de vitamine B	Adubofuor et al. (2016)	Vitamine A, vitamine C et B3, thiamine, riboflavine,	Babarykin et al. (2019)

Chapitre II :
Généralités sur les probiotiques

II. Généralités sur les probiotiques

II.1 Définition

Les probiotiques sont définit selon l'organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme des microorganismes vivants, qui lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, ont des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte (Chung et *al*., 2020). Aux États-Unis, ils sont déjà vendus en tant qu'aliments conventionnels, compléments alimentaires, aliments médicaux et médicaments, et sont souvent administrés sous forme de capsules, de liquide ou de poudre (Ashaolu. 2020).

II.2 Classification des probiotiques

Il existe de nombreux micro-organismes différents actuellement utilisés comme probiotiques (tableau4). Pour mieux comprendre comment les bactéries sont nommées et classées, la discussion suivante peut être utile. Le genre est le premier nom d'une bactérie (par exemple, *Lactobacillus*). Il est assez général et fait référence à un regroupement d'organismes basé sur la similitude de qualités, tels que les caractéristiques physiques, les besoins métaboliques et les produits finaux du métabolisme. L'espèce est le second nom d'une bactérie (par exemple, acidophilus). Il s'agit d'une classification beaucoup plus étroite basée sur des caractéristiques communes partagées qui les distinguent des autres espèces. La souche est une classification encore plus spécifique qui divise les membres d'une même espèce en sous-groupes sur la base de plusieurs propriétés que ces bactéries ont en commun et qui les distinguent des autres membres de l'espèce (Khalighi et *al*., 2016).

Tableau 04 : Microorganismes probiotiques (Khalighi et al., 2016).

Lactobacillus spp	*acidophilus* *plantarum* *rhamnosus* *Paracasei* *Fermentum* *reuteri* *johnsonii* *brevis* *casei* *lactis* *delbrueckiigasseri*
Bifidobacterium spp	*Breve* *Infantis* *Longum* *Bifidum* *Thermophilum* *Adolescentis* *Animalis* *lactis*
Bacillus spp	*Coagulans*
Enterococcus spp	*faecium*
Streptococcus spp	*Thermophilus*
Saccharomyces spp	*Cervisiae*

II.3 Allégation santé des bactéries probiotiques

Le terme allégation est défini par le codex Alimentarius comme « tout message ou représentation (image, graphique, symbole) mentionné sur certains emballages. Il est intéressant de noter que certains pays (par exemple l'Italie et le Canada) incorporent une liste d'espèces considérées comme probiotiques dans leurs directives réglementaires. En revanche, dans la plupart des pays européens, les aliments ne sont pas autorisés à utiliser ou à mentionner les termes "probiotiques" ou "contenant des probiotiques» sur les étiquettes (Marco et *al*., (2017). Même si de nombreuses souches probiotiques sont bien documentées " généralement reconnues comme sûres". L'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et la FDA américaine n'attribuent pas à l'administration de probiotiques la capacité de prévenir ou de traiter.

Les probiotiques sont achetés comme compléments alimentaires dans de nombreux pays qui suivent les politiques actuelles du marché.

L'EFSA n'a approuvé aucun produit probiotique avec des allégations de santé. Les principales raisons pour lesquelles ces demandes d'approbation ont été refusées sont les suivantes : caractérisation insuffisante, allégations non définies, allégations non bénéfiques, l'absence d'études humaines pertinentes, l'absence de résultats mesurables qui reflètent un bénéfice direct pour les humains. De plus, de nombreuses études sur les probiotiques manquent d'informations sur le mécanisme d'action potentiel (Plaza-Diaz et *al*., 2019).

II.4 Bienfaits des probiotiques sur la santé

Les boissons à base de fruits, céréales, légumes et le soja ont été proposés comme nouveaux produits contenant des souches de probiotiques ; essentiellement, les fruits et jus de légumes ont été signalés comme un nouveau support adapté aux probiotiques (Patel. 2017). Les scientifiques du monde entier n'ont jamais cessé d'explorer la relation entre les probiotiques et la santé humaine. De nombreuses études scientifiques ont confirmé que les probiotiques oraux aident à prévenir ou à guérir la gastro-entérite, la diarrhée associée aux antibiotiques, la diarrhée du voyageur, la constipation et les infections intestinales. En outre, les probiotiques peuvent inhiber la colonisation des bactéries pathogènes dans le tractus intestinal de l'hôte, et avoir de bons effets préventifs et thérapeutiques sur les maladies liées à l'intestin telles que le syndrome du côlon irritable, les maladies inflammatoires de l'intestin et le cancer du côlon (Gamage et *al*., 2016). Parmi les avantages aussi, le contrôle des infections intestinales, l'amélioration de l'utilisation du lactose, la réduction de l'ammoniac sanguin et la diminution du taux de cholestérol sérique (Goderska et *al*., 2021).

Les probiotiques sont bien connus pour renforcer l'immunité des humains en les protégeant contre les pathogènes gastro-intestinaux, ainsi les mécanismes d'action par lesquels ils exercent leurs effets bénéfiques sur l'hôte comprennent la sécrétion de substances antimicrobiennes, l'exclusion compétitive pour les sites d'adhésion et les nutriments, l'amélioration de la fonction de barrière intestinale et l'immunomodulation (Ashaolu. 2020).

Alors que l'on attend des régimes médicamenteux pour gérer le COVID-19. L'intervention des probiotiques dans la gestion des infections virales comme le COVID-19 est plausible. Les souches probiotiques appartenant aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* possèdent toutes deux des activités génériques de renforcement immunitaire et antivirales.

Selon la littérature, *L. rhamnosus*, *L. gasseri*, *L. casei*, *B. bifidum*, et *B. subtilis* apparaissent comme des probiotiques prometteurs à explorer des avantages dans la gestion de l'infection SRAS-CoV- 2.

Les résultats d'études cliniques et d'essais sur l'homme suggèrent que les souches probiotiques *L. rhamnosus* GG, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. casei* souche Shirota, *B. lactis* Bb-12 et *B. longum* réduisent significativement la prévalence des infections des voies respiratoires supérieures, du rhume, des symptômes grippaux et de la diarrhée associée aux antibiotiques de 40 à 70 % (Singh et Rao. 2021).

II.5 Bactéries lactiques probiotiques

Le terme probiotique "bactéries lactiques" englobe un groupe hétérogène de micro-organismes dont la caractéristique principale est la production d'acide lactique à partir de la fermentation de sucres. Ce sont des cocci ou des bacilles à Gram positif, non sporulés, non mobiles, anaérobies, micro-aérophiles ou aéro-tolérants, ils sont négatifs pour l'oxydase, la catalase et la benzidine. Elles sont dépourvues de cytochromes et ne réduisent pas les nitrates en nitrites ; leur principal produit de la fermentation des hydrates de carbone est l'acide lactique, ce qui explique leur tolérance aux acides puisqu'elles peuvent se développer à des pH très bas ; cependant, d'autres acides gras à chaîne courte comme l'acide acétique peuvent également être produits. Certaines bactéries dites anaérobies facultatives et d'autres anaérobies obligatoires peuvent coloniser transitoirement l'intestin et survivre pendant le transit intestinal ; en plus de leur adhésion à l'épithélium, elles modifient la réponse immunitaire locale de l'hôte. Parmi les bactéries lactiques considérées comme des probiotiques, on trouve des bactéries de l'ordre des Lactobacilles et des Bifidobactéries (Buitron et *al*., 2018).

II.6 Importance biotechnologiques des probiotiques

II.6.1 Affinage de fromages

Le fromage est un produit laitier nutritif enrichi en minéraux essentiels, sel, protéines, vitamines, acides aminés et acides gras. Fabriqué principalement à partir du lait. Diverses souches de BL ont maintenant été explorées dans le processus de fabrication du fromage pour l'évolution des acides organiques dans le fromage. La flaveur du fromage dépend de la dégradation microbienne des produits laitiers par les BL au cours du processus d'affinage (Raj et *al*., 2021).

II.6.2 Activité acidifiante

La capacité d'acidification est une propriété importante utilisée pour sélectionner une culture de départ appropriée pour la fermentation lactique, elle est plus utilisée dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (Mercha et *al*., 2020).

II.6.3 Activité protéolytique

Les enzymes protéolytiques constituent un groupe diversifié d'enzymes qui catalysent plusieurs réactions biochimiques différentes. Un intérêt croissant pour ces enzymes provient de la possibilité de leur utilisation dans de nombreuses industries. Le contrôle complet du processus de protéolyse peut garantir le rendement de produits de la plus haute qualité, elle peut également améliorer les processus technologiques, par exemple, pour améliorer les caractéristiques organoleptiques des produits laitiers et d'autres produits alimentaires fermentés en favorisant l'utilisation de l'enzyme **(**Kieliszek et *al*., 2021).

II.6.4 Activité lipolytique et formation de substances aromatiques

L'ajout d'arômes alimentaires est l'approche conventionnelle pour répondre à la demande d'acceptation des arômes par les consommateurs. La grande majorité des composés aromatiques produits dans le yaourt résultent de l'activité des microorganismes dans les cultures de démarrage. Les organismes prédominants dans ces cultures sont les bactéries lactiques (LAB), par exemple *Lactococcus lactis, Lactobacillussp, Streptococcus thermophilus*, les espèces de *Bifidobacterium* et *Leuconostoc* (Chen et al., 2017).

II.6.5 Formation des exopolysaccharides

Les exopolysaccharides microbiens sont des substances polymères extracellulaires, solubles ou insolubles, synthétisées par des bactéries, des levures, des algues, des champignons, etc. considérées comme des substances à valeur ajoutée et exploitées à différentes fins. Ce sont des composés de poids moléculaire élevé composés d'hydrates de carbone (résidus de sucre), tels qu'acétate, glycérol, pyruvate, sulfate, carboxylate, et phosphates. Les EPS produits par les bactéries probiotiques ont gagné beaucoup d'importance dans les applications thérapeutiques telles que les applications antimicrobiennes, immunitaires, par rapport à d'autres agents naturels.
Les EPS sont biodégradables, non toxiques. Les LAB les plus importants produisant des EPS sont *Lactobacillus, Lactococcus, Bifidobacterium, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus, Enterococcus* et *Weissellasp* (Angelin et *al*., 2020).

II.6.6 Biopréservation des aliments

Le terme « Biopréservation » se réfère à la sécurité alimentaire et à l'extension de la durée de conservation en utilisant des microbes vivants (LAB) et leurs propriétés métabolites. Le terme bio-contrôle est spécifié pour l'utilisation d'une espèce vivante contre une autre pour son contrôle.

Il a été rapporté que la capacité de conservation des aliments des BL est due à la production de peroxyde d'hydrogène, diacétyle, acides organiques, carbone, dioxyde de carbone, d'éthanol, de composés antifongiques tels que le l'acide phényl lactique ou les acides gras, les bactériocines et les antibiotiques tels que la reuteri cycline (Akbar et *al*., 2016).

Une étude a montré que *Lactobacillus curvatus, Lactobacillus sakei* et *Pediococcus acidi lactici* ont été largement utilisés pour augmenter les bénéfices pour la santé et la durée de vie de la viande crue. En outre, les BL produisent de l'acide lactique, de l'acide acétique et des bactériocines, contribuant à maintenir la texture humide et la couleur des produits carnés pendant le stockage (Raj et *al*., 2021).

II.7 Critère de sélection des souches probiotiques

En raison de l'éventail des fonctions cibles et des applications technologiques des probiotiques. La sélection et l'évaluation de nouveaux produits probiotiques sont essentielles. Auparavant il n'existait pas de réglementations internationales pour affirmer l'efficacité et la sécurité des microorganismes probiotiques. Selon les suggestions de l'OMS, de la FAO et de l'EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments), dans leur processus de sélection, les souches de probiotiques doivent répondre à la fois aux critères de sécurité et de fonctionnalité, ainsi qu'à ceux liés à leur utilité technologique (Markowiak et *al*., 2017).

II.7.1 Critères de sécurité

Les souches bactériennes d'acide lactique isolées de l'un des sources suivantes : des humains, la matière fécale des enfants, le lait d'origine humaine et les aliments fermentés, sont généralement reconnues comme GRAS (Generally Regarded As Safe) et sont largement exploités pour leurs bienfaits pour la santé. Les souches utilisées comme probiotique devraient être examinée pour les paramètres de l'innocuité, y compris la sensibilité aux antibiotiques, l'activité hémolytique, production de peroxyde d'hydrogène et la résistance aux différentes actions de défense de l'hôte (la barrière intestinale, le pH, les acides, les sels biliaires, les enzymes pancréatiques **(**Thakur et *al*., 2016).

II.7.2 Critères fonctionnels

II.7.2.1 Résistance aux sels biliaires et aux acides gastriques

Après ingestion des probiotiques, les cellules probiotiques sont face à des facteurs antimicrobiens de l'estomac (pH bas, jus gastrique, et pepsine) et l'intestin (pancréatine et sels biliaires).Les probiotiques doivent avoir une tolérance à l'acide et à la bile ou des mécanismes d'exclusion pour survivre dans l'intestin, la résistance gastro-intestinale varie selon les espèces par exemple, les Lactobacillus sont largement résistants, alors que les bifidobactéries sont extrêmement sensibles à un pH bas, présentant de faibles ou aucun taux de survie à pH 2 et pH 3. En résumé, le pH varie de 2 à 5 et les concentrations des sels biliaires de 0,3 à 2% sont considérés comme essentielles pour le choix de microorganismes probiotiques (De Melo Pereira et *al*., 2018).

II.7.2.2 Adhérence aux cellules épithéliales

L'adhésion cellulaire est un processus complexe impliquant un contact entre les bactéries probiotiques et le mucus intestinal ou les cellules épithéliales dans le but de persister dans l'intestin et empêcher l'évacuation rapide des mucus par la contraction intestinale et après écoulement péristaltique du digeste, et pourrait également conférer un avantage concurrentiel. Le faible niveau de co-agrégation avec les pathogènes peut jouer un rôle important dans la prévention de la formation des biofilms et dans l'élimination de l'agent pathogène du tractus gastro-intestinal, alors que l'hydrophobie à haute surface cellulaire et les pourcentages d'auto-agrégation peuvent conduire à un attachement et colonisation intestinale de l'épithélium.

L'adhésion des souches de probiotiques est habituellement liée aux propriétés de surface des cellules comme l'hydrophobicité, les composants extracellulaires et le profil protéique (Mohanty et *al*., 2019).

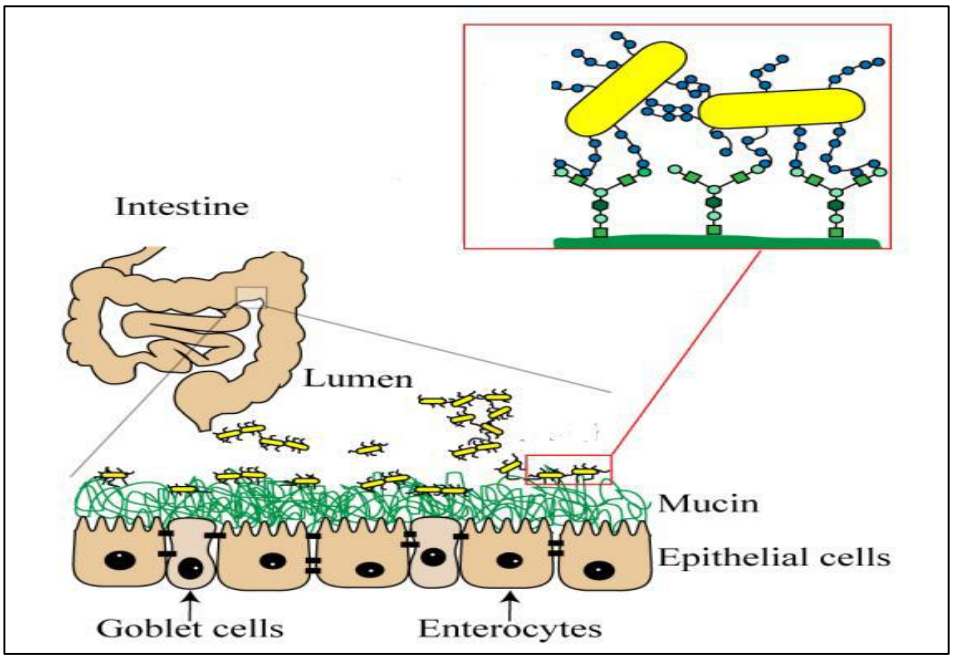


Figure 04 : Mécanismes d'adhésion aux cellules épithéliales (Eshrati et *al*., 2018).

II.7.3 Critères technologiques

II.7.3.1 Viabilité et stabilité des microorganismes

La sélection des probiotiques puissants est un critère important pour déterminer l'efficacité de la souche de probiotique. L'efficacité est liée à la stabilité (physiologique et génétique), au taux de croissance élevé, aux bonnes propriétés sensorielles et à la viabilité de la souche tout au long de la transformation des aliments, de l'entreposage jusqu'à la fin de la durée de conservation des produits ; elle doit survivre et se coloniser lors du passage dans le tractus gastro-intestinal (Gupta et *al*., 2018).

II.7.3.2 Résistance au phage

Les activités bénéfiques des probiotiques peuvent être extrêmement contaminé par les phages. En particulier, cette contamination peut entraîner des pertes économiques importantes, un gaspillage d'ingrédients, une mauvaise qualité des produits, l'augmentation de la détérioration par les bactéries pathogènes (Nagarajan et *al*., 2019).

Les souches probiotiques sont risquées d'être attaquées par des phages, certains phages peuvent causer une lyse des probiotiques et donc ne coloniseront pas l'intestin.

Une surveillance étroite des voies d'entrée, est une méthode rapide et efficace de détection des phages et des mesures de contrôle sont actuellement appliquées pour réduire le risque de propagation des phages (Fernández et *al*., 2017).

II.8 Mécanisme d'action des probiotiques

Les mécanismes d'action des probiotiques impliqués dans les effets bénéfiques exercés sur l'hôte ont complexes et n'ont pas été bien documentés. Les effets des micro-organismes probiotiques varient selon les souches. Ces effets sont dus, soit à la présence de la souche, soit à une interaction avec la flore autochtone ou le système immunitaire (Khalighi et *al*., 2016). Les probiotiques agissent de différentes façons.

II.8.1 Renforcement de la fonction barrière de l'intestin

Les probiotiques sont connus pour renforcer la fonction de barrière épithéliale en serrant les jonctions entre les cellules épithéliales, la modulation de la prolifération cellulaire et l'efficacité et promotion de la sécrétion de mucus (Kim et *al*., 2016). Les probiotiques peuvent avoir une action directe sur les micro-organismes pathogènes par l'inhibition de leur adhésion. Les Lactobacilles et les Bifidobactéries sont démontré leur capacité à inhiber un large éventail d'agents pathogènes en effectuant la colonisation des bactéries pathogènes et enfin en exerçant une activité antagoniste contre les agents pathogènes gastro-intestinaux. Dans de nombreux cas, ce principe est crucial pour la prévention et le traitement des infections et la restauration de l'équilibre microbien (Tewari et *al*., 2019).

II.8.2 Production des substances antimicrobienne

L'autre mécanisme d'action est la modification de la flore microbienne par la production de substances extracellulaires antimicrobiennes importantes qui peuvent tuer les bactéries pathogènes, comme les acides organiques, les enzymes, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines (sont des peptides non toxiques qui préviennent la colonisation des bactéries pathogènes) (Indira et *al*., 2019). La libération de ces composés par des organismes probiotiques peut contribuer à des modifications bénéfiques de la microflore (De Melo Pereira et *al*., 2018).

II.8.3 Stimulation immunitaire

Le système immunitaire de l'hôte est modulé par des bactéries probiotiques dans l'environnement intestinal. On a constaté que les probiotiques contribuent à l'homéostasie intestinale par interaction avec le système immunitaire inné ou adaptatif.

En cas de certaines pathologies, les bactéries probiotiques réagissent avec les cellules épithéliales intestinales et déclenchent une réponse immunitaire de l'hôte en produisant des molécules immunomodulatrices (Kim et *al*., 2016 ; Indira et *al*., 2019).

L'augmentation de l'activité tueuse naturelle en fonctions de la cellule T, et la production de cytokines sont quelques-uns des mécanismes plausibles sous-jacents des activités de régulation immunitaire des probiotiques. La production des cytokines par supplémentation en probiotiques pourrait causer un excès effets immunologiques, conduisant à des phénomènes auto-immuns ou certains inflammations (Kothari et *al*., 2019).

II.8.4 Production d'adhésine et de mucine

Lorsqu'il est indiqué qu'une souche microbienne est un probiotique, il y a des prérequis spécifiques qui doivent être abordés. Un d'entre eux est l'adhésion à la muqueuse intestinale pour la colonisation et l'interaction entre le probiotique administré les souches et l'hôte .Cette interaction spécifique est nécessaire pour la modulation de l'antagonisme contre les pathogènes et pour les actions dans le système immunitaire. Les cellules épithéliales intestinales sécrètent de la mucine pour éviter l'adhésion des bactéries pathogènes (Plaza-Diaz et *al*., 2019).

II.9 Survie des probiotiques

Afin de garantir l'efficacité des probiotiques au point d'action, ils doivent d'abord surmonter plusieurs obstacles physiques et chimiques dans le tube digestif (Kusharyati et *al*., 2020).

II.9.1 Survie des probiotiques dans le tube digestif

Tout microorganisme probiotique, doit avoir une tolérance à l'acide gastrique et les sels biliaires afin de survivre dans l'estomac et l'intestin grêle supérieur (Zhao et *al*., 2022). La tolérance aux acides bactériens est importante non seulement en cas de stress gastrique mais aussi une condition préalable à leur utilisation en tant que suppléments et permet aux souches de survivre plus longtemps dans les aliments.

La tolérance aux sels biliaires est indispensable à la colonisation et à l'activité métabolique des bactéries dans l'intestin grêle de l'hôte (Shehata et *al*., 2016).

II.9.1.1 Facteurs influençant la survie des probiotiques dans le tractus intestinal :

L'efficacité des bactéries probiotiques est influencée par :
Les propriétés fonctionnelles telles que la persistance tout au long du tractus gastro-intestinal et l'adhésion cellulaire. Les bactéries probiotiques ont besoin d'être protégées pour améliorer leur délivrance dans un état actif jusqu'à leur site d'action (muqueuse intestinale).
Les effets de l'encapsulation sur la survie des bactéries (Leonard et *al*., 2016).

II.9.2 Survie des probiotiques dans les jus

Les matrices d'origine non laitière sont de plus en plus utilisées comme véhicules d'approvisionnement pour les probiotiques en raison de leur haute valeur nutritionnelle (Lillo-Pérez et *al*., 2021). L'espèce et la souche bactérienne, en plus de la composition chimique et la concentration de la substance phytochimique dans les jus jouent un rôle important dans la sensibilité et la viabilité des probiotiques. De plus, il y a plusieurs facteurs qui pourraient limiter la survie des probiotiques dans les jus de légumes (Shori. 2016).

II.9.2.1 Facteurs influençant la survie des probiotiques dans le jus

Composés alimentaires : le pH, l'acidité titrable, l'oxygène moléculaire, l'activité de l'eau, la présence de sel, de sucre et des produits chimiques, comme H_2O_2 ou les bactériocines, les aromatisants et les colorants artificiels.
Paramètres de traitement : le traitement thermique, la température d'incubation, la vitesse de refroidissement, les matériaux d'emballage et les méthodes de stockage, les niveaux d'oxygène ainsi que le volume.
Paramètres microbiologiques : Les souches de probiotiques, taux et proportion d'inoculation (Thakur et *al*., 2015).

Chapitre III:
Matériel et méthode

III. Matériel et méthode

III.1 Matériels

Toutes les expériences réalisées dans notre travail ont été effectuées au niveau du laboratoire de contrôle de qualité de l'université de Jijel, y compris la détermination de la viabilité des souches probiotiques (*LB plantarum, LB casei, LB* ...) dans la matrice végétale (le jus de carotte-betterave) durant le stockage à 4°C pendant 21jours.

III.1.1 Matériel végétale

La matière utilisée dans ce travail est constituée de deux légumes frais ; les carottes (*Ducaus carota L*) de la variété Musca d'Alger et la racine de betterave rouge *(Beta vulgaris)* achetés du marché local de Jijel, et triées pour assurer l'uniformité des matières premières sur la base d'une inspection visuelle (couleur, taille et maturation). Les carottes ont été sélectionnées de couleur orange uniforme et de taille moyenne. Les racines de betteraves ont été choisies de couleur foncée uniforme et de taille moyenne. Transportés directement au laboratoire de l'université pour la réalisation des différents tests.

III.1.2 Matériel biologique

Il s'agit de trois souches de bactéries lactiques *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei et lactobacillus acidophilus.* Les souches sont pures et identifiées par séquençage de l'ARN 16S.

Photo 01 : Aspect microscopique du genre *Lactobacillus*

III.2 Méthodologie de travail

III.2.1 Revivification des souches

Les BL *L.plantarum, L.casei* et *L.acidophilus* ont été revivifiées par ensemencement dans le bouillon MRS suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 heures. Les cultures obtenues ont été repiquées sur gélose MRS, puis incubées aux mêmes conditions (Idoui et al., 2009).

III.2.2 Préparation des inoculats

Les inoculations des trois souches bactériennes, *Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus acidophilus* sont réalisées à partir de souches cultivées dans le bouillon MRS. Une concentration de 10^6 UFC/mL des souches ont été repiquées trois fois et incubées à 35°C pendant 24heures (Djilali et al., 2020).

III.2.3 Prétraitement de matière première, fabrication du jus de carotte /betterave

La carotte, la betterave ont subi un lavage, un pelage et un découpage. Par la suite ces différents produits ont été broyés et filtré séparément à l'aide d'une centrifugeuse extracteur de jus (Sonifer juice extractor, SF-5520) jusqu'à l'obtention du jus. Ce dernier est rempli dans des bouteilles stériles en verre. Avant de faire la pasteurisation au bain marie pendant 5 min à 90°c, les deux jus ont été mélangé et agité ensemble avec la même proportion pour préparer le mélange de jus carotte- betterave 50% (v/v) (photo3)**.** Enfin, les flacons sont refroidis sous l'eau froide et conservés à 4°C pendant 21 jours. Le jus préparé est réparti en deux partie l'une reste comme témoin et l'autre ensemencer par les probiotiques comme il est détaillé dans la figure suivante.

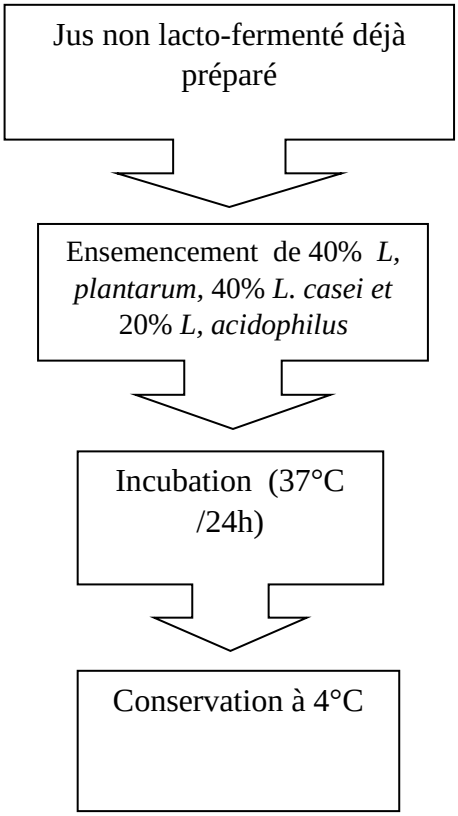


Figure 5 : Diagramme de fabrication du jus de légume lacto-fermenté

Photo 02 : Etapes de préparation du jus

III.2.4 Détermination du rendement d'extraction de jus

Le rendement en jus carotte- betterave a été mesuré sur la base de la masse de produits initiaux et du jus extrait (Adjou et *al*., 2013).

$$(\%)\ \text{du Rendement en jus} = (MJ/MI) \times 100$$

Où :

MI : masse de légumes avant pressage.

MJ : masse de jus après pressage.

III.3 Analyses physicochimiques

III.3.1 Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau a été déterminée par la méthode (Elleuch et *al*., 2008). Un volume de 4 mL d'échantillon est versé dans le creuset puis séché dans une étuve, à une température de 103 ± 2°C. La diminution du poids est suivie par pesée jusqu'à sa stabilisation. Le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$\mathbf{H(\%) = (P\ avant - P\ après) / P\ avant \times 100}$$

H (%) : Taux d'humidité en pourcentage.

P avant: Poids de l'échantillon avant le séchage en gramme.

P après : Poids de l'échantillon après le séchage en gramme.

III.3.2 Détermination de la matière organique et des cendres

Le taux des cendres sont les résidus des composés minéraux qui restent après l'incinération d'un échantillon sous l'effet de la température élevée (500 ± 25 C°). 2 g d'échantillon sont pesés dans des creusets et sont ensuite placés dans un four à moufle (termolyne/furnace 6000 china) réglé à 550 °C pendant 5 heures jusqu'à l'obtention des cendre blanchâtres. Les creusets sont pesés après refroidissement dans un dessiccateur. L'opération est répétée trois fois (Ouattara et *al*., 2016).

La matière organique est calculée selon Foughalia et *al*. (2020) par la fomule suivante :

Avec:

$$MO(\%) = \frac{(M1 - M2)}{p} X100$$

MO : Matière organique (%).

M1 : Masse du creuset contenant la prise d'essai (g).

M2 : Masse du creuset et des cendres (g).

P : Poids de la prise d'essai(g).

La teneur en cendres est calculée comme suit :

$$\mathbf{Cendres\ (\%) = 100\text{-}MO(\%)}$$

III.3.3 Détermination des solides solubles totaux (SST)

Le brix ou les solides solubles totaux des jus a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre (**ATAGO HAND-HELD REFRACTOMETR**).

Le prisme de mesure du réfractomètre doit être maintenu propre. La surface de travail du prisme doit être exempte de rayures. Ajuster le réfractomètre pour déterminer le °Brix / TSS de l'échantillon. Les SST des jus mésuré et exprimés en degré Brix (Reddy et *al*., 2018).

III.3.4 Mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique des aliments est exprimée en fonction du changement de la teneur en ions. Elle est en corrélation avec la concentration en sels solubles (Icier et *al*., 2017). L'électrode du conductimètre **(HI 2300 ec/tds/naclmeter)** est plongée dans un bécher contenant de l'échantillon, la lecture s'est faite directement sur l'afficheur du conductimètre (Zou et Jiang. 2016).

III.3.5 Mesure de la turbidité

La turbidité est la réduction de la transparence due à la quantité de lumière diffusée qui résulte de l'interaction entre un faisceau de lumière et la matière. L'intensité de la lumière diffusée par une particule unique dépend de la taille et de la forme de la particule ainsi que de la longueur d'onde de la lumière incidente et de l'angle de diffusion, qui peut être décrit par un coefficient de diffusion (Metzger et *al*., 2018). Selon la méthode d'Ogando et *al*. (2019), la turbidité est mesurée à l'aide d'un turbidimètre (AQUALYTIC SN 084591, GERMANY). La cuvette de celui-ci est remplie par l'échantillon, puis introduite dans la cellule de mesure en changeant l'échelle de mesure jusqu'à l'obtention de la valeur de turbidité exacte sur l'écran de l'appareil. L'opération est répétée trois fois. Les résultats sont exprimés en unité de turbidité (NTU).

III.3.6 Mesure de la viscosité

La viscosité est un paramètre principal lors de toute mesure d'écoulement de fluides, tels que les liquides, les semi-solides. Les mesures de viscosité sont effectuées en liaison avec la qualité des produits (Reddy et *al*., 2018). Dans cette expérience, la viscosité des jus a été mesurée à l'aide du viscosimètre **(Haake, Viscotester, Germany)** rotatif AR 1000 équipé d'un cône (angle2°, diamètre 40 mm)**.**

Le récipient de celui-ci est rempli avec 250 mL de jus de carotte -betterave, puis sa sonde est introduite dans le récipient en changeant l'échelle de mesure jusqu'à l'obtention de la valeur de viscosité exacte sur l'écran de l'appareil. L'opération est répétée trois fois. La valeur de viscosité a été exprimée en mPa/**s (**Anese et *al*., 2015).

III.3.7 Mesure de la densité

La densité caractérise la masse d'un matériau par rapport à son volume, elle est déterminée par la formule physique suivante :

Densité = poids/volume.

Un volume de 30 mL est prélevé et le poids équivalent est noté pour effectuer les calculs (Rydzak et *al*., 2020).

III.3.8 Recherche de la pectine

La recherche de pectine est déterminée selon la méthode de (Grimi et *al*., 2007). Dans un tube à essai, 10 mL d'éthanol acidifié (1 mL d'acide chlorhydrique concentré dans 100 mL d'éthanol 96%) sont ajoutés à 5 mL de jus. Après 2 agitations renversées et une incubation de 2h à température ambiante, un gel apparaît s'il y a présence de pectine.

III.3.9 Détermination du pH

Le pH de l'échantillon à analyser est déterminé par un pH-Mètre par immersion directe de l'électrode dans une quantité du jus à 20°C pendant 21 jours.

III.3.10 Détermination de l'acidité titrable

L'acidité titrable a été déterminée par titrage avec de solution standardisée de NaOH (0,1 N). 10 mL d'échantillon de jus (carotte – betterave) ont été versés dans un bécher puis 50 ml d'eau distillé et 3 gouttes de phénolphtaléine sont ajoutés. Trois essais consécutifs pour chaque échantillon ont été effectués (Islam et *al*., 2015).

Acidité = (0.0067× V) .100/ 10

Où:

10: Volume de l'échantillon (ml) ;

V: Volume de la solution de NaOH à 0.1 N utilisée (mL);

0.0067 : Facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent de l'acide citrique.

III.3.11 Détermination de la teneur en protéines

Afin de déterminer la teneur en protéines dans les jus de carottes ; nous avons procédé à un dosage de l'azote total qui passe par les étapes suivantes (Islam et *al*., 2015).

III.3.11.1 Minéralisation

Dans un ballon de l'appareil Kjeldahl de 500 mL, introduit 2g de jus de carotte avec 2g de catalyseur (mélange de 20g de sulfate de cuivre et sulfate de potassium), 25 mL de H_2SO_4 concentré (97%) et 2 mL d'eau oxygénée à 30%.

Le ballon est ensuite chauffé jusqu'à ce que la couleur noire se transforme en une couleur limpide, ce qui indique la transformation de l'azote organique en azote minéral. Ensuite on laisse refroidir et on transverse l'échantillon minéralisé dans une fiole, on lave le ballon avec l'eau distillée tout en ajustant le volume jusqu'à 100 mL.

Photo 03 : Etape de la minéralisation

III.3.11.2 Distillation et titration

Dans un ballon, on introduit 10 mL du contenu de la fiole auquel on additionne 20 mL d'eau distillée et 30 mL de la soude à 35%. En parallèle, on prépare une solution d'acide borique à 0,1N avec quelques gouttes d'indicateur de Tashiro. La distillation est arrêtée au bout de 4 minutes à compter du début d'ébullition. En raison de l'utilisation de l'acide borique comme solution de récupération, on va alors titrer l'excès des anions de borate avec la solution d'acide sulfurique (0,1N) jusqu'à virage de la couleur du vert au rose-violet.

(A)

(B)

Photo 04 : (A) étape de la distillation, (B) étape de la titration

L'azote total est calculé par la formule suivante :

$$\text{Azote total (N)(\%)} = (\text{VB} - \text{VE}).\frac{\mathbf{0.0014.10.100}}{\mathbf{M}}$$

Avec :

VB : Volume d'H_2SO_4 0.1N utilisé pour un essai blanc.

VE : Volume de H_2SO_4 0.1N utilisé pour la titration de la solution à doser (mL).

100 : Coefficient du pourcentage.

10 : Coefficient du volume total de la solution à doser.

M : Masse de la prise d'essai.

Le taux d'azote total est converti en taux de protéines brutes selon la formule suivante :

Taux de protéines brutes (%) = N total (%) x 6.25

6.25 : est le facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines.

III.3.12 Dosage des sucres totaux

La technique utilisée est celle décrit par Tajini et *al*. (2020), 1 mL de la solution à doser est mise dans un tube à essai avec 1mL de phénol (à 75 %) ; 2 mL de H_2S0_4 sont ajoutés rapidement sans les faire couler le long des parois et le mélange a été agité immédiatement par le vortex sous la hotte. La réaction étant exothermique donc une importante chaleur se forme au sein du tube, il est donc nécessaire de refroidir le mélange avant l'incubation à 30 °C pendant 10min. L'absorbance a été mesurée à 485 nm. Les résultats sont exprimés en µg d'équivalent de glucose (Annexe 04).

III.3.13 Détermination du contenu minéral

Le dosage de certains métaux dans les jus de carottes-betterave a été réalisé à partir de la méthode d'Adjou et *al*. (2013) comme suit, 3 g de jus sont pesés dans un creuset en porcelaine et portés au four a moufle à 450 °C jusqu'à calcination. Les cendres issues de la calcination sont ensuite dissoutes dans une solution de 5 mL d'acide chlorhydrique (2 N) et la solution obtenue est enfin évaporée jusqu'à siccité. On obtient alors un résidu final qui est à nouveau dissout dans une solution d'acide nitrique de concentration 0,1 moL/L et la teneur en sels minéraux est déterminée par spectrophotomètre d'absorption atomique

III.3.14 Détermination de la teneur d'acide lactique

La production d'acide lactique de nos souches est estimée par un dosage acide base selon la méthode de Bouacha et *al*. (2021).

Un mL d'une suspension bactérienne (jus de carotte- betterave fermenté) de DO 0,3 (10^6 - 10^7 UFC /ml) à 570 nm a été ajouté à 100 mL de bouillon MRS. L'ensemble a été incubé à 37°C pendant 24 h. Le Ph initiale est de 6,52 et final (après 72h), ont été mesurés à l'aide d'un Ph-mètre électronique. Un volume de 10 mL de culture sont dosés par une solution de NaOH 0,1 N, en présence de deux gouttes de phénolphtaléine à 1% comme indicateur coloré, jusqu'au virage du couleur perceptible. La masse de l'acide lactique produite dans 100 mL de culture est obtenue par la formule suivante :

$$\mathbf{M = Nb \times Vb \times 90\ g \times 10} \quad \mathbf{(1)}$$

Nb: normalité de la soude (0,1 N)

Vb: volume en litre de soude ayant servi à neutraliser l'acidité contenue dans 10 mL de la culture

90 g: masse molaire de l'acide lactique

III.4 Dosage des composés bioactifs dans le jus

III.4.1 Dosage des composés phénoliques totaux

III.4.1.1 Extraction des composés phénoliques

Un millilitre de jus de carotte a été extrait avec 10 ml de méthanol et agité dans une zone sombre pendant 24 h dans un agitateur orbitaire. Après centrifugation à 4500 rpm pendant 10 min dans une centrifugeuse (Hettich EBA 20, Germany), les surnageant ont été recueillis, stockés à 4°C pour quantifier les composés phénoliques (Martínez-Flores et *al*., 2015).

III.4.1.2 Dosages des polyphénols totaux

Les composés phénoliques sont connus comme des métabolites s'accumulant chez les végétaux en réponse à un stress (Amiot-Carlin et *al*., 2017). Le réactif de Folin-Ciocalteu, un mélange de phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et de phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), est réduit en oxydes bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}) pendant l'oxydation du phénol. Cette réaction, qui se produit dans des conditions alcalines, est réalisée avec du carbonate de sodium. La coloration bleue est suivie à 760 nm et reflète la quantité de polyphénols, généralement exprimée en équivalent d'acide gallique (EAG) ou équivalent catéchine (EC) (Georgé et *al*., 2005).

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé comme suit, 500µL d'extrait de jus surnageant est mélangé avec 2.5 mL du réactif de Folin-Ciocalteau (dilué 1/10). Le mélange est laissé 2 min à l'obscurité. Ensuite, 2mL de carbonate de sodium ($Na_2\ CO_3$) (75g/l) est ajouté, puis le mélange obtenu est incubé pendant 15min à 50°C.

L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm. Contre un témoin où l'extrait est remplacé par le même volume de solvant utilisé. Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique (mg EAG/100mL) (Annexe 05) (Georgé et *al*., 2005).

III.4.2 Dosage du contenu total en flavonoïdes (CTF)

Les flavonoïdes possèdent un groupement OH libre susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3}, l'intensité de la coloration jaune est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présents dans l'extrait. La teneur en flavonoïdes totaux dans le jus de mélange (carotte-Betterave) est déterminée par la méthode colorimétrique de trichlorure d'Aluminium (Bey et *al*., 2015).

Le CTF de l'extrait de jus a été évalué en suivant le test colorimétrique de Djeridane et *al*. (2006). À 1,5 mL d'extrait, une quantité de 1,5 mL de solution de chlorure d'aluminium à 2% (p/v) a été ajoutée.

Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à la longueur d'onde 410 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage (Annexe 06) établie avec la quercétine et exprimée en microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'échantillon (Arkoub-Djermoune et *al*., 2020).

III.4.3 Dosage des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont un groupe de molécules présentes dans toutes les plantes photosynthétiques (Ahmad et *al*., 2019). Les caroténoïdes totaux ont été analysés selon la méthode décrite par (Kiros et *al*., 2016). Deux millilitres de jus de carotte ont été mélangés pendant 5 min avec 10 ml de chloroforme/méthanol de qualité analytique (2:1). Après agitation, la phase organique s'est séparée de la phase aqueuse et a été filtrée avec un papier filtre et recueillie. La phase aqueuse a été extraite à plusieurs reprises avec 5 mL de chloroforme/méthanol jusqu'à ce qu'elle soit incolore. Tous les extraits recueillis ont été mélangés et dilués jusqu'à 50 mL avec du chloroforme/méthanol, et les caroténoïdes ont été quantifiés à température ambiante (21 °C) par un spectrophotomètre (ModèleSpecord50, Analytique Jina, Germany) à une absorbance de 450 nm. Les résultats étant exprimés en g d'équivalent β-carotène/100 mL d'échantillon (Annexe 07).

III.4.4 Dosage de la vitamine C

La vitamine C est l'un des antioxydants hydrosolubles de faible poids moléculaire les plus abondants que l'on trouve dans tout le règne végétal.

Comme l'homme et certains autres primates n'ont pas la capacité à synthétiser et à stocker la vitamine C, ils dépendent des fruits et légumes frais pour couvrir leur besoins quotidiens (75-90 mg RDA) (Ahmad et al., 2019). La détermination de la concentration en acide ascorbique (vitamine C) selon la méthode de Bergeret. (1957), 10 ml de jus ont été mélangés avec 100 ml d'eau distillée, après homogénéisation et filtration, 50 ml du filtrat a été titré par une solution d'iode à 0.05% en présence de 3ml d'acide sulfurique à 0.1N et quelques gouttes d'amidon à 0.5%. Le point final de la titration est identifié comme étant la première trace permanente d'une couleur bleu-noire foncée due à la formation du complexe d'amidon-iode.

La quantité d'acide ascorbique que contient 1l de filtrat est donnée par la formule suivante :

VC=T.V.176/2E

Soit :

- V : volume d'iode verses (ml)
- T : titre molaire de la solution iode
- E : prise d'essai
- 176 : poids moléculaire de l'acide ascorbique

III.4.5 Dosage des bétalaines

Le dosage des bétalaines a été déterminé selon la méthode de Prieto-Santiago et *al*. (2020). 0.5mL du jus a été placée dans un tube dont 5 mL de solution d'éthanol-eau (50:50 v/v) étaient ajoutés. Le tube a été agité pendant 15 min, centrifugée (5 500 tr/min, 10 min), le surnageant a été récupéré. Cette procédure a été répétée deux fois. La bétaxanthine et la bétacyanine contenues dans les extraits ont été déterminés par spectrophotométrie. L'extrait contenant des bétalaïnes a été dilué avec un tampon phosphaté (pH 6,5) jusqu'à atteindre une absorbance de 0,4 à 0,5 à 538 nm. Les échantillons ont été mesurés à 538 nm, 476 nm et 600 nm (spectrophotomètre UV-6300PC).

La mesure à 538 nm a donné une quantification des bétacyanines, alors que les bétaxanthines ont été quantifiées à 476 nm. La lecture à 600 nm a été utilisée pour corriger l'absorbance des impuretés. Les résultats ont été exprimés en mg de bétacyanine (en bêtanine) par kg et mg de bétaxanthine (en termes de vulgaxanthine) par kg (mg/kg).

Le total de la teneur en bétalaines a été calculé comme la somme des deux bétacyanines et les bétaxanthines et les résultats ont été exprimés en mg par kg de bétalaïnes totales.

III.5 Activité antioxydante

III.5.1 Test du pouvoir réducteur de fer (PRF)

Le pouvoir réducteur des extraits du jus a été mesuré selon la méthode décrite par Arkoub-Djermoune et *al*. (2020). En Bref, 1 mL d'extrait de jus, 0,5 mL de tampon de phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 mL de solution de ferricyanure de potassium (1% p/v) ont été mélangés dans un tube à essai et ont réagi pendant 20 min à 50 °C. Les tubes ont été refroidis immédiatement, et 0,5 mL d'acide trichloracétique (10%) a été ajouté. Après centrifugation à 3 000 g pendant 10 min, 1 mL de surnageant a été mélangé à 1 mL d'eau distillée et à 100 mL de chlorure ferrique

(0,1 % p/v) et a réagi pendant 10 min. Ensuite, l'absorbance à une longueur d'onde de700 nm a été mesurée.

Le PRF des extraits du jus a été déterminé à partir de la courbe standard utilisant l'étalon Trolox ($y = 0,002\ x$; $R^2 = 0,997$) ; et les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalent Trolox par cent grammes de poids frais (mg ET/100 g PF).

III.5.2 Test du radical libre (DPPH°)

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir et d'inhiber l'initiation ou la propagation des réactions en chaîne d'oxydation générées par les radicaux libres réactifs avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Les antioxydants peuvent inhiber la réactivité des radicaux libres par plusieurs mécanismes, notamment le don d'hydrogène et le piégeage des radicaux. Les méthodes actuelles de détermination de l'activité antioxydante sont basées sur la détermination spectrophotométrique par les mécanismes de transfert d'atomes d'hydrogène. Parmi ces tests, le test DPPH° est simple et l'une des méthodes les plus utilisées. Il est basé sur la réduction du radical violet DPPH° par l'antioxydant via un mécanisme de transfert d'atomes d'hydrogène pour provoquer un changement de couleur en molécules stables jaune pâle DPPH°. Le radical DPPH° violet restant est mesuré par un spectrophotomètre UV-Vis à environ 515 - 520 nm pour déterminer l'activité antioxydante (Sirivibulkovit et *al*., 2018). La réaction du radical libre DPPH° avec l'antioxydant est représentée dans la figure 06.

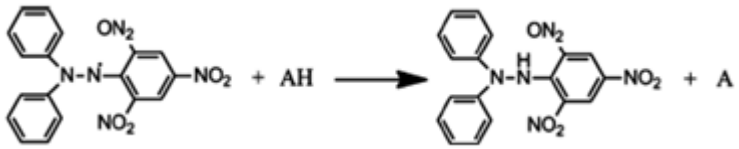


Figure 6 : Réaction de l'antioxydant et du radical libre DPPH°

La capacité de piégeage des radicaux libres de l'extrait contre le DPPH° a été réalisée en utilisant la méthode décrite par Aderinola et *al*. (2019).

Un millilitre de l'extrait a été mélangé avec 1 mL de la solution méthanolique 0,4 mM du DPPH°, puis le mélange a été laissé dans l'obscurité pendant 30 min avant de mesurer l'absorbance à 517 nm. Le contrôle était constitué de méthanol à la place de l'échantillon et la capacité de piégeage des radicaux de l'échantillon a été calculée comme suit :

$$\% \text{ DPPH°} = \text{A contrôle} - \text{A échantillon} / \text{A contrôle} \times 100$$

A : Absorbance

III.6 Analyse microbiologique

III.6.1 Dénombrement des bactéries lactiques

Pour suivi l'évolution du nombre des bactéries lactique dans le jus fermenté préparé, on a préparé des dilutions décimales jusqu'à 10^7 ainsi un volume de 0.1 mL ensemencer en surface suivi d'une incubation pendant 24h à 37°C.

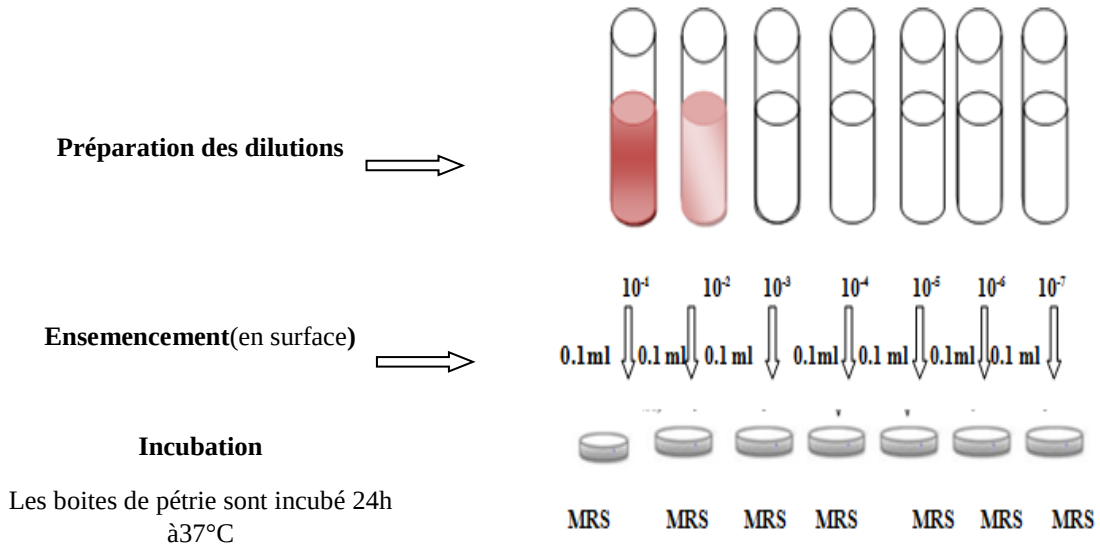


Figure 07 : Dénombrement des bactéries lactiques

Dénombrement

En utilisant la formule de dénombrements suivants (Afif et *al*., 2008) :

$$N = \Sigma \text{ de colonies } V / \times (n1 + 0.1n2) \times d1$$

Où ;

N : nombre d'UFC par ml de produit initial.

Σ colonies : sommes des colonies des boites interprétables.

V ml : volume de la solution (1 mL).

n1 : nombre de boites considérées à la première dilution retenue.

n2 : nombre de boites considérées à la seconde dilution retenue.

d1 : facteur de la première dilution retenue (dilution à partir de laquelle le premier dénombrement est obtenu).

III.7 Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle des échantillons de jus de carotte –betterave ont été évaluées avant et après l'inoculation des probiotiques par 20 sujets sélectionnés au hasard de diffèrent sexe et âge (homme et femme). Les sujets ont reçu un questionnaire (voir l'Annexe 08) pour tester la couleur, l'arôme, le goût et l'acceptabilité générale des échantillons de jus codés en utilisant une échelle de 1 à 10 points pour évaluer la qualité du jus.

Les valeurs moyennes des scores des panélistes pour chaque échantillon et session ont été calculées et utilisées dans l'analyse des données (Adiamo et *al*., 2017).

III.8 Analyse statistique

Chaque test est réalisé en trois essais et les résultats représentent la moyenne ± écart type des trois mesures. Une étude statistique est réalisée pour la comparaison des résultats et la mise en évidence des différences significatives entre les échantillons, et ce, pour chaque paramètre à l'aide d'un logiciel SPSS VERSION 22 un niveau de confiance de 95% Le degré de signification des résultats est pris à la probabilité $p<0,05$.

Chapitre IV :

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussions

IV.1 Rendement de jus

Le rendement en jus est considéré comme un facteur d'importance économique primordiale pour l'industrie de la transformation et fabrication du jus. Le tableau 05 donne le rendement du jus de légumes préparés.

Tableau 05 : Taux du rendement de jus de carotte -betterave préparés

	Pourcentage (%)
Rendement en (%)	54,78

Selon les résultats obtenus dans le tableau au-dessus, il montre que le rendement en jus de carotte-betterave est de 54,78%, ce qui est supérieur à ceux d'Adubofuor et *al*. (2016) et Khandare et al. (2011) qui ont trouvés un rendement en jus de carotte 53,32±5% et 45%, et à celui de Bazaria et Kumar. (2018) qui est de 41,31% d'un jus de betterave. Mais il est faible par rapport à celui donné par Reddy et *al*. (2018) avec 58%.

Le faible rendement s'expliquerait par la perte en eau des carottes. En effet une fois les carottes récoltées, la conservation réalisée à la température ambiante (28 - 30°C), favoriserait des phénomènes de transpiration (Adubofuor et *al*., 2016).

IV.2 Analyses physicochimiques

IV.2.1 Teneur en eau

Les résultats de la teneur en eau des jus fabriqués sont illustrés dans la figure 08.

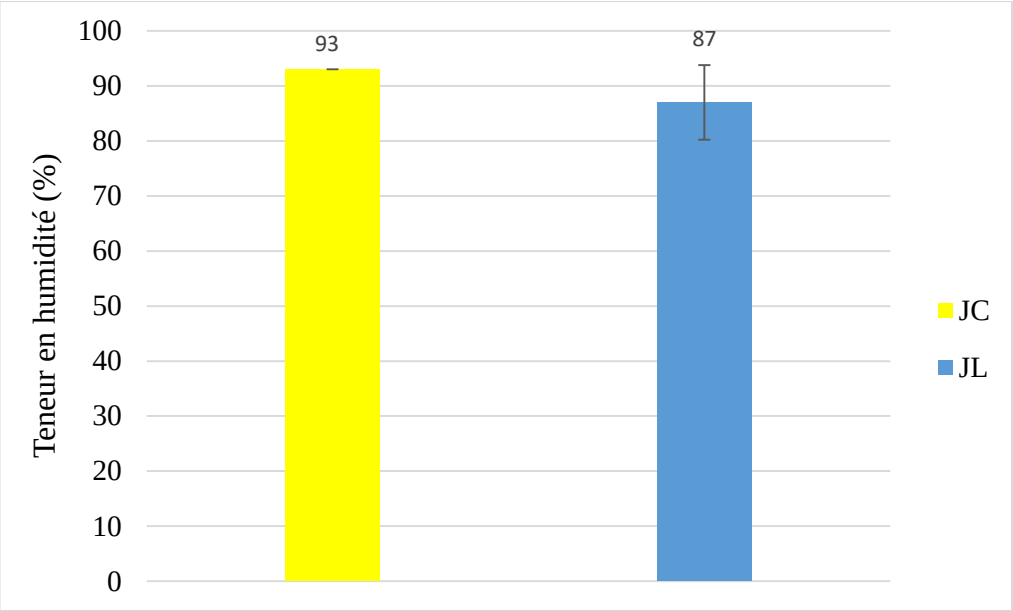


Figure 08 : Taux d'humidité des jus de légumes préparés

Les résultats obtenus montrent une diminution du taux d'humidité pour le JL par rapport au JC. Celui-ci vraie entre 93%±0 ,0 pour le JC et 87±6 ,7 pour le JL. On remarque qu'il n'y a pas une grande différence significative entre les deux types de jus (P>0,05).

Nos résultats sont largement supérieurs à ceux exprimés par Leahu et *al.* (2013) qui ont évalué la teneur en humidité pour le jus de carotte (82,3± 0,6 %) et Desseva et *al*. (2020) ont donné des valeurs de 92,86±0,12 sur leur étude réalisée sur le jus de la betterave. Nous avons marqué des teneurs en eau similaires avec Adubofuor et *al*. (2016) pour 93,22±0,15%.

Selon Rafiq et *al*. (2016) ont travaillons sur le développement d'un jus de carotte probiotique, le taux de l'humidité pour les carottes fraiches et les carottes fermenté atteints les 90,10 ± 6,45% et 90,05 ± 6,20% respectivement, en comparaison avec notre travail il y a une certaine concordance pour les valeurs de JC mais elles sont élevés aux valeurs de JL puisque nous avons évaluée un jus mixte (carotte-betterave).

Les phénomènes de migration de l'eau et la modification de l'humidité dans les produits alimentaires affectent leur durée de conservation par des modifications indésirables de leurs qualités physiques, sensorielles et microbiennes (Leahu et *al*., 2013).

Pour la matière sèche la figure 09 représente les résultats obtenus pour les deux types du jus (JC et JL).

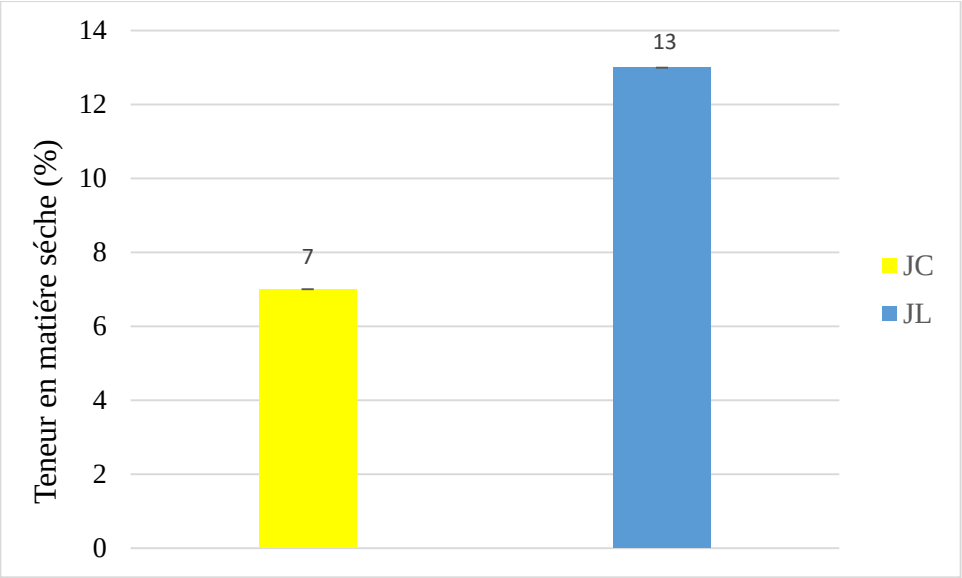


Figure 09 : Teneur en matière sèche des jus de légumes préparés

A partir des résultats obtenus on observe que la teneur en matière sèche du jus fermenté est inférieure à celui du jus de contrôle avec des teneurs de 7 et 13% respectivement. On remarque qu'il n'y a pas une grande différence significative entre les deux types du jus (P>0,05).

Une étude similaire réalisée par Lu et *al*. (2002) sur la même matière première a obtenue des résultats inférieurs aux nôtres, avec une teneur en matière sèche variant entre 4,34 et 5,01%.

Plus la teneur en matière sèche est élevée, plus le jus contient des substances solubles et insolubles, plus la valeur de la viscosité observée est élevée.

IV.2.2 Cendres

Les cendres est un paramètre crucial dans l'évaluation de la qualité d'un produit. Les cendres sont les résidus des composés minéraux qui restent après l'incinération d'une matière organique.

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 10.

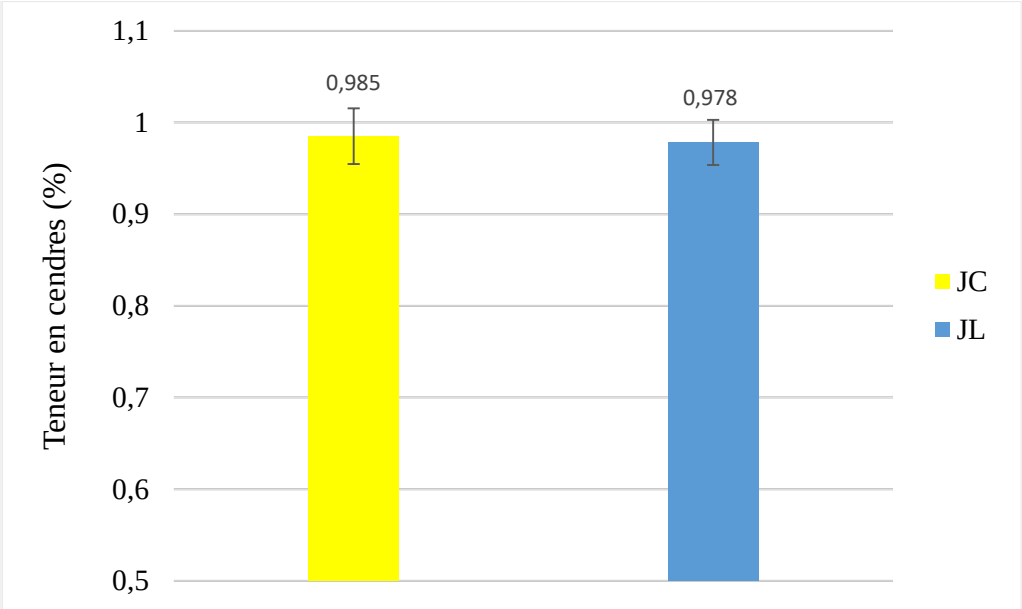


Figure 10 : Teneur en cendres (%) des jus de légumes préparés

Les teneurs en cendres du jus de légume préparé (JC et JL) sont 0,98±0,03% et 0,97±0,02% respectivement. L'analyse statistique révèle une différence significative de la teneur en cendres entre les deux types de jus ($P < 0,05$).

Les résultats obtenus étaient légèrement supérieure à celui d'Abdo et *al*. (2020) qui est de 0,93 ± 0,01%, et inferieure à ceux précédemment rapportés par Rakin et *al*. (2007) ou la teneur en cendre était de 0,43 ± 0,01%.

Egalement d'autres études réalisées sur le jus de carotte fermenté en Inde par Rafiq et *al*. (2016) trouvent des résultats inférieurs aux nôtres qui étaient de 0.34 ± 0.13 et 0.23 ± 0.12 pour jus de carotte fermenté et jus de carotte frais respectivement.

La masse totale des cendres ne correspond pas vraiment à la teneur en matières minérales d'un aliment: il peut y avoir perte de substances par volatilisation ou synthèse d'oxydes et de carbonates pendant la combustion (Francou. 2003).

IV.2.3 Degré Brix

Les solides solubles totales (SST) ou °Brix sont fortement influencées par le pourcentage de matières solides (la pulpe, sucre, glucose..) dissoutes dans le jus (Amin et *al*., 2018). La valeur Brix, qui est le pourcentage de solides solubles, est habituellement utilisée comme mesure de la maturité parce que pendant la maturation, l'amidon est décomposé en sucres (Marigheto et *al*., 2006). Dans notre travail les résultats de mesure de (SST) de jus de carotte -betterave sont mentionnées dans le tableau suivant 06.

Tableau 06 : Taux de solides solubles totales (°Brix)

JC	JL
5,6±0,2	**5,5±0,0**

Il n'y avait pas de différence significative dans les solides solubles totaux (SST) entre le jus de contrôle et le jus fermenté. Les résultats obtenus dans cette étude sont similaire à ceux enregistrés par Adubofuor et *al*. (2016) qui donne une valeur de 5,55±0,01, mais elles sont supérieures à celui du Gamage et *al*. (2016) qui a trouvé des valeurs variant entre 5 et 4°Brix.
Autrement les deux auteurs suivant Thakur et Gupta. (2006) ont montré un °Brix d'un jus de betterave de 6,5° qui est élevé par rapport de notre jus.
Les micro-organismes peuvent avoir une action dans l'hydrolyse des sucres insolubles, favorisant l'équilibre de la teneur en SST pendant le stockage (D'Oliveira et *al*., 2021).
Giddey. (1982) montrent que les sucres varient en fonction de plusieurs facteurs tels que l'âge de la plante, la charge de l'arbre, le stade de maturation et l'état physiologique du fruit lors de l'analyse.

IV.2.4 Conductivité électrique

La conductivité électrique est un paramètre important pour l'évaluation de la qualité des jus et donne une idée sur l'état de fraicheur de celui-ci. La conductivité nous renseigne sur la teneur en sels solubles (Icier et *al*., 2017). La mesure de la conductivité électrique des échantillons du jus est illustrée dans la figure11.

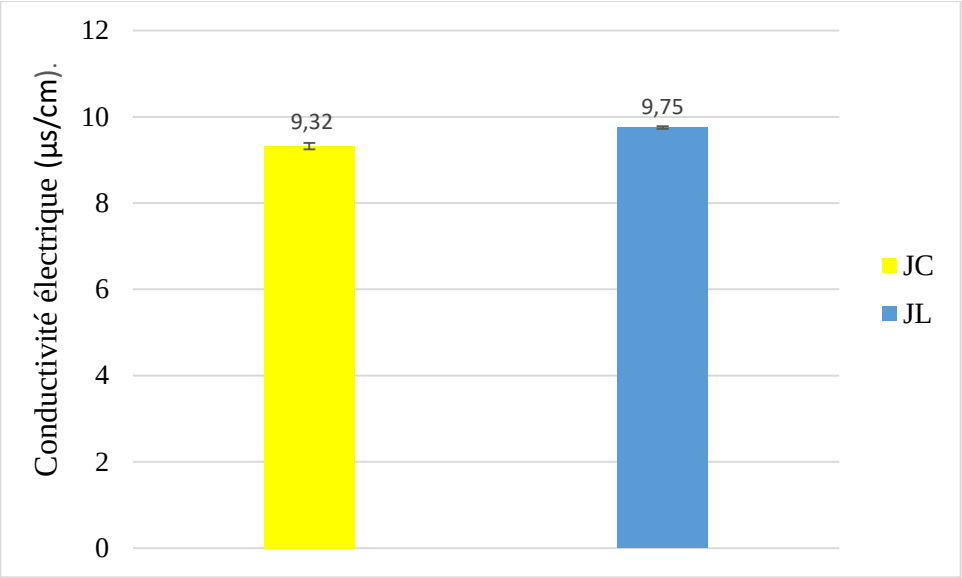


Figure 11 : Conductivité électrique des jus de légumes préparés

Le JC présente une valeur de conductivité électrique légèrement faible de 9,32±0,07 (µs/cm) par rapport à celle du JL qui est de 9,75±0,03 (µs/cm), mais cette différence est non significative (P>0,05).

Les résultats obtenus sont proche de ceux trouvés par Jarcău et *al*. (2017) qui ont rapportés des conductivités de 13 (µs/cm) pour le jus de betterave et 9 µs/cm pour le jus de carotte. La conductivité électrique est influencée par le Ph de la solution, la valence des ions et le degré d'ionisation (Rodrigo et *al*., 2003).

IV.2.5 Turbidité

La turbidité est un bon indicateur de la qualité et de la stabilité du jus. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 12.

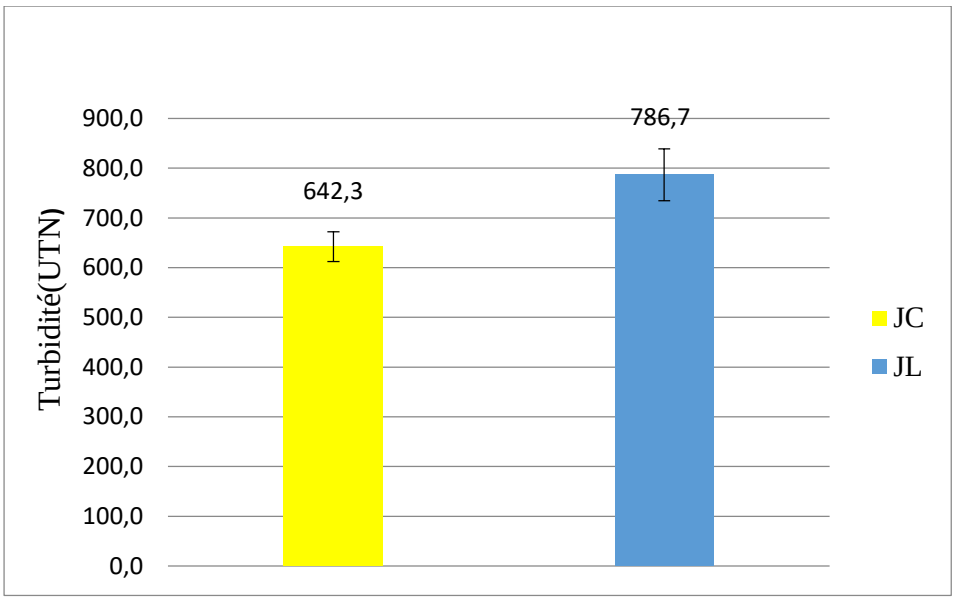


Figure 12 : Turbidité des jus de légumes préparés

Les valeurs de la turbidité de jus de carotte –betterave préparés obtenus sont 786,66UTN pour JL et 642,33UTN pour le JC, Selon l'analyse statistique, ces résultats sont significativement différents (P <0,05).

Ces résultats différents de ceux obtenus par Yu et *al*. (2012) qui ont travaillé sur le mélange de jus de canneberge avec du jus de carotte blanchi à l'eau, avait une valeur de turbidité de 2875 NTU au premier jour.

Yu et *al*. (2012) montrent que les traitements de conservation tels que l'ajout d'acide pendant le blanchiment a significativement augmenté ainsi que la croissance de certains microorganismes qui sont responsables de l'augmentation de la turbidité.

IV.2.6 Viscosité

La viscosité est corrélée à la concentration de sucres, parce que l'ajout du sucre rend le jus plus visqueux car il pénètre dans les membranes cellulaires et augmente la concentration dans le système colloïdal (Zou et Jiang. 2016). La figure 13 résume les résultats obtenus.

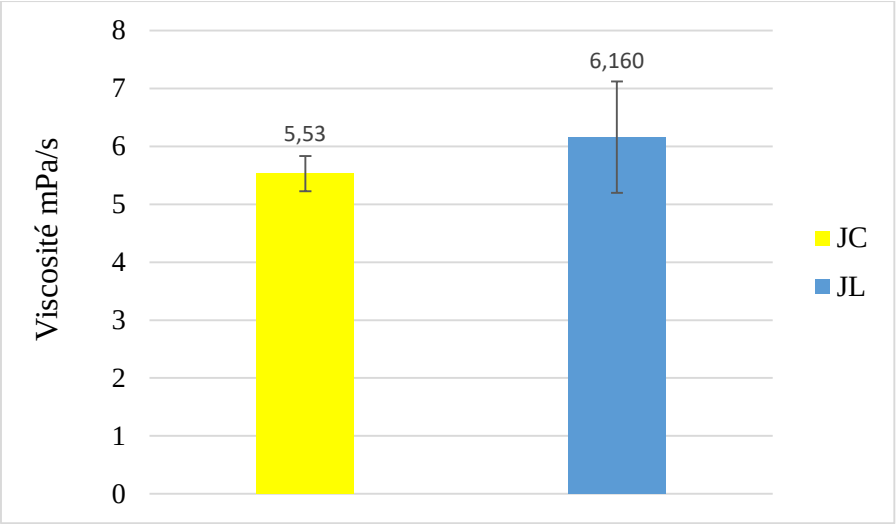


Figure13 : Viscosité des jus de légumes préparés

L'analyse statistique des résultats montre une différence non significative ($P < 0,05$) entre les valeurs de la viscosité des jus fabriqués. A partir des résultats obtenus on observe que la valeur de la viscosité de notre JC est égale à 5,53 ± 0,150 qui est supérieur à celle de JL 6,160 ± 0,014. Nos résultats sont légèrement supérieurs à ceux de Zou et Jiang. (2016) qui ont trouvé des valeurs de 1,97 ± 0,05. Nos résultats sont largement inférieurs à celui de Reddy et *al*. (2018) qui étudie l'impact du traitement enzymatique sur les propriétés physicochimiques de divers jus de légumes (carotte-betterave).

Selon El-Dakak et *al*. (2017) et Emelike et *al*. (2015) il y a une corrélation entre la teneur en sucre, les matières solides totales et la viscosité du jus, car un liquide contenant plus de sucre est plus épais avec une viscosité plus élevée**.** Notre jus ne contient aucun sucre ajouté, ce qui explique la viscosité basse.

IV.2.7 Densité

Les valeurs obtenues de la densité des deux types du jus sont représentées dans la figure 14.

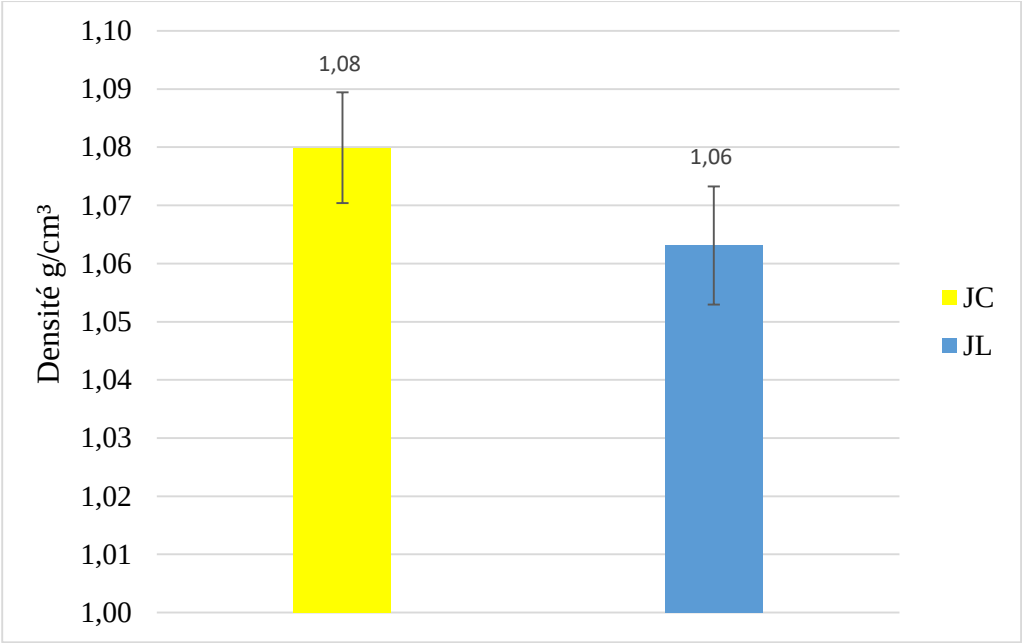


Figure 14 : Densité des jus de légumes préparés

A partir de la figure 13 on remarque que la densité du jus de carotte-betterave frais est égale à 1,08±0,009, tandis que celle du jus lacto-fermenté est égale à 1,06±0,01.

L'analyse statistique révèle une différence non significative (P>0,05). Nos résultats sont presque proches à ceux trouvés par Leahu et *al*. (2013) qui est de 1,025±0,001. Par contre nous avons marqués des valeurs supérieures à ceux de Rodrigo et *al*. (2003) et Janiszewska-Turak et *al*. (2021) qui sont 1,0554 ± 0,0026 et 1,04 respectivement.

D'après les résultats obtenus on peut dire que notre jus est riche en eau car la densité de notre jus est égale à la densité de l'eau qui égale à 1 (Stanton. (2001).

IV.2.8 Recherche de pectine

La pectine, est un groupe de polysaccharides complexes de la paroi cellulaire des plantes, peut être utilisée comme un ingrédient multifonctionnel dans différentes applications alimentaires. L'utilisation de la pectine comme un agent épaississant et gélifiant, par exemple dans les sauces et les confitures, est la fonctionnalité la mieux explorée de ce polymère avec des applications à l'échelle domestique et industrielle (Neckebroeck et *al*., 2020). La photo suivante montre la présence des pectines dans les jus préparés.

Photo 05 : La mise en évidence de la pectine dans les jus de légumes préparés

Dans la production de jus de légumes fermenté, Les bactéries lactiques tels que Lb. plantarum peuvent produire des enzymes pectolytiques telles que la polygalacturonase, la pectinlyase et la pectinestérase qui diminue donc le contenu de la pectine (Idoui et *al*., 2013).

IV.2.9 pH

Le pH est un paramètre déterminant l'aptitude des aliments à la conservation, il constitue l'un des principaux obstacles, que la flore microbienne doit franchir pour assurer sa prolifération. (Giddey., 1982). Dans le processus de fermentation, la vitesse de diminution du pH est très importante.

Le pH faible qui en résulte minimise l'influence des bactéries d'altération, en particulier au début de la fermentation lorsque le substrat est riche en sucres (Gamage et *al*., 2016). Les résultats sont illustrés dans la figure 15.

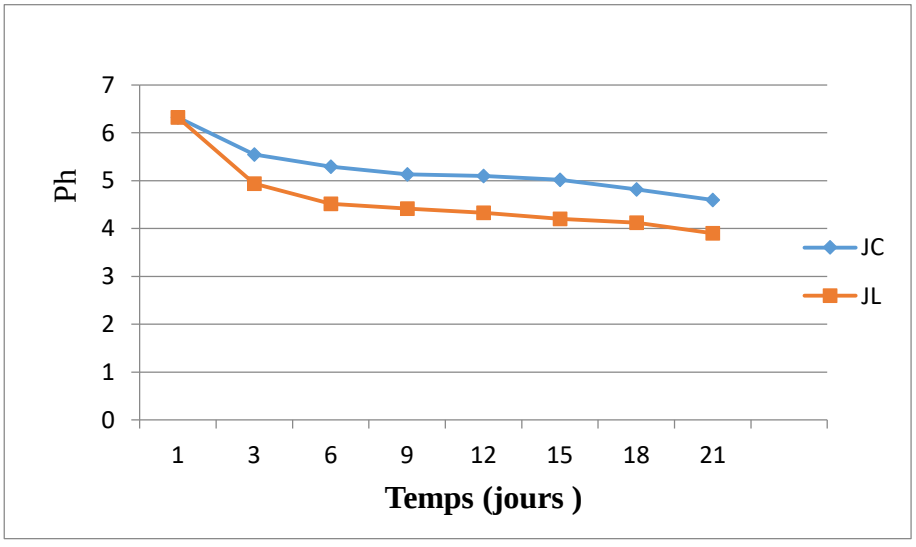


Figure 15 : pH des jus de légumes préparés

D'abord les valeurs de pH de jus de carotte –betterave ont été analysées au cours de stockage à 4°C pendant 21 jours. Le pH de (JC) situé entre 6,32 ±0,12 au début et 4,5±0,00 aux derniers jours d'entreposage.

Ces résultats sont similaires avec notre valeur initiale de jus de carotte analysé par Olalude et *al*. (2015) et Adubofuor et *al*. (2010) qui sont 6,233 ± 0,058 et 5,87 respectivement. Nos résultats sont différents de ceux obtenus par Emelike et *al*. (2015), qui trouvé une valeur de pH de 7,1 pour le jus de betterave. Selon Banigo et *al*. (2015) ont conclu que le jus de betterave et le jus de carotte possède un pH dans l'intervalle suivante 5,59 et 7,1.

En ce qui concerne le JL on observe que il y a une diminution de la valeur pH de jus au cours de temps de stockage à 4°C notre valeurs est compris entre 6,32± 0,12 et 3,9±0,0015. Ces résultats s'accordent avec ceux obtenus par Yoon et *al*. (2005) *L. acidophilus* et *L. plantarum* ont réduit le pH du jus de betterave d'une valeur initiale de 6,3 à moins de 4,5 après 48 heures de fermentation, en raison de leur capacité à produire une plus grande quantité d'acide lactique.

En plus le pH optimal pour la croissance de *L. casei* est de 5,5 cependant le Ph du jus de carotte a été 5,98 (Alwis et *al.*, 2016). Par contre l'effet de *L. plantarum, L. casei* et *L. acidophilus* réduit le pH d'une valeur initiale de 5,97 ; 5,98 à 3,40 ; 3,83 après 48 h de fermentation. On conclut que notre jus est un bon milieu pour la multiplication de *L. plantarum, L. casei* et *L. acidophilus.*

La diminution du pH pendant la fermentation lactique est due à l'accumulation d'acides organiques, en particulier l'acide lactique (Do et *al*., 2019).

IV.2.10 Acidité titrable

Les résultats des mesures de l'acidité titrable de jus de carotte -betterave durant la période du suivi pendant 21jours montrent que l'acidité du jus stabilité durant toute la période de stockage à 4°C comme elle représente la figure16.

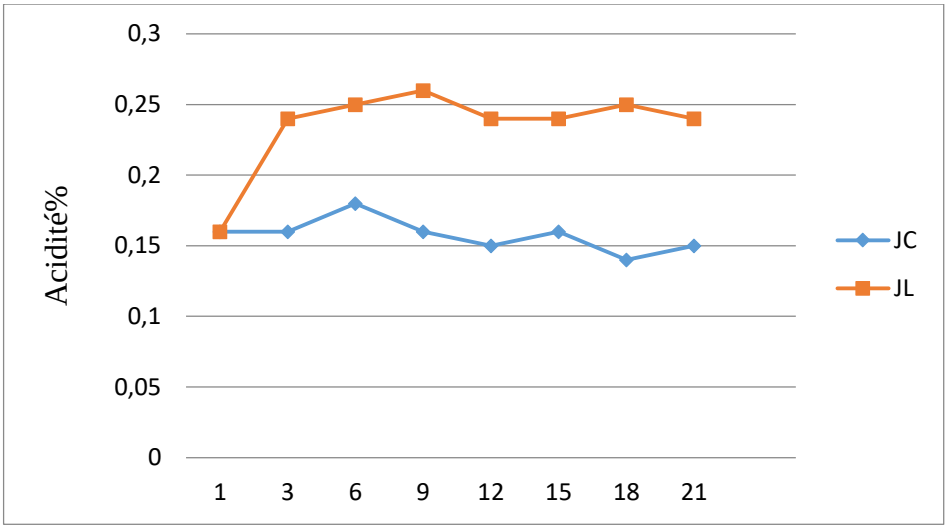


Figure16 : Acidité des jus de légumes préparés

Les valeurs obtenues de l'acidité du JC varie entre 0,16±0,02 et 0,15±0,019%. Tandis que ceux du JL varie entre 0,15±0,02% et 0,24 % ± 0,01, ce dernier est similaire à Yoon et *al*. (2005) qui ont travaillé sur le jus de betterave fermenté par *L. plantarum* et *L. casei* leurs valeurs sont 0,13 ; 0,56 ±0,00 et 0,13 ; 0,25 ±0,00 respectivement. Après 72 heures de fermentation, nos résultats sont similaires à ceux trouvée par Zhang et *al*. (2016) qui est de 0,26%.

L'acidification du jus de carotte-betterave est due à la production de l'acide lactique par les bactéries lactiques utilisées (Zhang et *al*., 2016). L'acidité augmente pendant le stockage en raison de la fermentation et de l'oxydation des sucres. Lorsque les micro-organismes utilisent les sucres comme un nutriment, ils produisent des acides organiques augmentant ainsi la valeur d'acidité (Martínez-Flores. 2015 ; George et Moiloa. 2015).

IV.2.11 Teneur en protéines

Les protéines sont présentes dans les produits animaux et végétaux et représentent entre 10 et 20% de l'apport énergétique des régimes alimentaires. Les protéines sont une composante indispensable de l'alimentation dont le rôle nutritionnel est de fournir des acides aminés, de l'azote et de l'énergie (Tomé. 2008). Les jus des légumes et fruits sont des sources pauvres en protéines (George et Moiloa. 2015).

La figure 17 montre les résultats obtenus du taux de protéines dans le jus brut et lactofermenté.

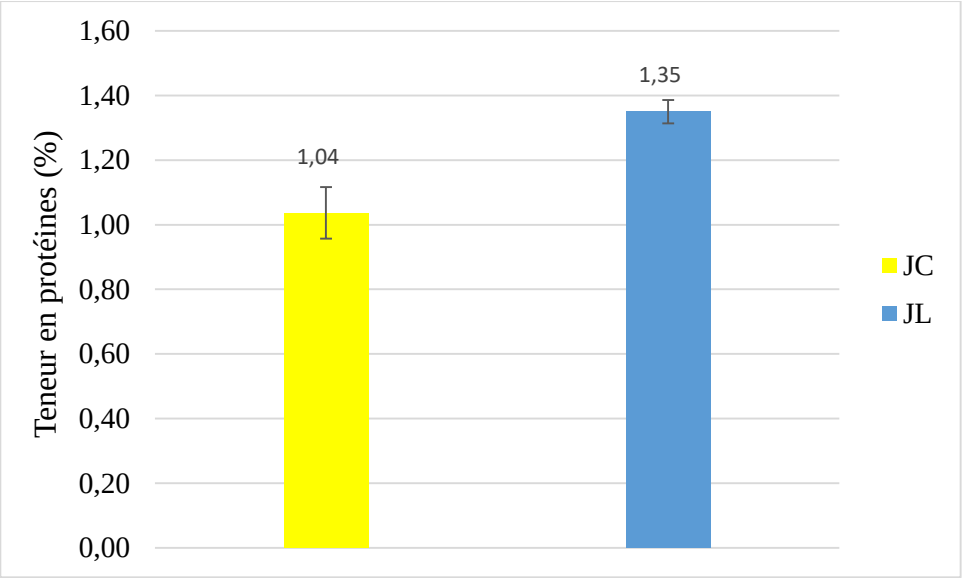


Figure 17 : Teneurs en protéines des jus de légumes préparés

La teneur en protéines du jus probiotique (1,35%) était plus élevée que celle du jus frais (1,04%). L'analyse statistique révèle qu'il n'y a pas une différence significative entre les deux types de jus ($P > 0,05$).

La cause de l'augmentation de la teneur en protéines peut être due à l'activité des microorganismes probiotiques et de leurs métabolites selon Panghal et *al*. (2017) et Rafiq et *al.* (2016). Nos résultats montrent des teneurs en protéines supérieurs à celui d'Alwis et *al.* (2016) et Emelike, et *al*. (2015) qui est de 0,81±0,02 et 0,1 respectivement.

IV.2.12 Sucres totaux

La figure 18 illustre les résultats des teneurs en sucres pour les deux jus de légumes préparés.

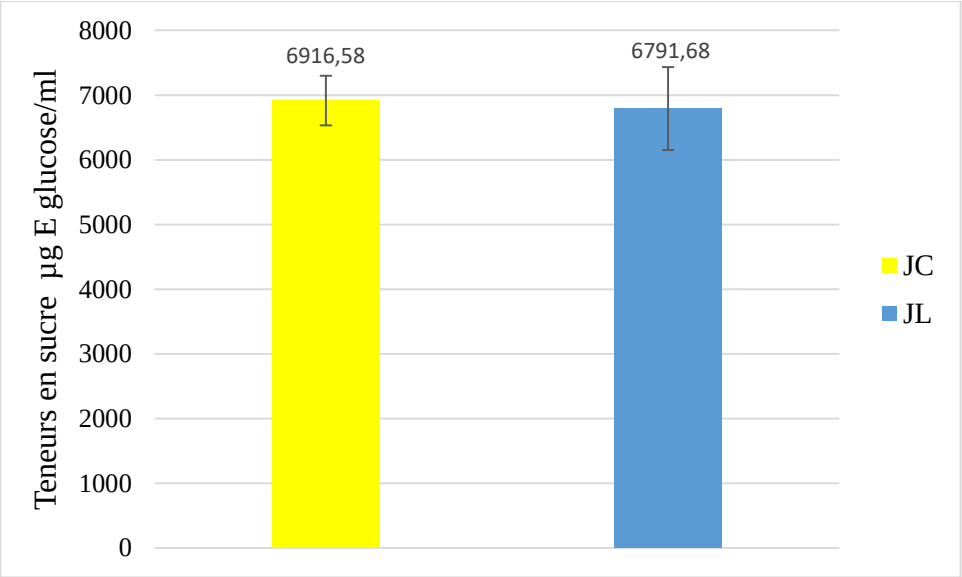


Figure 18 : Teneurs en sucres des jus de légumes préparés

Depuis les résultats obtenus on remarque que la teneur en sucres totaux de JC est supérieur à celle de JL qui est de 6916.58 µg E G/ml et 6791.68 µg E G/ml respectivement, il n'y a pas de différence significative entre les deux jus (P>0,05). Nos résultats sont presque proches à ceux trouvé par Olalude et al. *(*2015) qui était de 6,100±0,346 pour le jus de carotte-betterave analysé.
Selon Yoon et al. (2004) montrent que les cultures lactiques ont rapidement fermenté le jus de tomate et réduit le niveau de sucre. *L. plantarum* a consommé le sucre à un rythme beaucoup plus rapide que *L. acidophilus*, et *L. casei.* Par exemple, *L. plantarum* a réduit le niveau de sucre à une valeur initiale de 32,4 mg/ml à 25,2 ; 21,0 et 19,3 mg/ml après 24, 48 et 72 heures de fermentation, respectivement.
Les deux auteurs Olalude et al. (2015) et Giddey. (1982) montrent que les sucres varient en fonction de plusieurs facteurs tels que l'âge de la plante, la charge de l'arbre, le stade de maturation et l'état physiologique du fruit lors de l'analyse.

IV.2.13 Contenu minérale (cuivre, zinc, cadmium)

Les métaux lourds sont contenus à faibles concentrations dans l'organisme, mais ils présentent des fonctions biologiques importantes. Ils sont apportés par l'alimentation en quantités suffisantes si elle est équilibrée. Dans l'organisme, on peut retrouver des traces des éléments minéraux ou métalliques comme de lithium (Li), d'aluminium (Al), de silicium (Si), de mercure (Hg), de plomb (Pb), de bismuth (Bi), de strontium (Sr), de cadmium (Cd)… (Baudin. 2021).
L'arsenic, le cadmium, le mercure et le plomb, sont des éléments ubiquitaires qui vont inéluctablement contaminer les aliments. Ils peuvent induire divers effets toxiques à faible niveau d'exposition, via le régime alimentaire (Boisset. 2017). Le tableau suivant montre les résultats obtenus.

Le tableau 07 : Quantités des métaux lourds (ppm) dans les jus préparés

Echantillons	Pb	Cd	Zn
JC	0.5223	0.0174	0.2243
JL	0.7245	0.0621	0.2879

Depuis le tableau on observe que la concentration en plomb dans le JC est 0,5223 ppm, elle est inférieur à celle du JL qui contient 0,7245 ppm, Il n'y a pas une grande différence entre les deux types du jus, qui est statistiquement non significative (P>0,05).

Nos valeurs de concentration du plomb sont largement supérieures à ceux du Domagała-Świątkiewicz et *al*. (2012) et Rusin et *al.* (2021) qui ont données une concentration égale à 0,008ppm et 0,1ppm pour le jus de betterave respectivement.

Pour le cadmium, la concentration en JC (0,0174 ppm) est faible par rapport à celle du JL qui a une concentration de 0,0621 ppm. Notre résultat est similaire à celle du Domagała-Świątkiewicz et al. (2012) avec une valeur de 0.06 ppm pour le jus de carotte.

En fin le zinc, il n'y a pas une grande différence entre les concentrations du JC (0,2243 ppm) et du JL (0,2879 ppm). Selon Sharma et *al*. (2012) qui ont rapporté des concentrations équivalentes à la nôtre avec une valeur de 0,2 ppm.

D'après Eric. (2011) la majorité des éléments minéraux se situent dans les tissus végétaux et lors de l'extraction ils se trouvent dans la pulpe, donc seulement 9% qui vont être extraits et présent dans le jus.

IV.2.14 Acide lactique

La formation d'acide lactique est considérée comme le facteur clé de l'effet de la fermentation (Greifová et *al*., 2006). Ainsi les produits fermentés obtenus sont suffisamment riches en acide lactique qui peuvent présenter plusieurs intérêts nutritionnels et thérapeutiques (Idoui. (2013). Le tableau 08 représente les résultats trouvés.

Tableau 08 : Teneur en acide lactique du jus de légumes fermenté préparés

	JC	**JL**
Acide lactique g/l	**/**	**1**

Le jus de carotte –betterave fermenté présente une teneur en acide lactique de 1g/l, après 21 jours de conservation.

Nos résultats sont légèrement inférieurs à celle de Valero-Cases. (2017) qui a trouvé une concentration d'acide lactique environ 2,90 g/L après 20 jours de stockage du jus de carotte et d'orange fermenté.

D'après l'étude de Chen et *al*. (2019) sur le jus de pomme fermenté par quatre souches des bactéries lactique**s** la concentration d'acide lactique a fortement augmenté tout au long de la fermentation et pendant le stockage à 4°C. Une diminution modérée s'est produite aux derniers jours de conservation avec une valeur de 7,48 mg/ml.

IV.3 Caractéristiques phytochimiques de jus

IV.3.1 Polyphénols totaux

Les composés phénoliques constituent l'un des groupes de métabolites végétaux les plus omniprésents et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale. Le rôle des polyphénols dans la prévention des maladies dégénératives, comme le cancer, les maladies cardiovasculaires. Ces composés possèdent de nombreuses propriétés biologiques telles que capacité antioxydant et de leur fonction de protection de la santé, et leur fonction de défense contre le stress oxydatif causé par l'excès d'espèces réactives de l'oxygène (Ahmad et *al.*, 2019). Les résultats du dosage des polyphénols totaux dans nos échantillons de jus analysés sont présentés dans la figure 19.

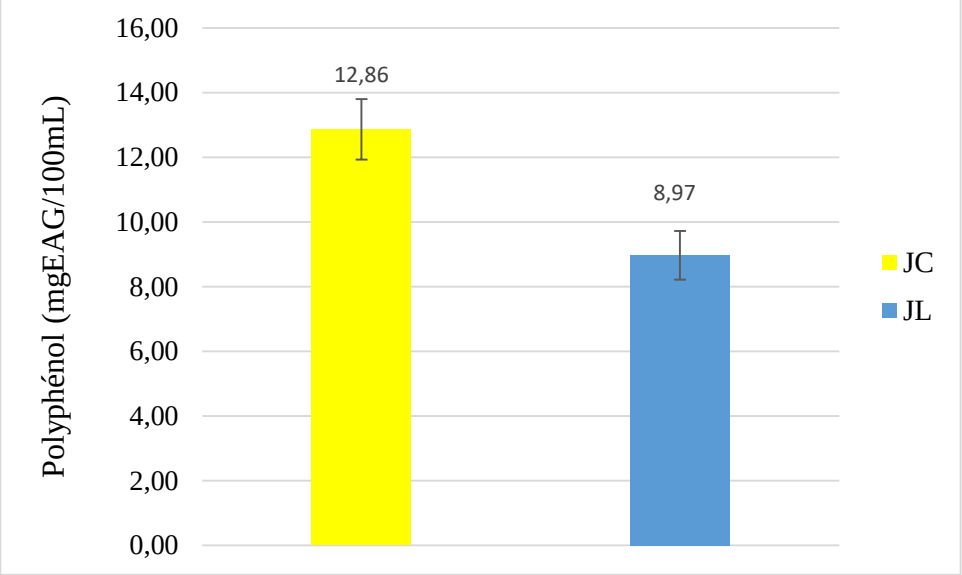


Figure 19 : Teneur en polyphénols des jus de légumes préparés

Les valeurs des concentrations en polyphénols des deux types du jus sont exprimées en mg d'équivalent d'acide Gallique par 100 millilitre de jus qui sont 1,86± 0,93 pour JC et 8,96±0,75 pour JL.

Une étude de Malik et *al*. (2019) sur le jus de carotte –betterave (50%-50%) fermenté montre que les résultats sont largement supérieure à notre jus**,** la valeur de JC est (776 mg GAE/L), et le jus fermenté par *L. casei, L. plantarum, et L. acidophilus* contient entre et 418-498 mg GAE/L respectivement.

Selon El-Masry et El-Rhman. (2017) la quantité de TPC dans les légumes fraîches (carotte – betterave) sont de 78,72 (mgEAG/100mL) et 87,9 (mgEAG/100ml). Ces résultats montrent que l'extraction de jus de ces légumes diminue la quantité des polyphénols totaux.

Par contre nos résultats sont supérieurs à ceux d'Aderinola et Abaire. (2019) qui a trouvé 3,9 (mg EAG/100mL) dans le jus de carotte-concombre (80% 20%).

La diminution de la concentration des polyphénols est attribuée au processus de fermentation, principalement en raison de la dégradation des composés polyphénoliques par les LAB. Certains Polyphénols sont hydrolysés par la microflore en divers acides aromatiques (Malik et *al*., 2019). D'autre coté la température peut également entraîner une dénaturation des composés phénoliques, ce qui justifie la sélection des meilleures limites des températures des traitements thermiques et l'optimisation du processus (Adiamo et *al*., 2018).

Les extraits éthanoliques et aqueux de la racine de betterave ont été analysés pour leurs phytoconstituants. D'un point de vue quantitatif, le contenu phénoliques totaux représentaient 16,88 et 7,81% des extraits éthanoliques et aqueux, respectivement (Jahan et *al*., 2021). Donc on conclut que la méthode d'extraction du jus influence le rendement quantitatif des composés bioactifs.

IV.3.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une grande classe des composants polyphénoliques présents chez les végétaux ils exercent d'énormes effets positifs sur la santé, par exemple l'inhibition de la production des radicaux libres dans le corps humain (Ahmed et Eun. 2018). La figure 20 résume les teneurs en flavonoïdes du jus exprimés en mgE Quercitin.

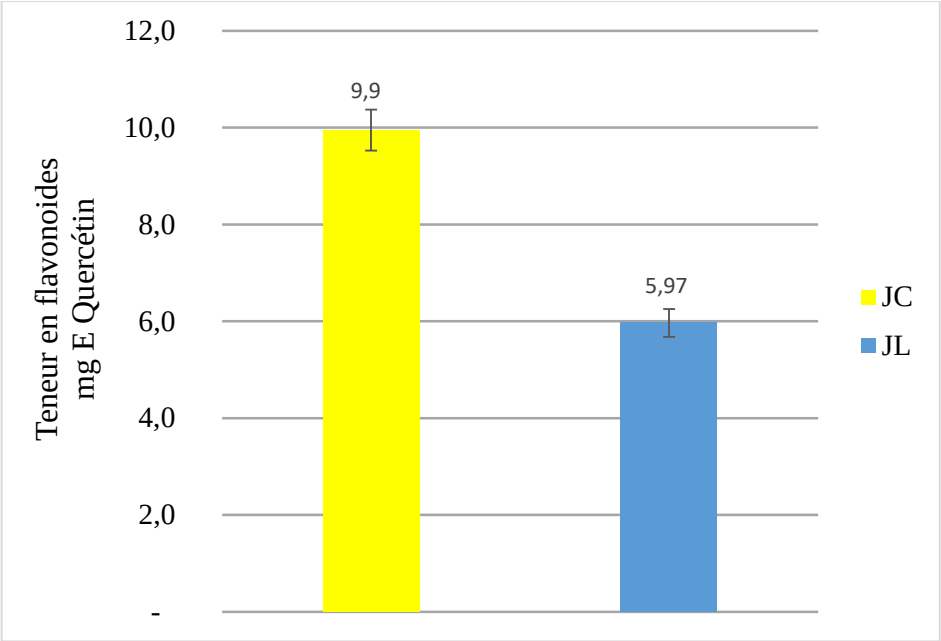


Figure 20 : Teneurs en flavonoïdes des jus de légumes préparés

Les teneurs en flavonoïdes des jus de légumes présentent des différences significatives (P<0,05). En effet, à l'état frais (JC) le contenu en flavonoïdes est de 9,9±0,4mg E Quercétin. Après fermentation on constate des valeurs de 597± 0,28mg E Quercétin.

Cette chute pourrait être due à la présence de microorganismes probiotiques et de leurs métabolites, qui dégradent les composés phénoliques notamment les flavonoïdes qui contient le jus fermenté (JL) (Malik et *al*., 2019).

Nos résultats sont largement supérieurs à ceux données par Panghal et *al*. (2017) et Desseva et *al*. (2020) qui était de 3,61±0,01 pour le jus frais et 3,85±0,02 pour le jus probiotique.

Le contenu des substances phytochimiques est influencé par de nombreux facteurs tels que le degré de maturation, conditions environnementales (la lumière, climat, saison, et le soleil) et aussi les opérations effectuées pendant l'entreposage post-récolte sont très importantes (Tavarini et *al*., 2008).

IV.3.3 Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont le principal antioxydant lipophile de la carotte qui assume de nombreuses fonctions favorables à la santé humaine. Le principal caroténoïde du jus fabriqué était le β-carotène (Koley et *al*., 2020).

La figure 21 suivante résume les teneurs en caroténoïdes du jus de mélange carotte-betterave fabriqué dans le cas frais et fermenté.

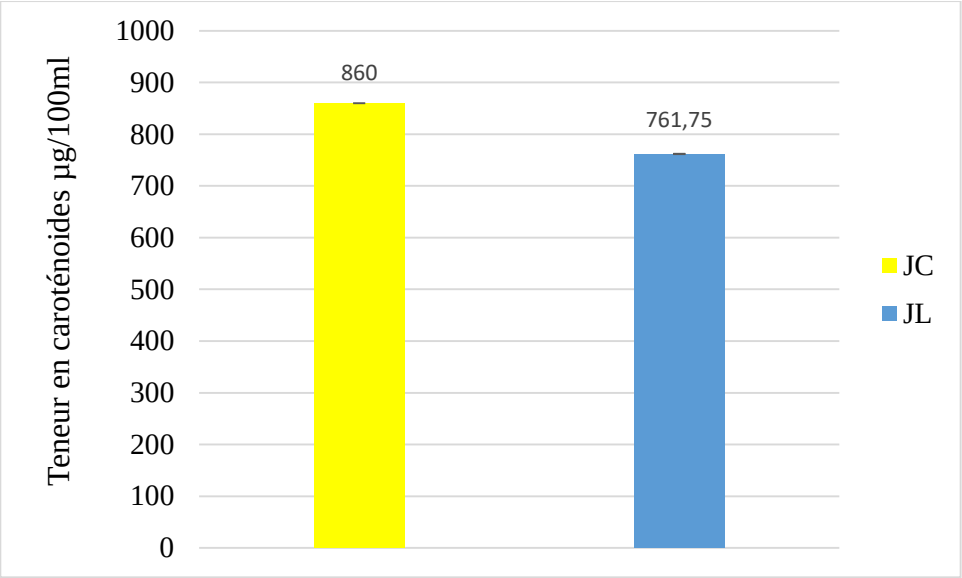


Figure 21 : Teneurs en caroténoïdes des jus de légumes préparés

Dans la présente l'étude, les valeurs des caroténoïdes de tous les échantillons de jus de carotte-betterave se situaient dans la fourchette de 860±0,04µg/100ml jusqu'à 761,75±0,1µg/100ml, la différence entre les deux types de jus est non significative (P<0,05).

Nos résultats sont supérieurs à d'autre similaire études faite par Zou et Jiang (2016) et Rebecca et *al*. (2014) qui ont trouvés des valeurs de 347µg/100ml et 183µg/100ml ; 190µg/100ml respectivement.

L'analyse de la teneur en caroténoïdes du jus fermenté a montré l'influence de ce procédé sur la teneur en pigments. Dans le jus fermenté, une diminution de la teneur en caroténoïdes a été observée, quel que soit le type de bactéries lactiques utilisées. La fermentation de la matière première n'a entraîné qu'une légère diminution de la teneur en caroténoïdes par rapport au jus sans fermentation. (Janiszewska-Turak et *al*., 2022).

La concentration des caroténoïdes dans les racines de carottes et betterave dépend fortement de la variété, du sol, de la culture et même de l'environnement. Aussi des procédés technologiques appliqués à la production de jus (Szczepańska et *al*., 2020)

IV.3.4 Vitamine C

La vitamine C possède d'importantes propriétés antioxydants qui jouent un rôle important dans la prévention des maladies. De nombreuses recherches, et il est bien connu que la vitamine C, ainsi que d'autres acides organiques, améliore l'absorption du Fe(II) et du Fe(III) dans l'organisme humain (Grubišić et *al*., 2022). La figure 22 montre les résultats obtenus.

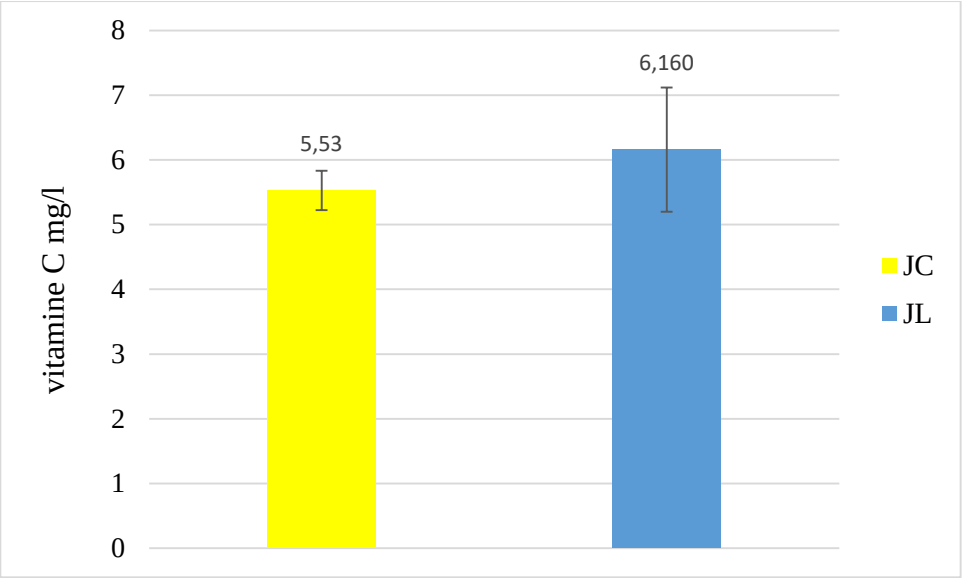


Figure 22 : Teneurs en vitamine C des jus de légumes préparés

La teneur en vitamine C de jus de carotte –betterave a été testée et évaluée. Nos résultats en mg/l sont 6,1±0,9 pour JC et 5,5±0,3 pour JL, mais cette différence est non significative (P>0,05). Selon Simran et *a*l. (2019) la teneur en vitamine C est 3mg/100ml dans le jus de carotte et 6,5mg/100ml dans le jus de betterave.

Les études rapportent que la plus forte teneur en acide ascorbique dans les jus cocktails après 10 jours de stockage était dans le jus de cocktail du citron, orange et pomme avec 142 mg/100g et dans la même étude ont rapporté que la plus forte teneur en acide ascorbique entre les fruits et légumes fraiches était dans le citron de 46mg/100g, **(**Chaitanyakumari et Padma. 2016).

En conclu que dans notre échantillon JC, JL la quantité d'acide ascorbique est influencé par plusieurs facteurs. D'après El-Dakak et *al*. (2017) la vitamine C est sensible à l'oxygène, à la lumière et à la chaleur, elle est facilement oxydée en présence d'oxygène par des catalyseurs enzymatiques et non enzymatiques.

IV.3.5 Bétalaines

Les bétalaïnes sont une autre classe de composés bioactifs majeurs qui sont naturellement présents dans la betterave. Les bétalaïnes sont des pigments azotés hydrophiles largement utilisés dans l'industrie alimentaire comme colorants naturels pour des produits tels que la viande transformée, les crèmes glacées ou les produits de boulangerie. Les bétalaïnes sont classées en deux groupes principaux : les bétacyanines et les bétaxanthines (Milton-Laskibar et *al*. 2021). Les résultats sont illustrés dans les deux figures suivantes.

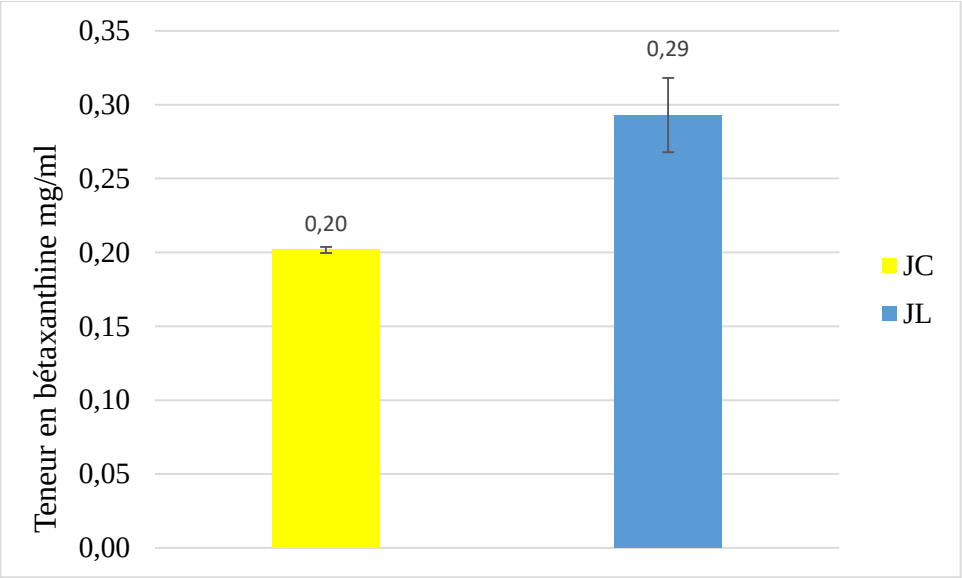


Figure 23 : Teneur en bétaxanthines des jus de légumes préparés

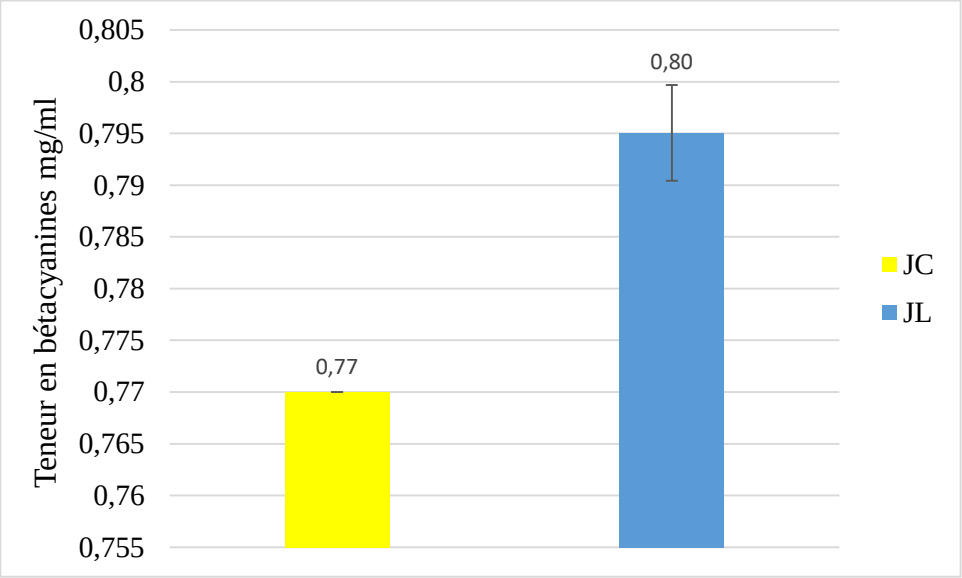


Figure 24 : Teneur en bétacyanines des jus de légumes préparés

Les résultats obtenus montrent les différentes quantités de bétaxanthines et de bétacyanines, dont les bétaxanthines sont moins disponible que les bétacyanines dans le JC et c'est le même cas pour le JL, les différences sont non significative (P>0,05) selon analyse statistique. Les valeurs varient entre 0,20-0,29mg/ml et 0,77-0,80mg/ml respectivement. Ceux –ci sont dans la fourchette des résultats trouvés par Czapski et *al*. (2009) qui ont étudié la relation entre la capacité antioxydante du jus de betterave et le contenu en bétalaïnes, ils ont rapportés que le contenu des bétaxanthines varie également considérablement et s'étend de 0,2 à 1,4 mg/g, ainsi que les teneurs en bétacyanines dans les racines de betterave se situent dans une très large gamme qui varie de 0,30 à 2,2 mg/g.

La teneur en bétalaïnes totale égale la somme des teneurs en bétaxanthines et en bétacyanine, dans cette les bétalaines totale était de 0,97mg/ml pour JC et 1,09mg/ml pour JL. Dans le même champ Abdo et *al*. (2020) ont trouvé 0,79mg/g dans le jus de betterave.

La répartition du pigment bétalaïnes diffère non seulement selon les parties de la betterave, mais aussi selon la méthode d'extraction.

IV.4 Activité antioxydante

IV.4.1 Test du radical libre (DPPH)

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont produites physiologiquement et jouent un rôle important dans le système immunitaire. La signalisation cellulaire et de nombreuses autres fonctions de l'organisme, cependant, si les ROS sont produites en excès, l'équilibre oxydatif du corps est altéré, ce qui favorise les dommages cellulaires, conduisant à des maladies dégénératives telles que l'inflammation, le vieillissement, les maladies cardiovasculaires, les cancers et les troubles métaboliques **(**Smeriglio et *al*., 2016). La figure 25 montre les résultats trouvés.

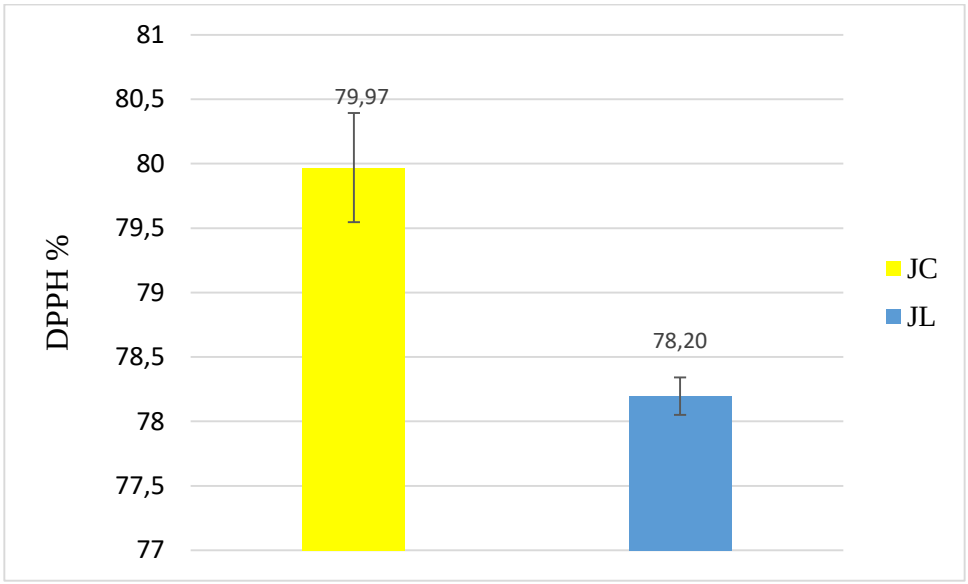


Figure 25 : Pouvoir du piégeage du radical libre DPPH° des jus de légumes préparés

L'activité antioxydante de notre échantillon exprimé en % d'inhibition de DPPH° qui est de 79,97± 0,42 pour JC et 78,19 ±0,14 pour JL avec une différence non significative (P>0,05). Notre résultat est supérieur à celui de Simran et *al*. (2019) qui a travaillé sur le jus de carotte et le jus de betterave. Les pourcentages d'inhibitions sont 33% et 65% respectivement. D'après ces résultats on constate que dans notre jus de mélange l'activité antioxydante est importante à cause du jus de betterave. Clifford et *al*. (2015) ont trouvé que l'activité antioxydante du jus de

carottes est de 80%, alors que celle du jus de betteraves est de 100%, ce qui confirme notre hypothèse.

Dans une étude sur les propriétés physico-chimiques, de l'activité antioxydante et de la stabilité à la conservation d'un mélange de jus de carotte (*Daucus carota*) et d'ananas (*Ananas comosus*) était de 81,007 %±0,01 au premier jour, cette valeur a diminué avec le temps **(**Owolade et *al*., 2017).

Des études réalisées par Adiamo et *al*. (2018) sur le jus de carotte et la pulpe d'orange montrent que plus la teneur en composés phénoliques est élevée, plus l'activité antiradicalaire augmente. La diminution de l'activité antioxydante est en relation avec l'augmentation des températures de traitement du jus préparés.

IV.4.2 Pouvoir réducteur ferrique (PRF)

L'activité antioxydante des jus de carotte -betterave testés a été également déterminée à l'aide du test PRF. C'est une méthode simple et rapide basé sur la capacité des polyphénols à réduire le complexe fer ferrique Fe3+/ ferricyanide de couleur jaune à la forme fer ferreux Fe2+/ferricyanide de couleur bleu-vert, qui pourrait être surveillé à 700 nm (HowYee Lai et YauYan Lim. (2011).

La figure 26 représente les valeurs de pouvoir réducteur ferrique de jus de carotte- betterave préparé.

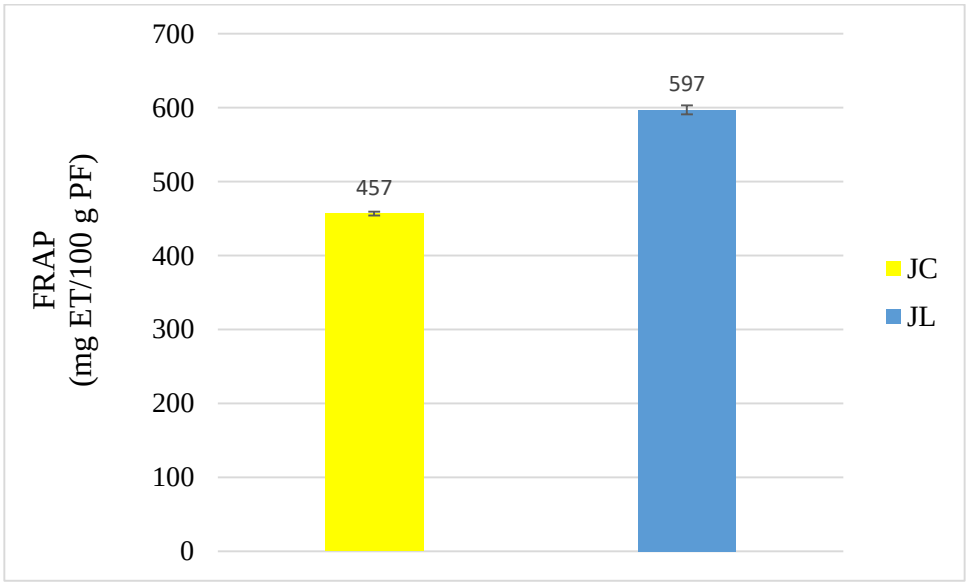


Figure 26 : Pouvoir réducteur ferrique des jus de légumes préparés

L'analyse statistique révèle une différence significative de l'activité des jus (P<0,05). On observe que les valeurs de JL supérieure à JC avec des valeurs de 457 mg ET/100g et 597mg

ET/100g respectivement. D'après Wern et *al.* (2016) Le pouvoir réducteur ferrique entre les jus frais se situait entre 288,47 et 843,13 mg ET/100 ml, les jus commerciaux 100 % fruits se situent entre 95,50 ; 2953,85 mg ET/100 ml.

Selon Clifford et *al*. (2015), il est intéressant de noter que la capacité antioxydante du jus de betterave dans les tests PRF était supérieure à celle des autres jus de légumes, tels que la tomate et la carotte, et des jus de fruits, tels que l'orange et l'ananas seul le jus de grenade présentant une capacité antioxydante supérieure dans le test PRF.

L'activité antioxydante est influencée par la teneur en polyphénols et la vitamine C, plus que l'activité antioxydante est élevée plus qu'il y a une teneur élevée en polyphénols et en vitamine C (Klimczak et *al*., 2007).

De plus, l'exposition à l'oxygène ou à la lumière pendant la manipulation et l'analyse des échantillons peut également influencer les résultats **(**Wern et *al*., 2016).

IV.5 Evolution des caractéristiques microbiologiques

Les normes internationales déclarent que les produits probiotiques doivent contenir un minimum de 10^8 bactéries probiotiques viables par mL du produit au moment de la consommation pour les allégations de santé et de fonctionnalité **(**Gamage et *al*., 2016).

La fermentation lactique du mélange de jus légumes est assuré par *L. plantarum*, *L. casei* et *L. acidophilus*. Les trois souches se sont révélées capables d'une croissance rapide dans le milieu du jus de légumes (Do et Fan. 2019). La figure 27 montre l'évolution du nombre des colonies.

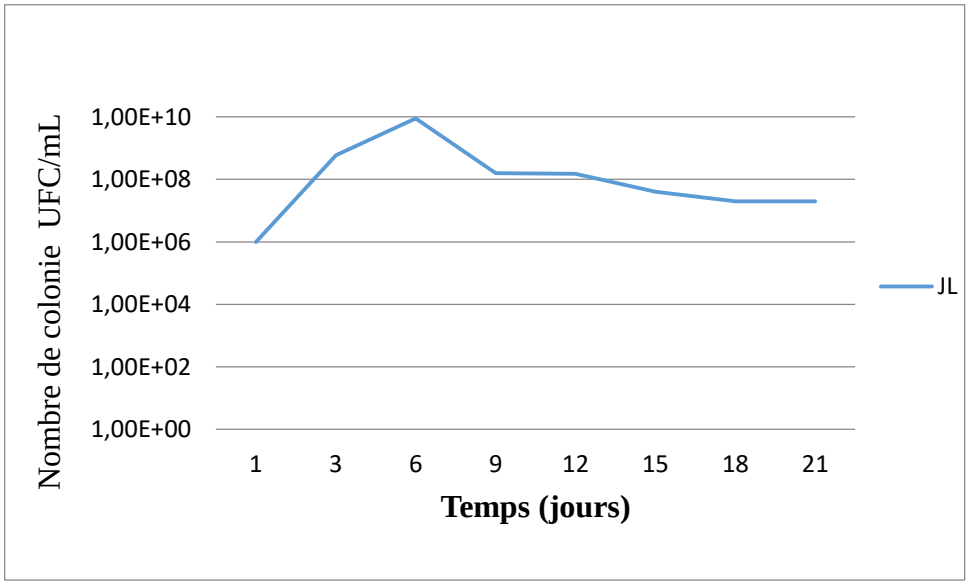


Figure 27 : Evolution du nombre des colonies (UFC/mL)

Depuis l'entreposage de notre jus fermenté pendant 21 jours à 4°C on observe une évolution dans le nombre des colonies.

Nos résultats sont 10^6 UFC/mL dans le premier jour. Après 6 jours de conservation il y a une augmentation jusqu'à 10^9 UFC/mL. Les deniers jours on observe une diminution non significative 9,90 10^7 UFC/mL après le nombre est stabilisé dans cette fourchette.

Nos résultats sont similaires à celui de Yoon et *al*. (2004) qui ont fait une étude sur l'effet du stockage au froid sur la viabilité cellulaire de quatre cultures lactiques dans le jus de tomate fermenté. Le nombre de cellules viables de *L. acidophilus*, *L. plantarum*, et *L. casei* était supérieur à 10^6 UFC/ mL même après 4 semaines de stockage au froid à 4°C.

Nos résultats sont supérieurs à ceux trouvé par Idoui. (2013) qui sont de 3 à 6×10^4 UFC/mL après 3jours de fermentation.

Une étude réalisée par Reddy et *al*. (2015) montre que les bactéries lactiques telles que *L. casei, L. delbrueckii, L. plantarum et L. acidophilus* ont été capables d'utiliser rapidement le jus pour la synthèse cellulaire et la production d'acide lactique sans ajustement du pH. Le nombre de cellules viables s'est élevé à $1,0 \times 10^9$ CFU/mL après une fermentation de 72 h à 30ºC.

Gamage et *al*. (2016) et Yoon et *al*. (2004) ont rapportés qu'il y a plusieurs facteurs tels que le niveau d'inoculum, la température d'incubation, les inhibiteurs, la présence de peroxyde d'hydrogène et la concentration en oxygène des métabolites, le pouvoir tampon du milieu, la température de stockage et la disponibilité des nutriments peuvent affecter la survie de la souche bactérienne lactique**.** On conclut que notre jus de carotte- betterav**e** est un bon milieu qui permet l'évolution des bactéries lactique pendent 21 jours de stockage à4°C.

IV.6 Analyse sensorielle

Le mélange de jus est l'une des meilleures méthodes pour améliorer l'arôme, le goût et la qualité nutritionnelle du jus. Il peut améliorer la teneur en vitamines et minéraux en fonction du type et de la qualité des fruits et légumes utilisés. En dehors de l'amélioration de la qualité nutritionnelle (El-Dakak et *al*., 2017).

D'autre coté les bactéries lactiques sont très répandues dans les habitats présentant un apport nutritionnel complexe, comme les matières végétales ou les jus de fruits. Elles influencent l'arôme, la qualité, la consistance et la sécurité des aliments. Ces bactéries jouent un rôle important dans la fermentation des aliments contenant du sucre. En raison de la formation d'acide lactique et de la production de composants inhibiteurs, elles contribuent à la conservation des aliments (König et Fröhlich. 2017).

L'évaluation sensorielle d'un jus a un impact significatif sur l'acceptabilité et la préférence des consommateurs. La figure 28 montre l'effet des probiotiques *L.plantarum, L.casei* et *L.acidophilus* sur l'évolution des caractéristiques sensorielles du jus de carotte-betterave fermenté.

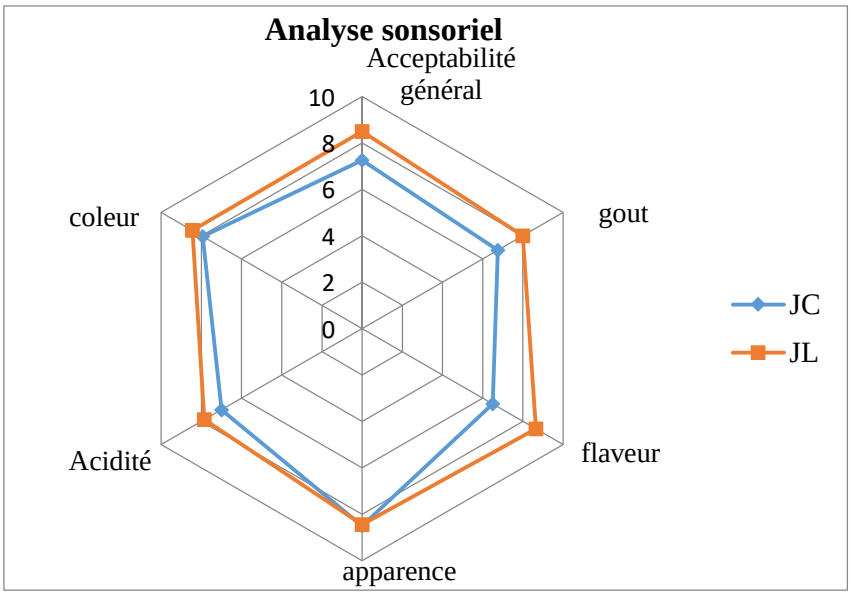


Figure 28 : Effet de *L plantarum, L casei* sur les critères sensoriels des jus de légumes fabriqués

On remarque que les notes les plus élevées entre les deux échantillons de jus (JC et JL) en particulier le gout, la flaveur, l'acidité, l'acceptabilité générale sont supérieures dans le JL par rapport ou JC. Cependant Il n'y avait pas de variations visibles de couleur ou d'apparence parmi les deux échantillons. Ont montré que la fermentation du jus de carotte -betterave par des bactéries lactiques améliore ses qualités sensorielles. En outre, la fermentation réduit la teneur en sucre et les acides produits donnent un goût rafraîchissant.

L'évaluation sensorielle du JC et du JL a été réalisée 24h après la fin du processus de fermentation. Le score sensoriel a augmenté pendant la fermentation, ce qui indique que L. plantarum J12 peut améliorer les attributs sensoriels du jus de carotte. Les scores d'acceptabilité globale, de saveur et d'acidité sont passés de 6,42, 3,78 et 5,14 à 7,14, 4,92 et 6,35, respectivement.

Conclusion

Conclusion

La probiotisation des boissons est l'une des tendances croissantes de la recherche et dans l'industrie agroalimentaire. Cependant, l'inoculation des probiotiques dans certains jus est un défi, car certains problèmes doivent être résolus.

Dans cette étude nous avons tenté d'évaluer la qualité d'un jus fermenté par les souches suivantes : *L plantarum, L casei* et *L acidophilus*, donc savoir l'effet de ces dernières sur les qualités nutritionnelles et organoleptiques et leur évolution elles- même dans la matrice végétale (jus carotte-betterave).

Le rendement d'extraction de notre jus est de 54,78%. Les résultats obtenus concernant les paramètres physico-chimiques, microbiologiques et sensoriels réalisés montrent que les deux jus possèdent une qualité acceptable. En effet le pH du JL a chuté brusquement au deuxième jour, il est passé de presque 6.3 et arrivé autour de 3.9 puis il est resté à cette valeur durant la conservation. D'autre côté, l'acidité a continué d'augmenter aux files du temps. D'autres paramètres physiques comme la turbidité, la viscosité, la densité et la conductivité électrique sont restés inchangés, alors que le JL était plus turbide que le JC. La détermination des sucres par un dosage a permis de démontrer que le JL avait une teneur en glucose moins que celle du JC.

L'évaluation de l'activité antioxydante a montré que les deux jus ont un certain pouvoir antioxydant, qui est plus élevé dans le jus supplémenté par rapport au jus contrôle. Ce travail est complété par une analyse sensorielle qui a montré que les deux jus sont acceptés par le panel de dégustation. L'utilisation des bactéries probiotiques a permis d'améliorer certains descripteurs comme le goût la flaveur et l'acceptabilité générale.

Concernant l'évolution des souches probiotiques *L plantarum L casei L acidophilus, n*ous avons observé qu'il y a une augmentation de nombre des cellules dans le jus fabriqué de 10^5 UFC /ml aux premiers jours et supérieure à 10^7 UFC /ml après 21 jours à 4°C, le nombre des cellules est au maximum au 6J avec 10^9UFC /ML. Donc on conclut que nos souches utilisé peuvent s'adapter et survivre dans cette matrice végétale.

Les deux jus ont une très bonne qualité nutritionnelle et sensorielle mais le jus fermenté présente des bienfaits plus que le jus contrôle. D'autres études et principalement *in vivo* sont nécessaires pour confirmer l'effet des souches et permettent de bien comprendre le mécanisme d'action.

Références bibliographiques

$\mathcal{A}$

Abdo, E., El-Sohaimy, S., Shaltout, O., Abdalla, A., &Zeitoun, A. (2020). Nutritional evaluation of beetroots (*Beta vulgaris L.*) and its potential application in a functional beverage. *Plants*, *9*(12), 1752.

Aderinola, T. A., &Abaire, K. E. (2019). Quality acceptability, nutritional composition and antioxidant properties of carrot-cucumber juice. *Beverages*, 5(1), 15.

Adiamo, O. Q., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F., Babiker, E. E., & Ahmed, I. A. M. (2018). Thermosonication process for optimal functional properties in carrot juice containing orange peel and pulp extracts. *Food Chemistry*, *245*, 79-88.

Adiamo, O. Q., Ghafoor, K., AlJuhaimi, F., Mohamed Ahmed, I. A., &Babiker, E. E. (2017). Effects of thermosonication and orange byproducts extracts on quality attributes of carrot (*Daucus carota*) juice during storage. *International Journal of Food Science &Technology*, *52*(9), 2115-2125.

Adjou, E. S., Amamion, H., Tchobo, F. P., Aissi, V. M., &Soumanou, M. M. (2013). Extraction assistée par enzyme du jus de la pulpe fraîche du rônier (Borassus aethiopumMart.) acclimaté au Benin: caractérisation physico-chimique et microbiologique. *Journal international des sciences biologiques et chimiques*, *7*(3), 1135-1146.

Adubofuor, J., Amankwah, E. A., Arthur, B. S., &Appiah, F. (2010). Comparative study related to physico-chemical properties and sensory qualities of tomato juice and cocktail juice produced from oranges, tomatoes and carrots. *African Journal of Food Science*, *4*(7), 427-433.

Adubofuor, J., Amoah, I., &Ayivi, R. D. (2016). Effects of blanching on physicochemical properties of chantenay carrots juice and assessing the qualities of formulated carrot-MD2 pineapple juice blends. *American Journal of Food Science and Technology*, *4*(3), 81-88.

Afif, A., Faid, M., &Najimi, M. (2008). Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology*, *7*(1), 2-7.

Ağçam, E., Akyıldız, A., &Dündar, B. (2018).Thermal pasteurization and microbial inactivation of fruit juices. *In Fruit juices*. 309-339.

Ahmad, T., Cawood, M., Iqbal, Q., Ariño, A., Batool, A., Tariq, R. M. S., & Akhtar, S. (2019). Phytochemicals in *Daucus carota* and their health benefits. *Foods, 8*(9), 424.

Ahmed, M., &Eun, J. B. (2018). Flavonoids in fruits and vegetables after thermal and non-thermal processing: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, *58*(18), 3159-3188.

Akan, S., Tuna Gunes, N., &Erkan, M. (2021). Red beetroot: Health benefits, production techniques, and quality maintaining for food industry. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(10), e15781.

Akbar, A., Ali, I., & Anal, A. K. (2016). Industrial perspectives of lactic acid bacteria for biopreservation and food safety. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, *26*(4).

Alimentarius, C. (2005). Norme générale codex pour les jus et les nectars de fruits. *Codex. STAN*, 247-2005. *World Health Organization-Food and Agriculture Organization of The United Nations*.

Alwis, A. D. P., Perera, O. D. A., &Weerahewa, H. D. (2016). Development of a Novel Carrot-based Synbiotic Beverage using *Lactobacillus casei* 431.*The Journal of Agricultural Sciences*, 178-185.

Amin R., Rahman, S. S., Hossain, M., & Choudhury, N. (2018). Physicochemical and microbiological qualities' assessment of popular Bangladeshi mango fruit juice. *The open microbiology journal*, *12*, 135

Amiot-Carlin, M. J., &Georgé, S. (2017). Qualités nutritionnelles des produits végétaux: le cas des fruits et légumes. *Agronomie, Environnement & Sociétés*, *7*(1), p-43.

Anese, M., Bot, F., Panozzo, A., Mirolo, G., &Lippe, G. (2015). Effect of ultrasound treatment, oil addition and storage time on lycopene stability and *in vitro* bioaccessibility of tomato pulp. *Food Chemistry*, *172*, 685-691.

Angelin, J., &Kavitha, M. (2020). Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, *162*, 853-865.

Arkoub-Djermoune, L., Louaileche, H., Benmeziane, F., Madani, K., &Boulekbache-Makhlouf, L. (2020). Impact of refrigerated storage on the bioactive compounds and

antioxidant capacity of two Algerian carrot varieties (L.). *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria, 13(1),* 5-31.

Ashaolu, T. J. (2020). Immune boosting functional foods and their mechanisms: A critical evaluation of probiotics and prebiotics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *130*, 110625.

B

Babarykin, D., Smirnova, G., Pundinsh, I., Vasiljeva, S., Krumina, G. and Agejchenko, V. 2019. Red Beet (*Beta vulgaris*) Impact on Human Health. *Journal of Biosciences and Medicines*. 7, 61-79.

Bazaria, B., &Kumar, P. (2018). Optimization of spray drying parameters for beetroot juice powder using response surface methodology (RSM). *Journal of the Saudi society of agricultural sciences*, *17*(4), 408-415.

Bey, M. B., &Louaileche, H. (2015). A comparative study of phytochemical profile and *in vitro* antioxidant activities of dark and light dried fig (*Ficuscarica L*) varieties. *The Journel of Phytopharmacology*, *4*(1), 41-48.

Boisset, M. (2017). Les «Métaux Lourds» dans l'alimentation: quels risques pour les consommateurs? *Médecine des Maladies Métaboliques*, *11*(4), 337-340.

Bouacha, C., Alouache, S., Benkhaled, A., &Zaidat, L. M. (2021). Étude du potentiel probiotique des bactéries lactiques isolées à partir *d'Artemia sp*. *Algerian Journal of Arid Environnement "AJAE"*, *11*(1), 9-9.

Buitron, D. I., Sepulveda, L., Martinez, T. K. M., Aguilar, C. N., Medina, D. D., Rodriguez-Herrera, R., & Flores-Gallegos, A. C. (2018). Biotechnological approach for the production of prebiotics and search for new probiotics and their application in the food industry.*Applied Food Biotechnology*, *5*(4), 185-192.

C

Ceclu, L., &Nistor, O. (2020). Red Beetroot: Composition and Health Effects—A Review. *Journal of Nutritional Medicine and Diet Care*, *6*, 043.

Chaitanyakumari, S., & Padma, P. N. (2016). Stability Studies on Ascorbic Acid content in various fruits, Vegetables and their Cocktail Juices. *International journal for research in emerging science and technology*, *3*, 2349-7610

Chen, C., Lu, Y., Yu, H., Chen, Z., &Tian, H. (2019). Influence of four lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice. *Food Bioscience*, *27*, 30-36.

Chen, C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., & Zhao, G. (2017). Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. *International Journal of Food Properties*, *20*(sup1), S316-S330.

Chhikara, N., Kushwaha, K., Sharma, P., Gat, Y., Panghal, A. 2018. Bioactive compound of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review, *Food Chemistry*. 08.022

Chung, H. J., Lee, H., Na, G., Jung, H., Kim, D. G., Shin, S. I., ... & Choi, H. K. (2020). Metabolic and lipidomic profiling of vegetable juices fermented with various probiotics. *Biomolecules*, *10*(5), 725.

Clifford, T., Howatson, G., West, D. J., & Stevenson, E. J. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, *7*(4), 2801-2822.

Codex Alimentarius Commission. (2000). Revised codex general standards for vegetable juice (CODEX STAN 179-1991). *Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Vialedelle Terme di Caracalla*, *100*.

Czapski, J., Mikołajczyk, K., &Kaczmarek, M. (2009). Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of its betalain pigments. *Polish journal of food and nutrition sciences*, *59*(2).

𝒟

D'Oliveira, P. M.,LeiteJúnior, B. R. D. C., Martins, E. M. F., Martins, M. L., Vieira, É. N. R., de Barros, F. A. R., & Ramos, A. M. (2021). Mango and carrot mixed juice: a new matrix for the vehicle of probiotic *lactobacillus*. *Journal of Food Science and Technology*, *58*(1), 98-109.

De Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Júnior, A. I. M., Thomaz-Soccol, V., &Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology advances*, *36*(8), 2060-2076

Deding, U., Baatrup, G., Christensen, L. P., &Kobaek-Larsen, M. (2020). Carrot intake and risk of colorectal cancer: A prospective cohort study of 57,053 Danes. *Nutrients*, *12*(2), 332.

Demarest, S. T., Drieskens, S., Gisle, L., Van Der Heyden, J. O. H. A. N., & Tafforeau, J. (2010). Enquête de santé, 2008. *Rapport V-Les Inégalités Socio-Economiques En Matière De Santé*, 1-367.

Desseva, I., Stoyanova, M., Petkova, N., &Mihaylova, D. (2020). Red beetroot juice phytochemicals bioaccessibility: An *in vitro* approach. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *70*(1)

Dhiman, A., Suhag, R., Chauhan, D. S., Thakur, D., Chhikara, S., &Prabhakar, P. K. 2021. Status of beetroot processing and processed products: Thermal and emerging technologies intervention. *Trends in Food Science &Technology*, *114*, 443-458.

Djilali, B., Zouaoui, B., Ahmed, H., Ahmed, B. S., & Hamza, B. (2020) Etude de comportement de Lactobacillus acidophilus dans un milieu à base de jus de betterave (Beta vulgaris). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 7(1), 42-53.

Do, T. V. T., & Fan, L. (2019). Probiotic viability, qualitative characteristics, and sensory acceptability of vegetable juice mixture fermented with lactobacillus strains. *Food and Nutrition Sciences*, *10*(04), 412.

Domagała-Świątkiewicz, I., &Gąstoł, M. (2012). Comparative study on mineral content of organic and conventional carrot, celery and red beet juices. *Acta Sci. Pol. HortorumCultus*, *11*(2), 173-183

E

El-Dakak, A., Youssef, M., & El-Rahman, A. (2017). Evaluation of beetroot juice blends with carrot and apple juice as healthy beverage. *Bulletin of the National Nutrition Institute of the Arab Republic of Egypt*, *48*(1), 1-29.

Elleuch, M., Besbes, S., Roiseux, O., Blecker, C., Deroanne, C., Drira, N. E., &Attia, H. (2008). Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre. *Food chemistry*, *111*(3), 676-682.

El-Masry, S., & El-Rhman, A. A. (2017). The protective effect of beetroot and carrot juices on doxorubicin-induced cardiac injury and associated inflammatory response. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, *6*(12), 109-126.

Emelike, N. J. T.,Hart, A. D., &Ebere, C. O. (2015). Influence of drying techniques on the sensory properties, physicochemical and mineral composition of beetroot juice. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, *9*(12-2), 20-26.

Eric, K. (2011). Stable clear blended carrot-orange juice beverage production using enzyme and cyclodextrin. *Kigali Institute of Science and Technology, Jiangnan University*, 1-114.

Eshrati, M., Amadei, F., Staffer, S., Stremmel, W., & Tanaka, M. (2018). Shear-enhanced dynamic adhesion of Lactobacillus rhamnosus GG on intestinal epithelia: correlative effect of protein expression and interface mechanics. *Langmuir*, *35*(2), 529-537.

$\mathcal{F}$

Fernández, L., Escobedo, S., Gutiérrez, D., Portilla, S., Martínez, B., García, P., & Rodríguez, A. (2017). Bacteriophages in the dairy environment: From enemies to allies. *Antibiotics*, *6*(4), 27.

Foughalia, A., Aliliche, M., Boulabtina, A., & Akkouche, Z. (2020). Journal Algérien des Régions Arides (JARA). *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*, *14*(1), 26-36.

Francou, C. (2003). Stabilisation de la matière organique au cours du compostage de déchets urbains: Influence de la nature des déchets et du procédé de compostage-Recherche d'indicateurs pertinents (Doctoral dissertation, INAPG (Agro Paris Tech)).

$\mathcal{G}$

Gamage, S. M., Mihirani, M. K. S., Perera, O. D. A. N., &Weerahewa, H. D. (2016). Development of synbiotic beverage from beetroot juice using beneficial probiotic *Lactobacillus Casei* 431. *Ruhuna Journal of Science*, *7*, 64-69.

Garcia, C., Guerin, M., Souidi, K., &Remize, F. (2020).Lactic fermented fruit or vegetable juices: Past, present and future. *Beverages*, *6*(1), 8.

George, M. J., &Moiloa, L. V. (2015). Determination and comparison of physico-chemical properties of home-made juices in Lesotho and commercial juice available in the local markets. *American Chemical Science Journal*, *5*(3), 247-252

Giddey C. (1982). Les produits à humidité intermédiaire : Cas particulier du problème de la conservation des produits à humidité intermédiaire .*APRIA*.: 21-28

Goderska, K., Dombhare, K., &Radziejewska-Kubzdela, E. (2021). Probiotics in Vegetable Juices: Tomato (*SolanumL ycopersicum*), Carrot (*Daucus Carota, Subsp. Sativus*) and Beetroot Juice (*Beta Vulgaris*). *Institute of Food Technology of Plant Origin,* p. 11-20.

Golubi, R., Iorga, E., Linda, L., Achimova, T., Arnaut, S., & Fiodorov, S. (2016). Technologie de fabrication et opportunités d'implementation des acidifiants à la production des conserves. In *Modern Technologies in the Food Industry,* p. 412-417.

Grimi, N., Praporscic, I., Lebovka, N., &Vorobiev, E. (2007). Selective extraction from carrot slices by pressing and washing enhanced by pulsed electric fields. *Separation and Purification Technology*, *58*(2), 267-273.

Grubišić, S., Kristić, M., Lisjak, M., MiškovićŠpoljarić, K., Petrović, S., Vila, S., &Rebekić, A. (2022). Effect of Wheatgrass Juice on Nutritional Quality of Apple, Carrot, Beet, Orange and Lemon Juice. *Foods*, *11*(3), 445.

Gupta, R., Jeevaratnam, K., & Fatima, A. (2018). 'Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Healt (A Review), *International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research, 5*(10), 411-424.

H

Harle, O. (2020). Identification des interactions positives entre bactéries lactiques en fermentation de jus de soja (Doctoral dissertation, Rennes, Agro campus Ouest).

Henning, S. M., Yang, J., Shao, P., Lee, R. P., Huang, J., Ly, A., & Li, Z. (2017). Health benefit of vegetable/fruit juice-based diet: Role of microbiome. *Scientific reports*, *7*(1), 1-9.

HowYee Lai and YauYan Lim. (2011). Evaluation of Antioxidant Activities of the Methanolic Extracts of Selected Ferns in Malaysia. *International Journal of Environmental Science and Development*, *2*(6), 442.

I

Icier, F., Yildiz, H., Sabanci, S., Cevik, M., &Cokgezme, O. F. (2017). Ohmic heating assisted vacuum evaporation of pomegranate juice: Electrical conductivity changes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *39*, 241-246.

Idoui, T. (2013). Changes of Microbial Population and Some Components in Carrot Juice during Fermentation with Selected Autochthonous *Lactobacillus Plantarum* Strains. *Turkish Online Journal Science and Technolog*, *3*(3), 59-64.

Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E., Karam, N.E. (2009). Lactic acid bacteria from Sheep's Dhan a traditional butter from sheep's milk: Isolation identification and major technological traits. *Grasas Y Aceites*, *60*(2), 177-183.

Indira, M., Venkateswarulu, T. C., Abraham Peele, K., Bobby, N., &Krupanidhi, S. (2019). Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of action: a review. *Biotechnology*, *9*(8), 1-11.

Islam, M. A., Morshed, S., Saha, S., Quader, F. B., &Alam, M. K. (2015). Evaluation of Nutritive Value of Mango Juices Found in Bangladeshi Markets. *Journal of Environmental Science and Natural Resources*, *8*(1), 95-98.

J

Jabbar, S., Abid, M., Hu, B., Muhammad Hashim, M., Ali, S., Wu, T., & Zeng, X. (2014). Study on Combined Effects of Acidification and Sonication on Selected Quality Attributes of Carrot Juice during Storage. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, *36*(4), 1-8.

Jahan, R., POLASH, S., ARIF, M., KARIM, M., JUTHEE, S. A., FAKIR, S. A., & HOSSAIN, A. (2021). Extraction, characterization and biochemical analysis of betacyanins derived from beetroot (*Beta vulgaris*). *Research on Crops*, *22*(1), 216-223.

Janiszewska-Turak, E., Tracz,K., Bielińska, P., Rybak, K., Pobiega, K., Gniewosz, M.&Gramza-Michałowska, A. (2022). The Impact of the Fermentation Method on the pigment Content in Pickled Beetroot and Red Bell Pepper Juices and Freeze-Dried Powders. *Applied Sciences*, *12*(12), 5766.

Jarcău, M., &Poroch-seriţan, M. (2017). Analysis of physical parameters of natural juices. *Food and Environment Safety Journal*, *15*(3).

K

Kale, R., Sawate, A., Kshirsagar, R., Patil, B., & Mane, R. (2018). Studies on evaluation of physical and chemical composition of beetroot (Beta vulgaris L.). *International journal of chemical studies*, *6*(2), 2977-2979.

Khalighi, A., Behdani, R., &Kouhestani, S. (2016). Probiotics: A comprehensive review of their classification, mode of action and role in human nutrition. *Probiotics and prebiotics in human nutrition and health*, *10*, 63646.

Khandare, V., Walia, S., Singh, M., & Kaur, C. (2011). Black carrot (*Daucus carota ssp. sativus*) juice: processing effects on antioxidant composition and colour. *Food and Bioproducts Processing*, *89*(4), 482-486

Khandpur, P., &Gogate, P. R. (2015). Effect of novel ultrasound based processing on the nutrition quality of different fruit and vegetable juices. *Ultrasonics Sonochemistry*, *27*, 125-136.

Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., &Kot, A. M. (2021). Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria. *Molecules*, *26*(7), 1858.

Kiros, E., Seifu, E., Bultosa, G., &Solomon, W. K. (2016). Effect of carrot juice and stabilizer on the physicochemical and microbiological properties of yoghurt. *Food Science and Technology*, *69*, 191-196.

Klimczak, I., Małecka, M., Szlachta, M., &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*(3-4), 313-322

Koley, T. K., Nishad, J., Kaur, C., Su, Y., Sethi, S., Saha, S., & Bhatt, B. P. (2020). Effect of high-pressure micro fluidization on nutritional quality of carrot (*Daucus carota L.*) juice. *Journal of food science and technology*, *57*(6), 2159-2168.

König, H., &Fröhlich, J. (2017). Lactic acid bacteria. In *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, 3-41.

Kothari, D., Patel, S., & Kim, S. K. (2019). Probiotic supplements might not be universally-effective and safe: a review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *111*, 537-547.

Kumar, P. S., Bhaumik, A., Chopra, M., & Devi, K. N. (2016). Evaluation of anti-diabetic activity of ethanolic extract of beet root (EEBT-*Beta vulgaris*) against streptozocin induced diabetic rats. *Journal of Drugs Discovery and Therapeutics*, *4*(37), 1-6.

Kusharyati, D. F., Pramono, H., Ryandini, D., Manshur, T. A., Dewi, M. A., Khatimah, K., &Rovik, A. (2020). *Bifidobacterium* from infant stool: the diversity and potential screening. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *21*(6), 2506-2513.

$\mathcal{L}$

Leahu, A., Damian, C., Carpiuc, N., Oroian, M., &Avramiuc, M. (2013). Change in colour and physicochemical quality of carrot juice mixed with other fruits. *Journal of Agro alimentary processes and technologies*, *19*(2), 241-246.

Leonard, L., Langella, P., Husson, F., Chatel, J. M., &Saurel, R. (**2016).** Protection de bactéries lactiques probiotiques naturelles et recombinantes dans un système biphasique biopolymérique autogélifié. *Pharma pratique*, *26*(2), 1-2.

Lillo-Pérez, S., Guerra-Valle, M., Orellana-Palma, P., &Petzold, G. (2021). Probiotics in fruit and vegetable matrices: Opportunities for nondairy consumers. *LWT*, *151*, 112106.

Lu, Z., Fleming, H. P., &McFeeters, R. F. (2002). Effects of fruit size on fresh cucumber composition and the chemical and physical consequences of fermentation. *Journal of food science*, *67*(8), 2934-2939.

$\mathcal{M}$

Malik, M., Bora, J., & Sharma, V. (2019). Growth studies of potentially probiotic lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus, and Lactobacillus casei*) in carrot and beetroot juice substrates. *Journal of Food Processing and Preservation*, *43*(11), e14214.

Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., &Hutkins, R. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current opinion in biotechnology*, *44*, 94-102.

Marigheto, N., Wright, K., & Hills, B. P. (2006). NMR protocol for on-line Brix determination. *Applied Magnetic Resonance*, *30*(1), 13-23

Markowiak, P., &Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, *9*(9), 1021

Martínez-Flores, H. E., Garnica-Romo, M. G., Bermúdez-Aguirre, D., Pokhrel, P. R., &Barbosa-Cánovas, G. V. (2015). Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food chemistry*, *172*, 650-656.

Masih, D., Singh, N., & Singh, A. (2019). Red beetroot: A source of natural colourant and antioxidants: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *8*(4), 162-166.

Mercha, I., Lakram, N., Kabbour, M. R., Bouksaim, M., Zkhiri, F., Maadoudi, E., &Haj, E. (2020). Probiotic and technological features of Enterococcus and Weissella isolates from camel milk characterised by an Argane feeding regimen. *Archives of Microbiology*, *202*(8), 2207-2219.

Milton-Laskibar, I., Martínez, J. A., & Portillo, M. P. (2021). Current knowledge on beetroot bioactive compounds: Role of nitrate and betalains in health and disease. *Foods*, *10*(6), 1314.

Mohanty, D., Panda, S., Kumar, S., & Ray, P. (2019). In vitro evaluation of adherence and anti-infective property of probiotic *Lactobacillus plantarum* DM 69 against *Salmonella enterica*. *Microbial pathogenesis*, *126*, 212-217.

N

Nagarajan, V., Peng, M., Tabashsum, Z., Salaheen, S., Padilla, J., & Biswas, D. (2019). Antimicrobial effect and probiotic potential of phage resistant *Lactobacillus plantarum* and its interactions with zoonotic bacterial pathogens. *Foods*, *8*(6), 194.

Nasiłowska, J., Sokołowska, B., &Fonberg-Broczek, M. (2018). Long-term storage of vegetable juices treated by high hydrostatic pressure: assurance of the microbial safety. *BioMedical Research International*, *2018*, p12.

Neckebroeck, B., Verkempinck, S. H. E., Vaes, G., Wouters, K., Magnée, J., Hendrickx, M. E., & Van Loey, A. M. (2020). Advanced insight into the emulsifying and emulsion stabilizing capacity of carrot pectin subdomains. *Food Hydrocolloids*, *102*, 105594.

O

Official Journal of the European Union. Information from European Union institutions, bodies, offices and agencies European commission common catalogue of varieties of vegetable species. 34th complete Edition (2015/C 395/01).

Ogando, F. I. B., de Aguiar, C. L., Viotto, J. V. N., Heredia, F. J., &Hernanz, D. (2019). Removal of phenolic, turbidity and color in sugarcane juice by electrocoagulation as a sulfur-free process. *Food Research International*, *122*, 643-652.

Olalude, C. B., Oyedeji, F. O. &Adegboyega, A. M. (2015). Physico-Chemical Analysis of DaucusCarota (Carrot) Juice for possible industrial applications. *IOSR Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC)*, 8, 110-113.

Ouattara, G. S., Soro, D., Chatigre, K. O., &Koffi, E. K. (2016). Caractérisation physico-chimique et sensorielle de diverses formulations de jus à base de pomme de cajou et d'ananas. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *10*(6), 2447-2460.

P

Patel, A. R. (2017). Probiotic fruit and vegetable juices-recent advances and future perspective. *International Food Research Journal*, *24*(5), 1850-1857.

Peng, J., Tang, J., Barrett, D. M., Sablani, S. S., Anderson, N., & Powers, J. R. (2017). Thermal pasteurization of ready-to-eat foods and vegetables: Critical factors for process design and effects on quality. *Critical reviews in food science and nutrition*, *57*(14), 2970-2995.

Petruzzi, L., Campaniello, D., Speranza, B., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., &Bevilacqua, A. (2017). Thermal treatments for fruit and vegetable juices and beverages: A literature overview. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, *16*(4), 668-691.

Plaza-Diaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Gil-Campos, M., & Gil, A. (2019).Mechanisms of action of probiotics. *Advances in nutrition*, *10*(suppl_1), S49-S66.

Praepanitchai, O. A., Noomhorm, A., & Anal, A. K. (2019). Survival and behavior of encapsulated probiotics *(Lactobacillus plantarum)* in calcium-alginate-soy protein isolate-based hydrogel beads in different processing conditions (pH and temperature) and in pasteurized mango juice. *BioMed research international*, *2019*, p.18.

Prieto-Santiago, V., Cavia, M., Alonso-Torre, S. R., & Carrillo, C. (2020). Relationship between color and betalain content in different thermally treated beetroot products. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(9), 3305-3313.

Purkiewicz, A., Ciborska, J., Tańska, M., Narwojsz, A., Starowicz, M., Przybyłowicz, K. E., &Sawicki, T. (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*(12), 1759.

Q

Que, F., Hou, X. L., Wang, G. L., Xu, Z. S., Tan, G. F., Li, T., ... &Xiong, A. S. (2019). Advances in research on the carrot, an important root vegetable in the *Apiaceae* family. *Horticulture Research*, *6*(9), 10-15.

$\mathcal{R}$

Raees-ul, H., & Prasad, K. (2015). Nutritional and processing aspects of carrot (*Daucus carota*)-A review. *South Asian Journal of Food Technology and Environment*, *1*(1), 1-14.

Rafiq, S., Sharma, V., Nazir, A., Rashid, R., Sofi, S. A., Nazir, F., &Nayik, G. A. (2016). Development of probiotic carrot juice. *Journal of Nutrition & Food Science*, *6*(534), 2.

Raj, T., Chandrasekhar, K., Kumar, A. N., & Kim, S. H. (2021). Recent biotechnological trends in lactic acid bacterial fermentation for food processing industries. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 1-27

Rakin, M., Vukasinovic, M., Siler-Marinkovic, S., &Maksimovic, M. (2007). Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate. *Food chemistry*, *100*(2), 599-602.

Rebecca, L. J., Sharmila, S., Das, M. P., &Seshiah, C. (2014). Extraction and purification of carotenoids from vegetables. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, *6*(4), 594-598.

Reddy, L. V., Min, J. H., & Wee, Y. J. (2015). Production of probiotic mango juice by fermentation of lactic acid bacteria. *Microbiology and Biotechnology Letters*, *43*(2), 120-125.

Reddy, M. S., Chauhan, A. S., &Maloo, S. (2018). Impact of enzymatic treatment on physicochemical properties of various vegetable juices. *The Pharma Innovation Journal*, *7*(11), 318-323.

Reisch, L. A., Sunstein, C.R., and Gwozdz, W. (2017). Beyond carrots and sticks: Europeans support health nudges. *Food Policy*, 69, 1-10.

Rodrigo, D., Arranz, J. I., Koch, S., Frígola, A., Rodrigo, M. C., Esteve, M. J. & Rodrigo, M. (2003). Physicochemical characteristics and quality of refrigerated Spanish orange-carrot juices and influence of storage conditions. *Journal of food science*, *68*(6), 2111-2116.

Rusin, M., Domagalska, J., Rogala, D., Razzaghi, M., &Szymala, I. (2021). Concentration of cadmium and lead in vegetables and fruits. *Scientific Reports, 11*(1), 1-10.

Rydzak, L., Kobus, Z., Nadulski, R., Wilczyński, K., Pecyna, A., Santoro, F., &Krzywicka, M. (2020). Analysis of selected physicochemical properties of commercial apple juices. *Processes*, *8*(11), 14.

S

Salem, Benamara., Ali, Agougou. (2003). Production des jus alimentaires : Technologie des industries agro-alimentaire. Ben aknoun (Alger) : Edition : 2.01.4280. 162 p.

Sawicki, T., Bączek, N., &Wiczkowski, W. (2016). Betalain profile, content and antioxidant capacity of red beetroot dependent on the genotype and root part. *Journal of Functional Foods*, *27*, 249-261.

Sharma, H., &Bajwa, J. (2021). Potential role and mechanism of probiotics. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 3616-3624.

Sharma, K. D., Karki, S., Thakur, N. S., &Attri, S. (2012). Chemical composition, functional properties and processing of carrota review. *Journal of food science and technology*, *49*(1), 22-32.

Shehata, M. G., El Sohaimy, S. A., El-Sahn, M. A., & Youssef, M. M. (2016). Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. *Annals of Agricultural Sciences*, *61*(1), 65-75.

Shori, A. B. (2016). Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*, *13*, 1-8.

Simran, A., Saleem, S., & Rakesh, G. (2019). Physicochemical and bioactive compounds in carrot and beetroot juice. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, *38*(3), 252-256.

Singh, K., & Rao, A. (2021). Probiotics: A potential immunomodulator in COVID-19 infection management. *Nutrition Research*, *87*, 1-12.

Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., &Sameenoi, Y. (2018). Based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical sciences*, *34*(7), 795-800.

Skoczylas, Ł., Tabaszewska, M., Smoleń, S., Słupski, J., Liszka-Skoczylas, M., &Barański, R. (2020). Carrots (*Daucus carota L.*) biofortified with iodine and selenium as a

raw material for the production of juice with additional nutritional functions. *Agronomy*, *10*(9), 1360.

Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocco, E., &Trombetta, D. (2016). Chemistry, pharmacology and health benefits of anthocyanins. *Phytotherapy Research*, *30*(8), 1265-1286.

Speranza, B., Campaniello, D., Petruzzi, L., Altieri, C., Sinigaglia, M., Bevilacqua, A., & Rosaria Corbo, M. (2020). The Inoculation of Probiotics *In Vivo* Is a Challenge: Strategies to Improve Their Survival, to Avoid Unpleasant Changes, or to Enhance Their Performances in Beverages. *Beverages*, *6*(2), 20.

Stanton, J. F. (2001). A Chemist's guide to density functional theory by wolfram Koch *German Chemical Society, Frankfurt am Main*, 3-527-29918-1.

Surbhi, S., Verma, R. C., Deepak, R., Jain, H. K., & Yadav, K. K. (2018). A review: Food, chemical composition and utilization of carrot (*Daucus carota L.*) pomace. *International Journal of Chemical Studies*, *6*(3), 2921-2926.

Szczepańska, J., Barba, F. J., Skąpska, S., &Marszałek, K. (2020). High pressure processing of carrot juice: Effect of static and multi-pulsed pressure on the polyphenolic profile, oxido reductases activity and colour. *Food Chemistry*, *307*, 125549.

$\mathcal{T}$

Tajini, F., Bouali, Y., &Ouerghue, A. (2020). Etude de la qualité nutritionnelle de fruit de Phœnix dactylifera L.: mesure des paramètres biochimiques. *Nature & Technology*, (23), 39-49.

Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Remorini, D., Massai, R., &Guidi, L. (2008). Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food chemistry*, *107*(1), 282-288.

Tewari, S., David, J., &Gautam, A. (2019). A review on probiotic dairy products and digestive health. *J. Pharmacognosy and Phytochemistry*, *8*(3), 368-372.

Thakur, M., Satwadhar, P. N., & Deshpande, H. W. (2015). Exploiting fruits and vegetables for development of probiotic products. *Trends in Biosciences*, *8(22)*, 6039-6046.

Thakur, N., Rokana, N., &Panwar, H. (2016). Probiotics, Selection criteria, safety and role in health and. *Journal of Innovative Biology January*, *3*(1), 259-270.

Thakur, V., & Gupta, D. K. D. (2006). Studies on the clarification and concentration of beetroot juice. *Journal of food processing and preservation*, *30*(2), 194-207.

Tomé, D. (2008). Besoins en protéines et en acides aminés & qualité des protéines alimentaires. *Centre de Recherche et D'inforamtion Nutritionelles*, *48*(177), 1-6.

Turkmen, N., Sari, F., &Velioglu, Y. S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food chemistry*, *93*(4), 713-718.

𝒱

Valero-Cases, E., &Frutos, M. J. (2017). Development of prebiotic nectars and juices as potential substrates for Lactobacillus acidophilus: Special reference to physicochemical characterization and consumer acceptability during storage. *LWT-Food Science and Technology*, *81*, 136-143.

𝒲

Wern, K. H., Haron, H., &Keng, C. B. (2016). Comparison of total phenolic contents (TPC) and antioxidant activities of fresh fruit juices, commercial 100% fruit juices and fruit drinks. *Sains Malaysiana*, *45*(9), 1319-1327.

𝒳

Xu, Z. S., Feng, K., &Xiong, A. S. (2019). Multiply targeted mutagenesis in orange and purple carrot plants. *Molecular biotechnology*, *61*(3), 191-199.

𝒴

Yoon, K. Y., Woodams, E. E., & Hang, Y. D. (2004). Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. *Journal of microbiology*, *42*(4), 315-318.

Yoon, K. Y., Woodams, E. E., & Hang, Y. D. (2005). Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. *LWT-Food Science and Technology*, *38*(1), 73-75.

Yu, L. J., &Rupasinghe, H. V. (2012). Effect of acidification on quality and shelf-life of carrot juice. *Canadian journal of plant science*, *92*(6), 1113-1120.

Zhao, X., Hu, R., He, Y., Li, S., Yang, J., Zhang, J., & Xue, T. (2022). Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria from Sichuan pickle for cholesterol lowering property and triglycerides lowering activity. *Food Science and Technology*, *42*.

Zheng, J., Zhou, Y., Li, S., Zhang, P., Zhou, T., Xu, D. P., & Li, H. B. (2017).Effects and mechanisms of fruit and vegetable juices on cardiovascular diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(3), 555.

Zou, Y., & Jiang, A. (2016). Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science and Technology*, *36*, 111-115.

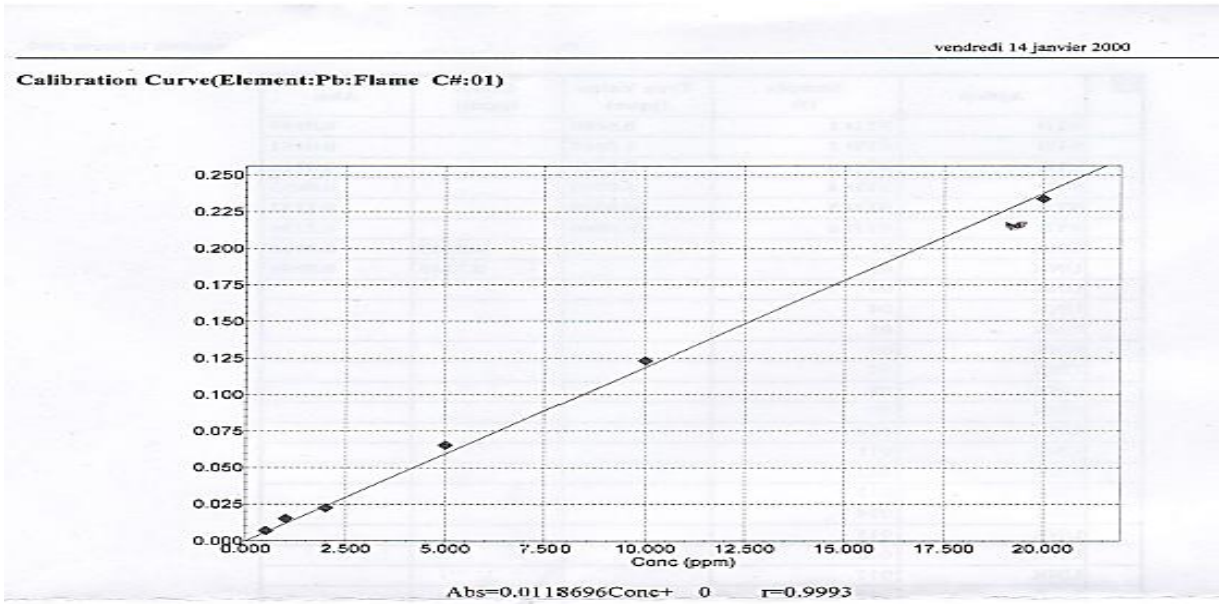
Sites Web

Www.aujardin.info.com. Consulter le 08/04/2022.
Agronomie environnement et santé. juin2017. Nutrition et agronomie, (7),
Www.clcv.org/storage/app/media/dossier-presse-enquete-jus-fruits.
Www. fr.ripleybelieves.com.
Www.economie.gouv.fr.

Autres références

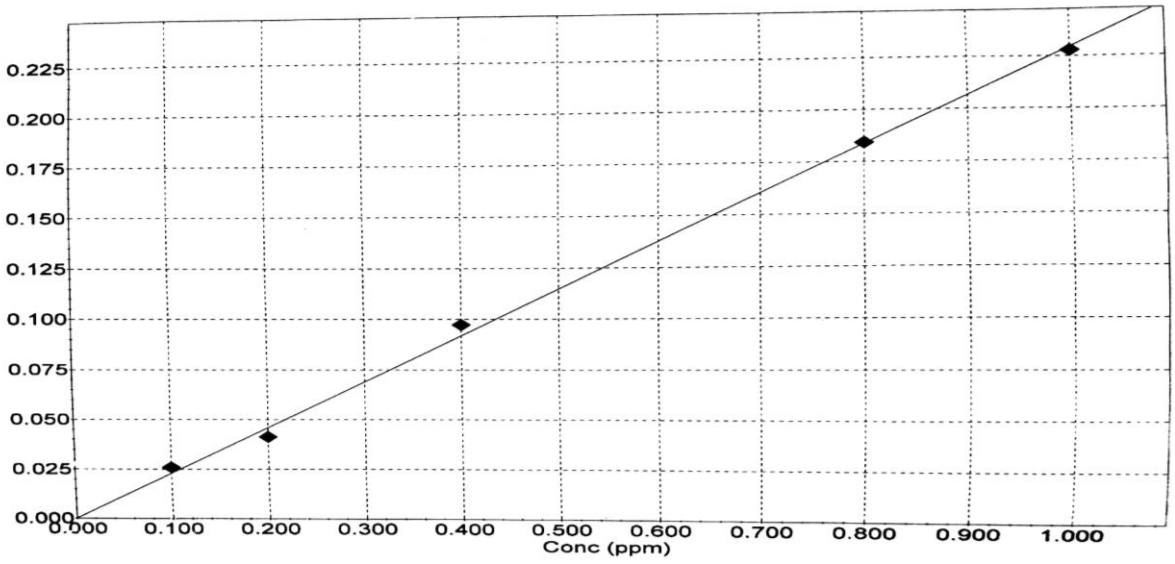
Direction des services agricole de la wilaya de Jijel (DSA). (2022).

Annexes



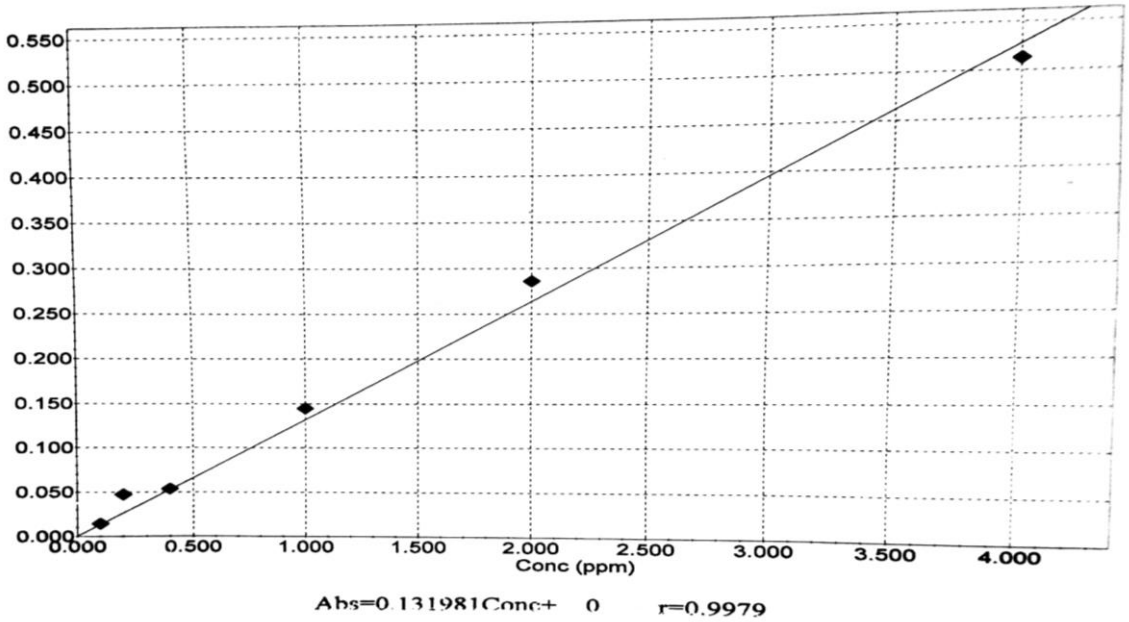
CONC	ABS
0.5000	0.0069
1.0000	0.0151
2.0000	0.0224
5.0000	0.0653
10.0000	0.1232
20.0000	0.2336

Annexe 01 : Courbes d'étalonnage pour le dosage du plomb



CONC	ABS
0.1000	0.0259
0.2000	0.0413
0.4000	0.0972
0.8000	0.1841
1.0000	0.2278

Annexe 02 : Courbes d'étalonnage pour le dosage du zinc

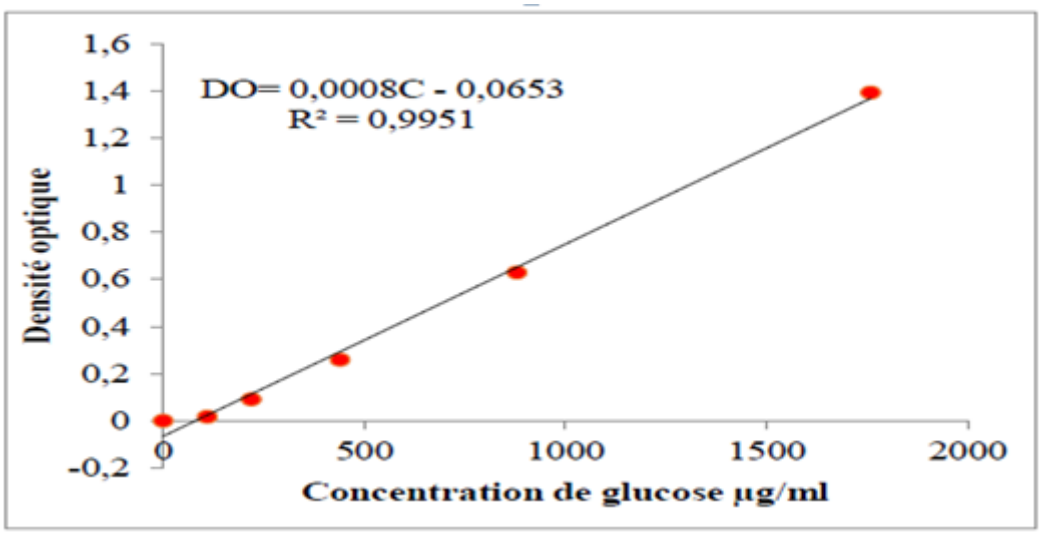


Abs=0.131981Conc+ 0 r=0.9979

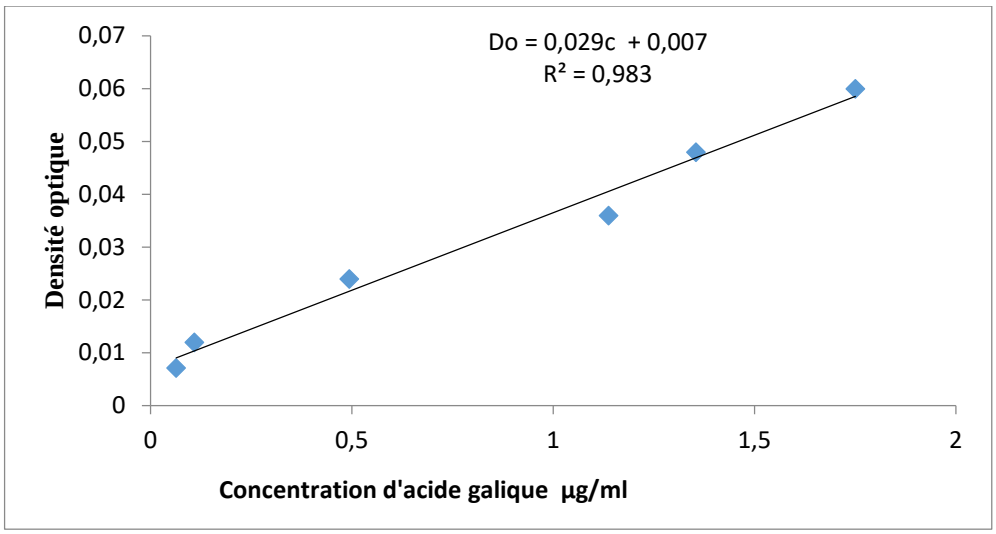
CONC
0.1000
0.2000
0.4000
1.0000
2.0000
4.0000

ABS
0.0142
0.0471
0.0537
0.1444
0.2861
0.5126

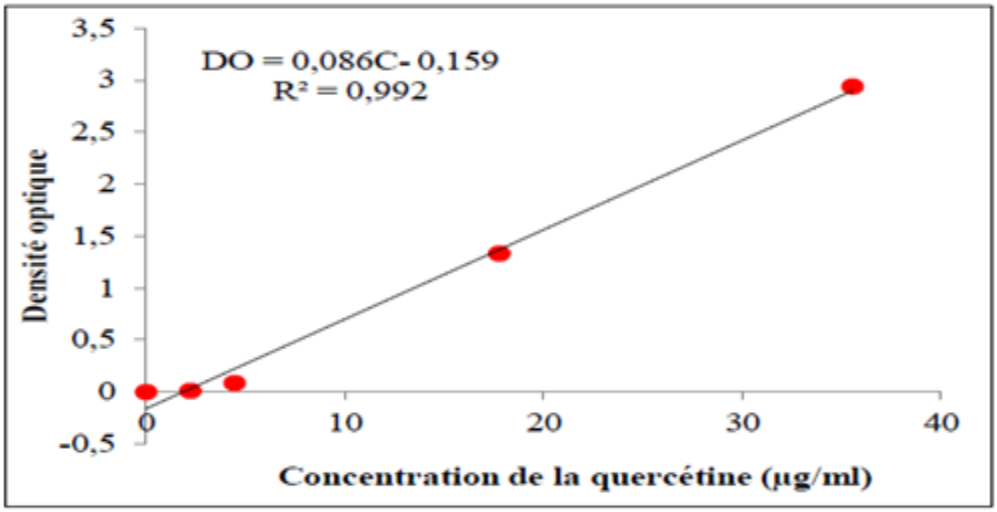
Annexe 03 : Courbes d'étalonnage pour le dosage du cadmium



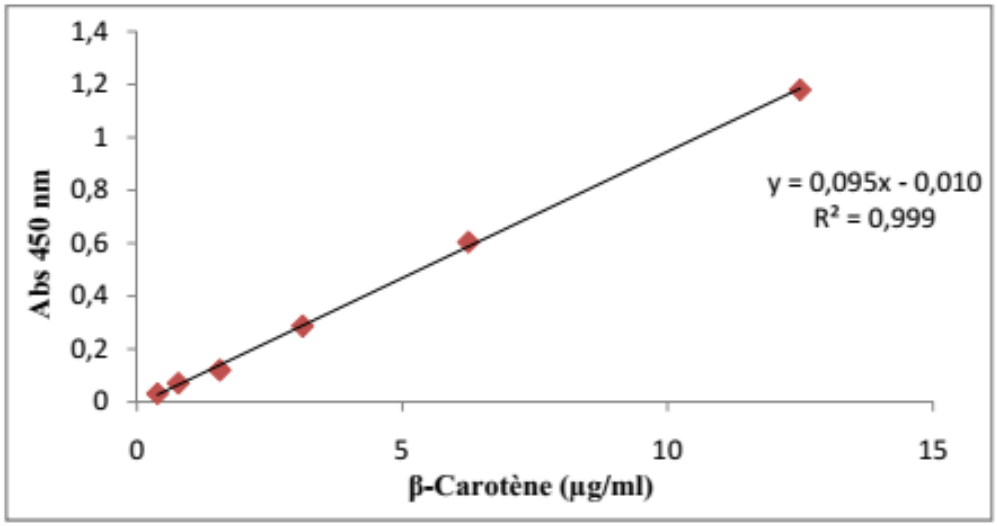
Annexe 04 : Courbe d'étalonnage pour la quantification des sucres totaux



Annexe 05 : Courbe d'étalonnage pour la quantification des Polyphénols totaux



Annexe 06 : Courbe d'étalonnage pour la quantification des flavonoïdes



Annexe 07 : courbe d'étalonnage pour la quantification des caroténoïdes

Nom et prénom :…….. ……. Age :……. Sexe :…… Note:……/10						
	Jus 01			Jus 02		
Acceptabilité générale	.	.	.	.	.	.
Odeur	.	.	.	.	.	.
Saveur	.	.	.	.	.	.
Goût	.	.	.	.		.
Apparence	.	.	.	.	.	.

Annexe 08 : Fiche d'analyse sensorielle

Réalisé par :
Mekhalfa Samira
Keroun Salsabil

Encadré par :
Dr.Boubezari MT

Date de soutenance :
11/09/2022

Formulation d'un jus de légumes probiotique

Résumé

L'objectif de notre étude était de préparer une boisson probiotique non laitière destiné aux personnes qui ne peuvent pas consommer les produits laitiers en raison d'une intolérance au lactose et aux personnes végétaliens.

Les nouvelles technologies cherchent à développer d'autres matrices végétales comme un bon milieu de survie pour les probiotiques, l'adaptation du jus de carotte-betterave pour la production d'une boisson probiotique avec *L.plantarum, L.casei* et *L.acidophilus* a été examinée. La composition approximative du jus probiotique a montré qu'il a la même teneur en cendre et en caroténoïdes que le témoin, une réduction de la teneur en flavonoïdes et une augmentation des paramètres physiques comme la turbidité et la viscosité par rapport au jus de carotte-betterave frais. De plus, les deux jus ont présenté une bonne activité antioxydante qui est encore meilleure dans le jus supplémenté. *L.plantarum, L.casei* et *L.acidophilus* J21 a montré une bonne survie dans le jus et l'analyse sensorielle a montré que les deux jus ont une bonne acceptabilité par le panel. Les résultats suggèrent que le jus de carotte-betterave fermenté peut servir de milieu approprié pour la croissance des probiotiques.

Mots clés : jus, carotte, betterave, *lactobacillus*, probiotiques, activité antioxydante.

Abstract

The aim of this study was to provide a non-dairy probiotic drink for people who can not consume dairy products because of lactose intolerance, dietary preferences such as vegetalians. While looking for another vector for probiotics, the suitability of carrot-beetroot juice for the production of probiotic foods with *L. plantarum, L.casei and L.acidophilus* was examined. The approximate composition of the probiotic juice has shown that it has the same ash, electrical conductivity and carotenoid content as the control, a reduction in flavonoids content and an increase in physical parameters such as, turbidity and viscosity compared to fresh carrot-beetroot juice. In addition, both juices showed a good antioxidant activity that is even better in the supplemented juice. *L.plantarum, L.casei and L.acidophilus* J21 showed good survival in the juice and sensory analysis showed that both juices had good acceptability by the panel. The results suggest that fermented carrot-beetroot juice can serve as a suitable medium for the growth of probiotics.

Key words: juice, carrot, beetroot, probiotics, *lactobacillus*, antioxidant activity.

ملخص

كان الغرض من هذه الدراسة تقديم مشروب مخمر ببكتيريا اللاكتو باسيلوس، لا يحتوي على منتجات الألبان للأشخاص الذين لا يستطيعون تناول منتجات الألبان بسبب عدم تحمل اللاكتوز أو التفضيلات الغذائية مثل النباتيين أو غيرها من المشكلات الصحية. أثناء البحث عن ناقل اخر للبروبيوتيك، تم فحص مدى ملاءمة عصير الجزر والشمندر لإنتاج الأغذية بروبيوتيك مع *L.plantarum, L.casei* و *L.acidophilus* أظهرت التركيبة التقريبية لعصير البروبيوتيك أنه يحتوي على نفس نسبة الرماد والموصلية الكهربائية ومحتوى الكاروتينويد و انخفاض في محتوى الفلافونويد وزيادة في المعايير الفيزيائية مثل التعكر و اللزوجة مقارنة بعصير الجزر و الشمندر الطازج. بالإضافة الى ذلك أظهر كل من العصائر نشاط جيد مضاد للأكسدة وهو أفضل في العصير المضاف. أظهر *L.plantarum, L.casei L.acidophilus* J21 بقاءا جيدا في العصير، و أظهر التحليل الحسي أن كلا من العصير المخمر باللاكتو باسيلوس و العصير الطازج كانا مقبولان جيدا من قبل الفريق. وتشير النتائج الى أن عصير الجزر والشمندر يكمن أن يكون وسيلة مناسبة لنمو البروبيوتيك.

الكلمات المفتاح: عصير، الشمندر، جزر، بروبيوتيك، لاكتوبسيلوس، نشاط مضاد الأكسدة.