

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

بـ يـ بـ يـ بـ يـ بـ يـ بـ

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



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و
علوم التغذية

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme :
Master Académique en Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Changement de composés phytochimiques et de substances bioactives dans le jus de *Morus alba* fermenté par *Lactobacillus* pendant le processus de fermentation et au cours de la digestion *in vitro*

Président : Mr. Rahmoune Y.

Examineur : Dr. Benhamada O.

Encadrant : Mr. Khennouf T.

Co-encadrant : Pr. Idoui T.

M^{elle} : Lahlou Amina

M^{elle} : Aliliche Roumaissa

M^{elle} : Amira Khawla

Année Universitaire 2022-2023

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

Avant tout nous remercions « Allah » tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous tenons nos plus vifs remerciements à nos encadrants Mr Khennouf. T et Pr Idoui. T pour leurs conseils scientifiques judicieux, leurs gentillesse, leurs patiences, leurs disponibilités, leurs confiances et également leurs suivis durant la période de la réalisation de ce travail malgré leurs charges professionnelles.

Nos remerciements vont également aux membres de jury Mr Rahmoune. Y et Dr Benhammada. W d'avoir accepté d'examiner notre travail. Nos chaleurs remerciements s'adressent à nos chers parents et nos frères et sœurs pour ces encouragements pour leur soutien tout au long de nos études et durant ce travail. Enfin, le mérite de ce travail revient à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à sa réalisation et auxquelles d'ailleurs nous exprimons de tout cœur.

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1
1 <i>Morus alba</i>	2
1.1 Généralités.....	2
1.2 Classification taxonomique.....	2
1.3 Caractéristiques morphologiques	2
1.4 Composition	3
1.5 Intérêts et bienfaits du <i>M. alba</i>	4
2 Probiotiques et probiotification des jus.....	5
2.1 Définition des probiotiques.....	5
3.2 Principaux probiotiques.....	5
2.3 <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> comme probiotique.....	6
2.4 Activité antioxydante des probiotiques	8
2.5 Probiotique en industrie des jus.....	9
2.6 Conditions d'incorporation de probiotiques en industrie des jus et les critères de sélection.....	9
3 Matériel et méthodes.....	13
3.1 Matériel.....	13
3.2 Méthodes.....	15
3.2.1 Revivification de la souche.....	15
3.2.2 Fabrication du jus de <i>Morus alba</i> et fermentation.....	15
3.2.3 Contrôle des paramètres morphologiques.....	16
3.2.4 Analyse physicochimique.....	16
3.2.5 Teneur en sucres totaux.....	17
3.2.6 Teneur en protéines.....	18
3.2.7 Détermination des composés phytochimiques.....	19
3.2.8 Détermination des polyphénols.....	19
3.2.9 Tests des activités antioxydantes.....	20
3.2.10 Test de l'activité antimicrobienne.....	21

3.2.11 Dénombrement des bactéries lactiques	21
3.3 Effet de la digestion bucco- gastro- intestinale sur la viabilité de <i>L. plantarum in vitro</i>	21
3.3.1 Préparation des solutions mères des liquides simulés de la digestion.....	21
3.3.2 Protocole expérimental de la digestion bucco -gastro-intestinale <i>in vitro</i>	22
4 Résultats et discussion.....	24
4.1 Contrôle des paramètres morphologiques.....	24
4.2 Evolution des paramètres physicochimiques du jus de <i>M. alba</i> au cours de la fermentation et la conservation à 4°C.....	24
4.2.1 Détermination du pH et de l'acidité.....	24
4.2.2 Conductivité.....	25
4.2.3 Taux de solides solubles (degré Brix).....	26
4.2.4 Matière organique et cendres.....	27
4.2.5 Teneur en sucre totaux.....	28
4.2.6 Teneur en protéines.....	29
4.3 Caractéristiques phytochimiques de jus.....	30
4.3.1 Polyphénols.....	30
4.3.2 Flavonoïdes.....	34
4.4 Activité antioxydante.....	38
4.4.1 Activité antioxydante totale.....	38
4.4.2 Réduction du fer (FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power).....	42
4.4.3 Piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	45
4.4.4 Activités antioxydantes de la souche.....	49
4.5 Activité antimicrobienne.....	51
4.6 Survie et la viabilité de <i>L. plantarum</i>	52
Conclusion.....	57
Liste des références.....	58
Annexes	

Liste des abréviations

- **ABS** : Absorbance
- **AG** : acide gallique
- **DPPH**: 1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl
- **EAA** : Equivalent Acide Ascorbique
- **EAG** : Equivalent d'Acide Gallique
- **FAO**: Food Agriculture Organisation
- **FRAP**: Ferric Reducing Ability of Plasma.
- **JL** : Jus lactofermenté
- **JN** : Jus non lactofermenté
- **MIS** : système immunitaire muqueux
- **mM** : millimolaire
- **MRS** : gélose de Man Rogosa et Sharpe
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **rpm** : Rotation par minute
- **TCA** : Acide trichloro-acétique
- **Trolox** : 6-hydroxy-2, 5, 7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
- **TSS** : Taux de solides solubles
- **UFC** : Unité formant colonie

Liste des figures

Figure 1 Caractéristique des souches probiotiques	10
Figure 2 Fruits de <i>Morus alba</i> utilisés dans l'étude.....	13
Figure 3 Schéma de la préparation du jus de <i>Morus alba</i> fermenté.....	15
Figure 4 Schéma de la digestion bucco-gastro-intestinale in vitro	23
Figure 5 Valeurs moyennes du pH et acidité.....	25
Figure 6 Valeurs moyennes de la conductivité.....	26
Figure 7 Taux de solides soluble (Brix°) des jus.....	27
Figure 8 Matière organique et taux de cendres.....	28
Figure 9 Teneur de jus en sucres totaux.....	29
Figure 10 Teneur en protéines.....	30
Figure 11 Teneur en polyphénols durant la conservation.....	31
Figure 12 Teneur en polyphénols de la première digestion.....	32
Figure 13 Teneur en polyphénols de la deuxième digestion.....	32
Figure 14 Teneur en polyphénols de la troisième digestion.....	33
Figure 15 Teneur en polyphénols de la quatrième digestion.....	34
Figure 16 Teneur en flavonoïdes durant la conservation.....	34
Figure 17 Teneur en flavonoïdes de la première digestion.....	35
Figure 18 Teneur en flavonoïdes de la deuxième digestion.....	36
Figure 19 Teneur en flavonoïdes de la troisième digestion.....	36
Figure 20 Teneur en flavonoïdes de la quatrième digestion.....	37
Figure 21 Activité antioxydante totale durant la conservation du jus fermenté.....	38
Figure 22 Activité antioxydante totale de la première digestion.....	39
Figure 23 Activité antioxydante totale de la deuxième digestion.....	40
Figure 24 Activité antioxydante totale de la troisième digestion.....	40
Figure 25 Activité antioxydante totale de la quatrième digestion.....	41
Figure 26 Teneur en fer durant la conservation du JL.....	42
Figure 27 Teneur en fer de la première digestion.....	43
Figure 28 Teneur en fer de la deuxième digestion.....	43
Figure 29 Teneur en fer de la troisième digestion.....	44
Figure 30 Teneur en fer de la quatrième digestion.....	45
Figure 31 Pourcentage d'inhibition du radical DPPH durant la conservation du JL.....	46
Figure 32 Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de la première digestion.....	47
Figure 33 Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de la deuxième digestion.....	47

Figure 34 Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de la troisième digestion.	48
Figure 35 Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de la quatrième digestion.	49
Figure 36 Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de la souche et surnageant.	50
Figure 37 Teneur en fer de la souche et surnageant.	50
Figure 38 Activité antioxydantes totale de la souche et surnageant.	51
Figure 39 Activité antibactérienne du JN et JL.	52
Figure 40 Dénombrement durant la conservation.	53
Figure 41 Dénombrement de la première digestion.	54
Figure 42 Dénombrement de la deuxième digestion.	54
Figure 43 Dénombrement de la troisième digestion.	55
Figure 44 Dénombrement de la quatrième digestion.	56

Liste des tableaux

Tableau 1 Principaux probiotiques à usage humain.....	6
Tableau 2 Critères de sélection des probiotiques.....	11
Tableau 3 Liste du matériel utilisé.....	14
Tableau 4 Composition des solutions stimulées de la digestion.....	21
Tableau 5 Paramètres morphologiques de <i>M. alba</i>	24

Dès la naissance, notre tractus gastro-intestinal est colonisé par de nombreux microorganismes qui vont constituer le microbiote digestif. On peut considérer cet écosystème comme un organe à part entier et il joue un rôle crucial dans le fonctionnement du système immunitaire muqueux (MIS). Il contribue au bon fonctionnement intestinal grâce aux multiples activités qu'il exerce. Mais, l'équilibre du microbiote est fragile et sa rupture peut conduire à des situations pathologiques au niveau intestinal d'où l'idée d'administrer des microorganismes exogènes afin de moduler de façon positive le microbiote dans un sens favorable ou simplement d'utiliser leurs propriétés métaboliques, c'est le concept probiotique ([Shewale et al., 2014](#) ; [Mureşan et al., 2018](#) ; [Lin et al., 2020](#)).

Actuellement, dans l'industrie des boissons l'évolution s'oriente vers des nouvelles combinaisons de probiotique et de jus de fruits additionnés parfois des composants bioactifs renforçant leurs qualités diététiques et thérapeutiques. La consommation des fruits possède un effet sur la santé reconnu qui peut être associé à leur potentiel antioxydant et nutritionnel ([Petruzzi et al., 2017](#)).

Les bactéries lactiques sont couramment utilisées comme probiotiques ou des souches fonctionnelles dans l'industrie alimentaire et des boissons. Ces organismes produisent de l'acide lactique comme un produit final principal de la fermentation des glucides. Les bactéries lactiques peuvent acidifier rapidement les aliments par la production d'acides organiques, ce qui prolonge la durée de conservation, telle que *L. plantarum*, *L. casei*, *L. acidophilus*. La demande des consommateurs 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 bactéries lactiques ([Chen et al., 2019](#)).

Morus alba, également connu « murier blanc » est une plante médicinale populaire appartenant à la famille des *Moraceae* originaire d'Asie de l'Est et cultivé dans de nombreuses régions du monde pour ses feuilles et fruits. A longtemp s été utilisée dans de nombreux systèmes traditionnels de médecine. Les recherches révèlent un large éventail d'activités pharmacologiques importantes, notamment antimicrobiennes, antioxydantes. Ce fruit peut transformer à diverse formes notamment sous forme d'un jus ([Devi et al., 2013](#) ; [Sánchez-Salcedo et al., 2015](#)).

Dans ce contexte, nous avons opté pour le choix de ce thème qui consiste à l'utilisation d'une bactérie lactique « *Lactobacillus plantarum* » pour le but de fermentation de jus de *Morus alba* et l'étude de leurs activités physicochimiques, phytochimiques, antioxydantes, et microbiologiques et leur digestion *in vitro*.

1.1 Généralités

Morus alba (le mûrier blanc) est un arbre vivace ligneux à feuilles caduques à croissance rapide, est considérée comme une plante médicinale populaire appartenant à la famille des Moracées et depuis longtemps couramment utilisée en médecine ayurvédique et dans de nombreux systèmes de médecine traditionnelle. Elle est originaire d'Inde, de Chine et du Japon. Et cultivé aussi en Europe, en Amérique du Nord et en Afrique (Devi *et al.*, 2013 ; Rohela *et al.*, 2020). Le fruit du mûrier blanc est une délicieuse baie charnue et succulente, faible en calories et contenant des composés phyto-nutriments favorisant la santé. Il est servi comme fruit célèbre dans de nombreux pays et comme herbe traditionnelle en Chine (Xu *et al.*, 2020). En raison de sa valeur nutritive, ce fruit aujourd'hui est consommé sous des formes fraîches et transformées, comme des jus, des confitures, des sirops, des boissons, des colorants naturels ou des fruits secs (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015).

1.2 Classification taxonomique

- Règne : Plantae
- Sous- Règne : Tracheobionta ;
- Subdivision : Spermatophyta ;
- Division : Magnoliophyta ;
- Classe : Magnoliopsida ;
- Sous-Classe : Hamamelididae ;
- Ordre : Urticales ;
- Famille : *Moraceae* ;
- Genre : *Morus* ;
- Espèce : *Morus alba* (Devi *et al.*, 2013).

1.3 Caractéristiques morphologiques

M. alba est une espèce végétale avec un large éventail d'adaptations environnementales. Dans le cadre d'étudier les caractéristiques morphologiques de ce dernier, leur culture avec des récoltes régulières, l'élagage et l'étêtage, les arbres sont réduits à un buisson bas pour faciliter la récolte des feuilles ou des fruits. L'écorce est gris-brun foncé avec des lenticelles horizontales, les feuilles sont vertes brillantes alternes, cordées à la base, (Seo *et al.*, 2015 ; Chan *et al.*, 2016) et acuminé à l'apex, les marges sont dentelées et les pétioles sont longs et fins. Variant de 5,0 à 7,5 cm de longueur, les feuilles sont de forme très variable. Même sur le même arbre, certains sont non lobées tandis que d'autres peuvent être presque palmé. Dans les régions tempérées et subtropicales, les arbres sont généralement dioïques (plantes mâles et femelles séparées) mais peut être monoïque

(fleurs mâles et femelles sur mêmes plantes) et peut parfois passer d'un sexe à un autre. Les fleurs composées de chatons mâles et femelles sont discrètes, pendantes et verdâtres. Le fruit se compose de nombreuses drupes formées par des fleurs individuelles pour former une sorose, le fruit caractéristique du mûrier (Natić *et al.*, 2015 ; Chan *et al.*, 2016).

1.4 Composition

Ces dernières années, un nombre croissant d'études ont été menées sur les mûriers en relation morphologiques, biochimiques, phytochimiques et caractéristiques antioxydantes et leur contribution à nutrition et santé humaines. Le murier blanc *M. alba* est très riche en flavonoïdes dont la rutine, la quercétine et l'isoquercitine, une source nutritionnelle importante pour protéger système immunitaire (Natić *et al.*, 2015 ; Gundogdu *et al.*, 2017).

Des études phytochimiques antérieures ont abouti à l'isolement des métabolites secondaires des feuilles et des racines de *M. alba* tels que morin, morusin, mulberrofuran G, calystégines B1, et fagomine. Les fruits de *M. alba* contiennent une variété de composés phytochimiques tels que les tocophérols, les stérols, les arylbenzofuranes prénylés (Seo *et al.*, 2015).

D'autres études ont rapporté que les fruits du *M. alba* produisent des effets positifs sur l'alimentation et la santé humaines en raison de la présence de composés sains ou bioactifs, tels sous forme d'acides organiques, (dérivés de l'acide benzoïque, acide cinnamique dérivés, flavonols anthocyanes) de composés phénoliques (Sánchez *et al.*, 2014) et sucres, riches en alcaloïdes dont la 1-désoxyojirimycine (DNJ), le plus puissant inhibiteur de la glycosidase qui diminue la glycémie (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2017), aussi en vitamines, graisses (principalement acide linoléique, acide palmitique, acide oléique), sucres (glucose et fructose) carotoïdes et minéraux. Ainsi que beaucoup des bioactivités, telles que les antioxydants, effet hypolipidémique et macrophage effet activateur, étaient liés à la présence de composés phénoliques dans les fruits du mûrier. Les anthocyanes, pigments hydrosolubles, représentent une classe des antioxydants importants avec des effets potentiels dans la réduction du risque des maladies cardiovasculaires et des cancers via leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimétastases et chimioprotectrices (Natić *et al.*, 2015).

M. alba a une grande quantité d'acide caféique qui inhibe sélectivement la biosynthèse des leucotriènes, qui jouent sensiblement un rôle vital dans diverses maladies comme l'asthme, réactions allergiques et inflammations (Muhammad *et al.*, 2013).

1.5 Intérêts et bienfaits du *M. alba*

Ils existent plusieurs études qui montrent les bienfaits et la variété des activités biologiques du *M. alba*, telles que l'activité antioxydante, antibactérienne, antivirale, antidiabétique et anticancéreuse ([Jung et al., 2019](#)).

1.5.1 Activité antioxydante

Elle possède un rôle très important pour diminuer les dommages causés par le stress oxydatif. Ces propriétés existent chez les plantes qui possèdent des contenus phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes, flavonols et proanthocyanidines) y compris le *M. alba* ([Khan et al., 2013](#)).

1.5.2 Activité antivirale

M. alba produisent des constituants avec une capacité à inhiber les virus, tels que les flavonoïdes ciblant l'entrée du virus dans la cellule hôte et inhiber la traduction lors la reproduction du virus, les tanins qui inhibent l'entrée des particules virales dans la cellule hôte et les polysaccharides qui interfère avec attachement du virus à l'hôte ([Younus et al., 2016](#)).

1.5.3 Activité anticancéreuse

divers composés exercent l'effet anticancéreux ces composés sont les glycosides ; elles arrêtent le cycle cellulaire, les lectines qui libèrent les caspases, et les polyphénols : Albanol A et Mulberrofuran G, ces derniers inhibe la topoisomérase II, arrêtent le cycle cellulaire, induisent l'apoptose et inhibent l'angiogenèse ([Younus et al., 2016](#)).

1.5.4 Activité antibactérienne

Des études montrent que *M. alba* possèdent une bonne activité antibactérienne contre plusieurs pathogènes tels que les *Streptococcus* et d'autres moisissures. Cette activité résulte de la présence de certains composés phytochimiques et minéraux. Ces derniers inhibent la prolifération des microorganismes et la formation de biofilm, alors elles peuvent être utilisés comme agents thérapeutiques ([Zafar et al., 2013](#)).

2.1 Définition des probiotiques

La découverte des probiotiques a été liée aux travaux du scientifique et prix Nobel **Elie Metchnikoff** en 1907 lorsqu'il a remarqué que la longévité et la bonne santé des paysans Bulgares est liée à la consommation de lait fermenté. Puis, il remarque que l'ingestion des bactéries lactiques influençait positivement la microflore intestinale en réduisant dans le tube digestive la population des bactéries putréfiantes ou produisant des toxines, ce qui amélioreraient l'hygiène digestive, et donc augmenter l'espérance de vie (**Gogineni et al., 2013**).

Le terme probiotique est dérivé de deux mots, du latin (pro) et du grec (bios) qui signifient littéralement « pour la vie » ou « en faveur de la vie », contrairement au terme antibiotique signifiant "contre la vie". Il a été utilisé pour la première fois par Werner Kollath en 1953 pour décrire de manière générique divers suppléments organiques et inorganiques qui ont la capacité de rétablir la santé des gens souffrant de mal nutrition (**Behnsen et al., 2013**).

La définition actuelle des probiotiques a été formulée par la FAO (Food and Agriculture Organisation) et l'OMS (Organisation Mondiale de Santé) en 2002 comme suit : « des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité suffisante, confèrent un avantage pour 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**).

2.2 Principaux probiotiques

Selon la définition OMS, tous les microorganismes administrés vivants et ayant une action positive sur la santé peuvent être considérés comme probiotiques. Couramment les espèces des genres *Lactiplantibacillus* et *Bifidobacterium*, des levures non pathogènes, c'est le cas de *Saccharomyces cerevisiae*. Par ailleurs, d'autres genres et espèces peuvent être également considérés comme probiotiques notamment, *Escherichia coli*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces boulardii*, *Propionibacterium*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* (**Tamang et al., 2016 ; Tufarelli et Laudadio, 2016**).

Le tableau 1 ci-dessous résume la liste des microorganismes considérés comme probiotiques.

Tableau 1 Principaux probiotiques à usage humain (Markowiak et Śliżewska, 2017)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	Autres microorganismes
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Bacillus clausii</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>E. faeclum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>			
<i>L. gasseri</i>	<i>B. breve</i>			
<i>L. helveticus</i>	<i>B. infantis</i>			
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. longum</i>			
<i>L. pentosus</i>				
<i>L. plantarum</i>				
<i>L. reuteri</i>				
<i>L. rhamnosus</i>				
<i>L. bulgaricus</i>				
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>				

2.3 *Lactiplantibacillus plantarum* comme probiotique

2.3.1 Généralité sur l'espèce

C'est une bactérie lactique parmi les bactéries les plus étudiées, elle est mésophile non pathogène, sous forme bâtonnet à Gram positif, elle est aérobie anaérobie facultative, catalase négative, non sporulée, immobile et ses cellules sont organisées sous forme des chaînes, capable de cultiver à des températures de 15 à 45°C, elle croit en présence de 4 à 6% de NaCl et à des pH de 4 à 9 (Al-Tawaha et Meng, 2018). *L. plantarum* se caractérise par un métabolisme hétéro fermentaire facultatif, elle est désignée comme Streptobacterium et appartient au groupe B, elle fermente les hexoses en acide lactique, et capable de fermenter les pentoses et le gluconate, donc elle est capable de fermenter différents aliments et utilisée comme starter dans la production des aliments fermentés (Ferrando et al., 2016 ; Jawad Kadhim et Seyed Hadi, 2017).

L. plantarum est une espèce polyvalente, peut avoir lieu dans plusieurs niches écologiques, notamment la cavité buccale, le tractus gastro-intestinal humain et animal et les cavités vaginales,

elle est caractérisée par une grande diversité phénotypique, pour cette raison elle a la capacité métabolique pour leur utilisation industrielle (**Ferrando et al., 2016**).

Plusieurs recherches assure que *L. plantarum* produit des substances antimicrobiennes de type bactériocines de classe II (plantaricines) (**Taale et al., 2016**).

2.3.2 L'intérêt probiotique de *L. plantarum*

L. plantarum a une longue histoire d'utilisation comme starter dans la fermentation de produits alimentaires, d'ailleurs certaines souches se sont vu attribuer des propriétés bénéfiques pour la santé et se produisent dans une variété d'aliments probiotiques actuellement commercialisés (**Bove et al., 2013**).

Pour cela, les allégations de santé de *L. plantarum* ont autorisés à développer différentes formulations de probiotiques et ses propriétés antibactériennes sont intéressantes pour la sécurité alimentaire comme dans la technologie de bio-conservation (**Seddik et al., 2017**).

2.3.3 Survie au cours de transit digestif

Selon les recommandations d'évaluation des probiotiques, les souches putatives de probiotiques doivent être examinées pour leurs propriétés fonctionnelles essentielles (résistance à l'acidité et aux sels biliaries, la production de composés antimicrobiens, la capacité de moduler les réponses immunitaires et l'adhérence aux tissus intestinaux) et les propriétés de sécurité telles que la résistance aux antibiotiques et production d'amines biogènes dans les tests *in vitro*. Dans le cas des probiotiques administrés par voie alimentaire, la viabilité des probiotiques est essentielle pour atteindre la santé avantages liés à leur consommation (**Matousova et al., 2021**)

Le premier obstacle au probiotiques lors de la digestion est le stade buccal, pour cela le probiotique doivent être résistant aux enzymes présentent dans ce stade-là (l'amylase et le lysozyme) (**de Melo Pereira et al., 2018**).

Ensuite après l'ingestion le probiotique doit être apte pour accepter et résister le stress du tractus gastro-intestinal qui présente une source d'acidité gastrique élevée, le stress osmotique, les pepsines et d'autres facteurs au niveau d'estomac (**Matousova et al., 2021**). Ainsi au niveau des intestin par rapport aux sels biliaries et au pancréatine (**de Melo Pereira et al., 2018**).

En effet *L. plantarum* a prouvé leur capacité à survivre au cours de transit gastrique et de coloniser le tractus intestinal de l'homme et d'autres mammifères. Certaines études ont montré que la consommation de *L. plantarum* réduit le portage des entérobactéries fécales, diminuent certains facteurs de risque de maladie coronarienne (**Belicová et al., 2013**).

Comme nous avons indiqué auparavant, la résistance aux faibles pH est un facteur important de sélection des microorganismes probiotiques, car le suc gastrique dans l'estomac détruit la plupart des micro-organismes ingéré, de plus des recherche valide que les souches de *L. plantarum* capables de tolérer trois heures d'exposition à l'acide à pH 2,0 avec seulement une réduction lente de viabilité de même elles se développent sous une faible capacité tampon dans le tractus gastro-intestinal qui montre une tolérance élevée au HCl (pH 2,0) et aux sels biliaries. En outre, il est utilisé comme cultures dans la fermentation alimentaire artisanale et dans les applications industrielles. En attendant, elle contribue à la conservation, la saveur et la texture des aliments fermentés. Par conséquent, il peut se développer à des températures comprises entre 15 et 45°C (Valan Arasu *et al.*, 2013).

2.4 Activité antioxydante des probiotiques

La pollution de l'environnement est la principale cause associée à l'induction des niveaux élevés d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que le superoxyde anion et radical hydroxyle dans les cellules de mammifères.

Les niveaux élevés de ces radicaux libres hautement actifs se sont avérés être associés avec de nombreuses maladies humaines, telles que la carcinogenèse, l'athérosclérose, la maladie d'Alzheimer, le vieillissement et les processus dégénératifs. Les cellules de mammifères acquièrent une défense et une réparation antioxydantes, mais elle reste insuffisante, donc les antioxydants provenant de sources naturelles sont plus souhaitables. Il a été montré que certains lactobacilles possèdent une activité antioxydante et sont capable de diminuer le risque d'accumulation de ROS et dégradent l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène (Das et Goyal, 2015).

L'activité antioxydante est un critère important et fréquemment utilisés pour la sélection des souches probiotiques. Elle pourrait être une propriété fonctionnelle bénéfique pour une souche probiotique potentielle en raison d'une grande variété d'espèces réactives de l'oxygène qui se forment dans les systèmes alimentaires et dans le corps des mammifères. De nombreuses études ont rapporté que les antioxydants jouent un rôle fondamental dans la prévention du cancer et des maladies cardiovasculaires en agissant comme piègeurs d'espèces réactives de l'oxygène et de métaux chélateurs pour protéger les cellules humaines et réduire les dommages de l'oxydation. Un certain nombre d'études ont suggéré que la fermentation des produits par les bactéries lactiques peut avoir une activité antioxydante pour fournir une certaine protection contre les maladies liées au stress oxydatif et à la présence de radicaux libres. Les souches probiotiques peuvent renforcer les défenses cellulaires des hôtes, réduisent les espèces réactives de l'oxygène, augmentent la superoxyde dismutase et diminuent la peroxydation lipidique (Shokryazdan *et al.*, 2017).

Les mécanismes antioxydants des probiotiques pourraient être attribués aux ROS piégeage, chélation des ions métalliques, inhibition enzymatique et à l'activité de réduction et l'inhibition de l'auto-oxydation de l'ascorbate. Les activités métaboliques des probiotiques peuvent avoir un effet antioxydant via le piégeage des composés oxydants ou la prévention de leur génération dans l'intestin ([Amaretti et al., 2013](#)).

Les essais *in vitro* basés sur la détermination de la capacité de piégeage contre les ROS tels que le dosage de piégeage des anions superoxyde, le peroxyde d'hydrogène essai de piégeage et activité de piégeage contre stable radicaux non biologiques. Plusieurs tests ont été utilisés pour évaluer la teneur totale en antioxydants dans les aliments tels que le dosage de la capacité antioxydante équivalente (TEAC) de l'acide 6-hydroxy 2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique (Trolox), le dosage du pouvoir antioxydant (FRAP) et le radical oxygène test de capacité d'absorbance (ORAC). Cependant, il a été trouvé que les méthodes les plus courantes et les plus fiables sont les 2,2- les méthodes diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) et acide 2,2'-azinobis (3-éthyl benzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) ; ces méthodes sont simples, rapides, sensibles et reproductibles et ont été modifiés et améliorés selon les exigences de la recherche ([Mishra et al., 2015](#)).

2.5 Probiotique en industrie des jus

Généralement, les probiotiques sont largement utilisés dans les produits laitiers comme le yaourt, mais dernièrement ils étaient appliqués aux produits non laitiers tels que les jus de fruits et de légumes. L'utilisation des bactéries probiotiques dans l'industrie des jus de fruits permet le développement des différents paramètres du jus, cela augmente sa consommation par un large éventail de personnes en raison de ses caractéristiques saines et leur absence de composants incompatibles tels que le lactose et la caséine ([Nematollahi et al., 2016](#)).

L'industrie des jus et des boissons fermentés subit une croissance active dans le monde, ces derniers sont considérés comme support approprié pour la livraison des bactéries probiotiques à cause de leur richesse en vitamines, minéraux et composés antioxydants. L'incorporation des bactéries probiotiques au jus des fruits et des légumes est devenue un choix intéressant pour les personnes qui ne consomment pas les produits laitiers ([Mantzourani et al., 2018](#)).

2.6 Conditions d'incorporation de probiotiques en industrie des jus et les critères de sélection

Lors le processus de sélection d'une souche probiotique pour l'incorporer à l'industrie des jus, plusieurs critères doivent être présent en considération, tels que la sécurité, les caractéristiques

fonctionnelles et technologiques, la survie et la colonisation chez l'hôte et leurs avantages pour la santé (Shewale *et al.*, 2014).

La sélection appropriée des souches probiotiques est une étape essentielle pour garantir les bénéfices souhaitables pour la santé. Le choix des probiotiques dépend de ces propriétés qui sont propres à chaque souche et ne peuvent pas être extrapolées d'une souche à l'autre même au sein d'une seule espèce. Elle doit répondre aux critères de sécurité, de fonctionnalité, de bonnes propriétés technologiques, et aux bénéfices santé revendiqués (Kareb et Aïder, 2019 ; Terpou *et al.*, 2019).

La figure 1 ci-dessous résume les caractéristiques des souches probiotiques (Butel, 2014)

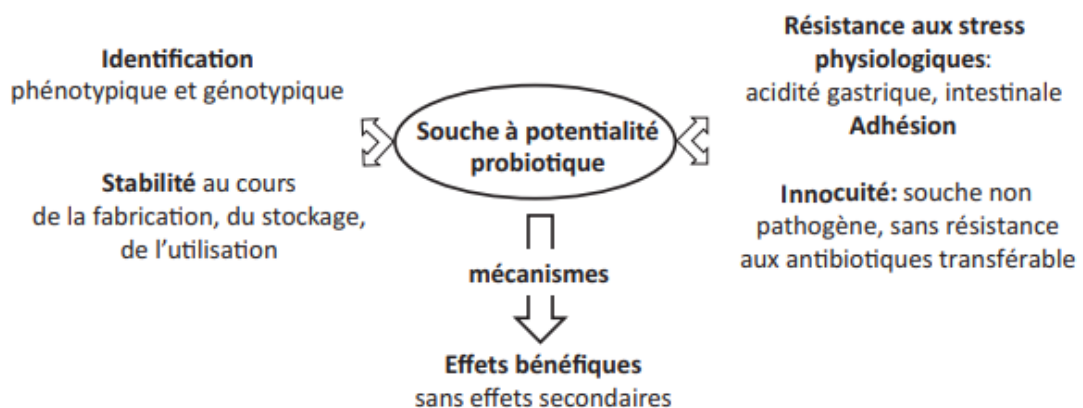


Figure 1 Caractéristique des souches probiotiques (Butel, 2014).

2.6.1 Critères de sécurité

2.6.1.1 Identification de la souche

Avant l'utilisation d'une souche potentiellement probiotique, il est nécessaire de faire la détermination taxonomique. La méthode utilisée pour l'identification d'une souche probiotique est la méthode moléculaire de détermination phénotypique et génotypique (Piquepaille, 2013).

2.6.1.2 Origine

Pour une utilisation sécuritaire des probiotiques, une souche probiotique doit être isolée du tractus intestinal humain, dont le quel elle est capable de résister ses conditions environnementales (Park *et al.*, 2016). Une souche probiotique peut être aussi d'origine animal, végétal ou alimentaire mais le plus sécuritaire dont le quel elle est compatible avec et donne le meilleur rendement est celui humain (Tableau 2) (Piquepaille, 2013).

2.6.1.3 Innocuité

Un point important concernant le choix des souches potentiellement probiotique est l'innocuité des souches, elles doivent présenter une innocuité totale c'est-à-dire, la souche doit être non pathogène ou toxique, ne possède pas une résistance aux antibiotiques transférable (Butel, 2014), des activités métaboliques nocives, production de toxines, potentiel infectieux ou des activités hémolytiques (Tableau 2) (Piquepaille, 2013).

2.6.2 Critères fonctionnels

Un microorganisme probiotique doit présenter des avantages pour être utilisé au tant que probiotique, il doit s'adapter à l'environnement et au conditions de l'hôte c'est à dire qu'il doit survivre dans l'organisme hôte, par exemple, le probiotique doit survivre le passage dans le tractus intestinal et s'établir dans le colon à des nombres suffisamment élevés pour assurer un bénéfice durable (Kim *et al.*, 2019), il doit survivre à la température corporelle élevée (37 °C), changements de pH lors du passage le tractus gastro-intestinal, l'exposition au suc gastrique, les enzymes, l'oxygène, la tension, la bile et les sels pancréatiques (Tableau 2) (Fernandez-Pacheco *et al.*, 2018).

2.6.3 Critères technologiques

Plusieurs critères technologiques doivent être pris en compte lors le choix d'une souche probiotique. La centrifugation, la lyophilisation, l'atomisation et d'autres procédés possèdent un impact nocif pour la survie des microorganismes probiotiques, alors la souche doit être stable au cours des différents procédés de fabrication et dans le produit final. Après avoir un produit final, il nécessaire d'avoir une souche probiotique stable au cours de la conservation, dont laquelle elle préserve ses propriétés probiotiques tout au cours du processus de conservation. En revanche, une souche probiotique doit avoir de bonnes propriétés organoleptiques en termes de gout et économique en point de vue industriel (Tableau 2) (Piquepaille, 2013).

Tableau 2 Critères de sélection des probiotiques (Markowiak et Ślizewska, 2017).

Critères	Propriétés requises
Sécuritaires	<ul style="list-style-type: none"> • D'origine humaine ou animale. • Isolé du tractus gastro-intestinal d'individus en bonne santé. • Historique d'utilisation en toute sécurité. • Identification diagnostique précise (traits de phénotype et de génotype). • Absence de la capacité de couper les sels des acides biliaires. • Aucun effet indésirable.

	<ul style="list-style-type: none">• Absence de gènes responsables de la résistance aux antibiotiques localisés dans des éléments non stables.
Fonctionnelles	<ul style="list-style-type: none">• Compétitivité vis-à-vis du microbiote habitant l'écosystème intestinal.• Capacité à survivre et à maintenir l'activité métabolique et à se développer sur le site cible.• Résistance aux sels biliaires et aux enzymes.• Résistance au faible pH dans l'estomac.• Compétitivité vis-à-vis des espèces microbiennes habitant l'écosystème intestinal (y compris les espèces étroitement apparentées).• Activité antagoniste vis-à-vis des agents pathogènes (par exemple, <i>H. pylori</i>, <i>Salmonella sp</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Clostridium difficile</i>).• Résistance aux bactériocines et aux acides produits par le microbiote intestinal endogène.• Adhésion et capacité à coloniser certains sites particuliers au sein de l'organisme hôte, avec un taux de survie dans le système gastro-intestinal.
Technologiques	<ul style="list-style-type: none">• Production facile de quantités élevées de biomasse et productivité élevée des cultures.• Viabilité et stabilité des propriétés souhaitées des bactéries probiotiques pendant le processus de préparation (congélation, lyophilisation), et de distribution de produits probiotiques.• Taux de survie élevé lors du stockage dans les produits finis (en conditions aérobies et micro-aérophiles).• Garantie des propriétés sensorielles souhaitées des produits finis (dans le cas de l'industrie alimentaire).• Stabilité génétique.• Résistance aux bactériophages.

3.1 Matériel

3.1.1 La souche bactérienne

La souche bactérienne utilisé est une bactérie lactique, *Lactobacillus plantarum* S10 isolé par **Mr. Khennouf T.**

3.1.2 Les fruits de murier

Les fruits du genre *Morus* ont été achetés du marché en mois de mai, ils ont été utilisés le jour même pour la préparation du jus de *Morus alba* fermenté. La figure 1 ci-dessous présente l'échantillon utilisé dans notre étude.



Figure 2 Fruits de *Morus alba* utilisés dans l'étude

3.1.3 Les souches pathogènes

Utilisés pour déterminer l'activité antibactérienne du jus, il s'agit d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

3.1.4 Les milieux de culture

- **Gélose MRS** : pour le dénombrement des bactéries lactiques présentent dans le jus fermenté.
- **Gélose Mueller-Hinton** : pour déterminer l'activité antibactérienne du jus.
- **Bouillon MRS** : pour faire la culture des bactéries lactiques.
- **Bouillon nutritif** : pour faire la culture des bactéries pathogènes.

3.1.5 Appareillage et verreries

Les appareils et les verreries utilisés sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 3 Liste du matériel utilisé

Appareillage	Verrerie
PH mètre (HANNA) ;	Bécher ;
Conductimètre ;	Boîtes de pétri ;
Réfractomètre ;	Burette graduée ;
Agitateur magnétique chauffant (Heidolph MR 3002) ;	Embouts ;
Balance analytique ;	Tubes à essai ;
Balance électronique (Kern EMB 600-2) ;	Erlenmeyer ;
Spectrophotomètre (specord plus) ;	Entonnoir ;
Bain-marie ;	FiOLE jaugée ;
Four à moufle ;	Pipette pasteurs ;
Etuve (Mettler) ;	Pipette graduée et pipeteur ;
Autoclave (Sili AVX electric) ;	Portoire ;
Centrifugeuse électrique (Hettich EBA 20) ;	Creusets ;
Micropipettes de 100-1000µl et de 50-100µl ;	
Bec bunsen ;	
Vortex (VWR) ;	
Réfrigérateur (ENIEM) ;	

3.1.6 Les produits chimiques et réactifs

- NaOH 0,1N et phénolphtaléine (pour la détermination de l'acidité) ;
- Phénol 80% et l'acide sulfurique (pour la détermination des sucres totaux) ;
- Sulfate de cuivre, sulfate de potassium, eau oxygénée 30%, la soude 35%, acide borique et indicateur de Tashiro (pour le dosage de l'azote) ;
- Follin-Ciocalteu, carbonate de sodium (7.5%) (pour la détermination des polyphénols) ;
- Tampon phosphate, ferricyanure de potassium, acide trichloracétique (TCA), chlorure ferrique (pour le dosage du fer) ;
- Chlorure d'aluminium (pour le dosage des flavonoïdes) ;
- Phosphate de sodium, molybdate d'ammonium (pour la détermination du TAC) ;

- DPPH (pour la détermination du DPPH) ;
- KCl (0.5M), KH₂PO₄(0.5M), NaHCO₃(1M), NaCl (2M), MgCl₂(H₂O)₆(0.15M), NH₄(CO₃)₂ (0.5M), HCl(6M) (pour la préparation des liquides : salivaire, gastrique et intestinal) ;
- A-amylase, pepsine, pancréatine, CaCl₂, HCl (1M), NaOH (1M), sels biliaires (pour la digestion) ;
- Acide ascorbique, Trolox, glucose (pour réaliser les courbes d'étalonnage)

3.2 Méthodes

3.2.1 Revivification de la souche

La souche de *L. plantarum* a été conservé préalablement à -20°C dans le bouillon MRS a été revivifié dans le bouillon MRS par ensemencement et incubé à 37°C pendant 18 à 24h ([Chen et al., 2019](#)).

3.2.2 Fabrication du jus de *Morus alba* et fermentation

3.2.2.1 Préparation du jus

Le jus du murier a été préparé selon la méthode suivante : 3kg du murier blanc ont été achetés du marché et bien lavés et misent dans un bol contenant de l'eau tiède pendant 3min pour inhiber les réactions enzymatiques, cette étape est dite le blanchiment. Ensuite le fruit est broyé et mixé puis filtré et mis dans des flacons bien fermés, ces flacons ont été tyndallisés dans un bain marie 3 fois et conservés dans le réfrigérateur.

3.2.2.2 Préparation du jus fermenté

80% du jus préparé a été fermenté par l'ensemencement de 3% d'une souche de *Lactobacillus plantarum* ensuite la fermentation a été faite à 37°C pendant 24h puis le jus fermenté est conservé à 4°C durant 25jours.

La figure 3 ci-dessous résume le processus complet de la préparation du jus fermenté.

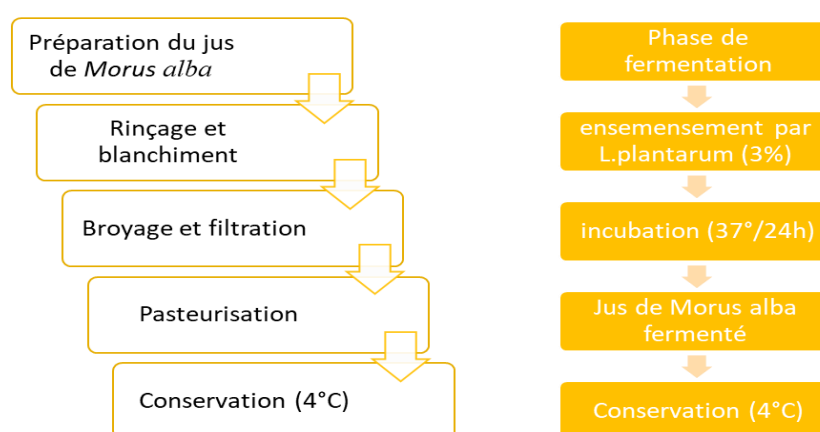


Figure 3 Schéma de la préparation du jus de *Morus alba* fermenté.

3.2.3 Contrôle des paramètres morphologiques

3.2.3.1 Rapport longueur/largeur

Les dimensions du fruit ont été mesurés à l'aide d'un ruban à mesure, permet de déterminer le rapport suivant (Tanilgan *et al.*, 2007).

$$\text{Rapport longueur/largeur} = \frac{\text{longueur de murier (cm)}}{\text{largeur du murier (cm)}}$$

3.2.3.2 Rapport pulpe/murier entier

Le poids du fruit entier a été mesuré à l'aide d'une balance ainsi que le poids de la pulpe après l'extraction du jus, ensuite le rapport suivant est déterminé (Balla et Baragé, 2008).

$$\text{Rapport pulpe/murier entier} = \frac{\text{poids de la pulpe (g)}}{\text{poids du murier entier (g)}}$$

3.2.3.3 Détermination du rendement du jus

Le rendement en jus est la quantité de jus extraite après pressage par rapport à la masse initiale du produit. Il est calculé en utilisant la formule suivante (Adjou *et al.*, 2013).

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de jus obtenue (g)}}{\text{Masse de fruit traitée (g)}} \times 100$$

3.2.4 Analyse physicochimique

3.2.4.1 Mesure du pH

La détermination du pH est l'un des paramètres les plus influents sur la qualité et la durée de conservation d'un jus de fruit. Pour chaque échantillon, le pH a été mesuré en trempant l'électrode du pH mètre préalablement calibré à pH7, dans un bécher contenant 10ml de l'échantillon, les lectures ont été prises après chaque mesure (William, 2000).

3.2.4.2 Détermination de l'acidité titrable totale

L'acidité titrable exprimée en teneur d'acide citrique par unité de volume a été déterminée par titration à l'aide du NaOH (0,1N) en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré (Dedehou *et al.*, 2015). Trois gouttes de phénophtaléine ont été ajoutées aux 10ml du jus dans un bécher, La solution de NaOH (0,1 N) est mise dans une burette de Mohr et on commence à la verser lentement avec agitation continuée jusqu'à la couleur du jus deviennent rose persistant (Handaji *et al.*, 2013).

L'acidité est exprimée en grammes d'acide citrique par litre de jus (Feldsine *et al.*, 2002).

$$\text{Acidité (\%)} = \frac{n.v.M}{v'.P} \times 100$$

Où:

- n : normalité de la solution d'hydroxyde de sodium (0,1N).

- v : volume de la solution d'hydroxyde de sodium (0,1N).
- M : masse moléculaire de l'acide citrique (192,13g).
- v' : volume de jus (ml).
- P : nombre de protons portés par l'acide citrique (3).

3.2.4.3 La conductivité électrique

La conductivité électrique du jus est déterminée selon la méthode de (Zou et Jiang, 2016). L'électrode du conductimètre est plongée dans un bécher contenant 30 ml du jus, la lecture s'est faite directement sur l'afficheur du conductimètre à 23°C.

3.2.4.4 Taux des solides solubles

Sert à mesurer la fraction du saccharose dans un liquide en degrés Brix (°B) autrement dit le pourcentage en matière sèche soluble. Il est déterminé directement à l'aide d'un réfractomètre, une goutte du jus de fruit a été déposé sur ce dernier préalablement nettoyé et séché avec de l'eau distillé (Metlef *et al.*, 2022).

3.2.4.5 Détermination de la matière organique et cendres

2g de l'échantillon ont été pesés dans un creuset en porcelaine et placés dans un four à moufle pendant 5h à une température de 550° jusqu'à l'obtention des centres blanchâtres (Foughalia *et al.*, 2020).

La matière organique est calculée selon la formule suivante:

$$\text{MO (\%)} = \frac{(M1-M2)}{P} \times 100$$

Avec:

- MO : Matière organique (g).
- 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 : **Cendre (%) = 100 – MO %**

3.2.5 Teneur en sucres totaux

Le dosage des sucres totaux a été déterminé d'après la méthode de (Dubois *et al.*, 1951) en utilisant le phénol et l'acide sulfurique, 800µL du jus a été mis dans un tube à essai avec 40µL de phénol 80% ; 2mL de l'acide sulfurique ont été 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

dans la glace avant l'incubation à 30 °C pendant 10min. L'absorbance a été mesurée à 490 nm et la teneur en sucres totaux de chaque échantillon a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage de glucose.

3.2.6 Teneur en protéines

Pour déterminer la teneur en protéines dans le jus de *M.alba*, nous avons procédé à un dosage de l'azote. Les étapes sont les suivantes (Islam *et al.*, 2015) :

3.2.6.1 Minéralisation

Dans un ballon de l'appareil Kjeldahl de 500 ml, introduit 2g de jus de *M. alba* avec 2g de catalyseur (mélange de 20g de sulfate de cuivre et sulfate de potassium), 15 ml de H₂SO₄ 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 transpose l'échantillon minéralisé dans une fiole, on lave le ballon avec l'eau distillée tout en ajustant le volume jusqu'à 100 ml.

3.2.6.2 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.

L'azote total est calculé par la formule suivante :

$$\text{Azote total (N) (\%)} = (\text{VB} - \text{VE}) \cdot \frac{0.0014 \cdot 10 \cdot 100}{M}$$

Avec :

- **VB** : Volume d'H₂SO₄ 0.1N utilisé pour un essai blanc.
- **VE** : Volume de H₂SO₄ 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

$$\text{Taux de protéines brutes (\%)} = \text{N total (\%)} \times 6.25$$

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

3.2.7 Détermination des composés phytochimiques

La détermination des composés phytochimiques a été réalisée pour le jus non fermenté, le jus fermenté et le jus fermenté lors la digestion in vitro.

3.2.8 Détermination des polyphénols

3.2.8.1 Dosage des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu

Les composés phénoliques sont des métabolites qui s'accumulent chez les végétaux en réponse à un stress ([Amiot-Carlin et Georgé, 2017](#)).

Les teneurs en polyphénols ont été estimés par la méthode de Folin-Ciocalteu, décrite par ([Kumar et al., 2012](#)), donc la base de ce dosage est le réactif de Folin Ciocalteu qui contient un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybrique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène ([Boizot et Charpentier, 2006](#)).

500 µL d'extrait de jus surnageant a été mélangé avec 2,5 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, laisser le mélange à l'obscurité 2 min. Ensuite 2 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (75g /L) ont été ajoutés dans chaque tube, le mélange obtenu a été incubé pendant 15min à 50°.

L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm. Un témoin a été préparé en remplaçant l'extrait par le même volume de solvant de l'extraction (méthanol) et la teneur en composés phénoliques de chaque échantillon a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique ([Kumar et al., 2012](#)).

3.2.8.2 Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances phénoliques isolées d'un large éventail de plantes vasculaires. Il a été reconnu que les flavonoïdes montraient activité antioxydante, leurs effets sur la nutrition et la santé humaines sont crucial ([Bey et Louaileche, 2015](#)).

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

Un volume d'un ml de chaque extrait a été additionné d'un ml de chlorure d'aluminium à 2% (préparé dans le méthanol). Le mélange a été incubé pendant 10 minutes à l'obscurité et à température ambiante puis l'absorbance a été mesurée à 430nm. Les résultats ont été exprimés en µg équivalent de quercétine. Ces concentrations sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec de la quercétine préparée dans le méthanol ([Ali-Rachedi et al., 2018](#)).

3.2.9 Tests des activités antioxydantes

Les tests de l'activités antioxydantes ont été réalisés pour le jus non fermenté, le jus fermenté, lors la digestion *in vitro* du jus fermenté et pour la souche de *L. plantarum* et son surnageant.

3.2.9.1 La capacité antioxydant totale (TAC)

0,3 ml de jus a été mélangé avec 3 ml de solution du ces réactifs : 0,6 M acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium. Ensuite, les tubes ont été visé puis incubés à 95°C pendant 90 min. L'absorbance des solutions a été mesuré à 695 après refroidissement contre un blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0,3 ml du méthanol et incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon (Prieto *et al.*, 1999).

La capacité antioxydante totale est exprimé en milligramme d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA / g Ms).

3.2.9.2 Piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'activité anti-radicalaire des échantillons a été déterminée en utilisant la méthode décrite par (Yan *et al.*, 2020). 1ml de l'échantillon (jus) a été mélangé avec 1ml de solution éthanolique des radicaux DPPH (4%) et incubée à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 min avant de mesurer leur absorbance à 517 nm. Le témoin contenant le 1ml de DPPH avec 1ml de l'éthanol (l'éthanol à la place d'échantillon).

La capacité de piégeage des radicaux de l'échantillon a été calculée comme suit :

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

✓ A= absorbance

3.2.9.3 Réduction du fer (FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le pouvoir antioxydant réducteur ferrique a été évalué selon le protocole décrit par (Bentabet *et al.*, 2014). 1ml de jus a été mélangé avec 2.5ml de la solution tampon phosphate (0.2M, pH 6.6) et 2.5ml de Ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1%. Le mélange a été incubé à 50°C pendant 30min au bain Marie ; 2.5ml de l'acide trichloracétique ($C_2HCl_3O_2$) à 10% a été ajouté pour stopper la réaction. Le tout a été centrifugé à 3000 rpm/10 min. Puis, 2.5ml du surnageant a été mélangé avec 2.5ml de l'eau distillée et 0.5ml de chlorure ferrique ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) à 0.1%. L'absorbance a été mesurée à 700nm conte un blanc qui contient les mêmes réactifs en remplaçant le jus par le méthanol.

L'expression des résultats est définie en suivant une courbe d'étalonnage préparée avec l'acide ascorbique qui est utilisé comme contrôle positif. L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de fer.

3.2.10 Test de l'activité antibactérienne

Pour déterminer les propriétés antibactériennes du jus de *Morus alba* on utilise la technique de la diffusion sur gélose. Une suspension cellulaire d'une culture de 24 h des souches pathogènes cultivée dans le bouillon nutritif a été étalée à l'aide d'un épandeur stérile en surface de de gélose Mueller Hinton déjà coulée dans des boîtes de Pétri. Avec un foreur de puits stérile de diamètre 5 mm des puits ont été découpé uniformément dans la gélose. Chaque puits a été rempli avec 100µl de jus de *M. alba*. Après incubation à 37°C pendant 24 h, les zones d'inhibition ont été détectées autour des puits. La présence d'un effet antimicrobienne est significative lorsque la zone d'inhibition est supérieure à 1mm (Kumar *et al.*, 2015).

3.2.11 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 10¹⁰ ainsi un volume de 1 ml ensemercer en masse sur milieu MRS suivi d'une incubation pendant 48h à 37°C.

3.3 Effet de la digestion bucco- gastro- intestinale sur la viabilité de *L. plantarum in vitro*

3.3.1 Préparation des solutions mères des liquides simulés de la digestion

Cette étape consiste à préparer des solutions simulées à celles de la digestion (solution équivalente au liquide salivaire, liquide gastrique et solution du liquide intestinal). La composition des liquides est mentionnée dans le tableau 1. Les solutions préparées ont été autoclavées à 120°C pendant 15 min.

Tableau 4 Composition des solutions stimulées de la digestion (Minekus *et al.*, 2014)

	Solution mère ajoutée pour préparer 250ml (LS)	Solution mère ajoutée pour préparer 250ml (LG)	Solution mère ajoutée pour préparer 250ml (LI)
KCl (0.5M)	7.55mL	3.45mL	3.4mL
KH₂PO₄(0.5M)	1.85mL	0.45mL	0.4mL
NaHCO₃(1M)	3.4mL	6.25mL	21.25mL
NaCl (2M)	/	5.9mL	4.8mL
MgCl₂(H₂O)₆(0.15M)	0.25mL	0.2mL	0.55mL
NH₄(CO₃)₂ (0.5M)	0.03mL	0.25mL	/
HCl (6M)	0.045mL	0.65mL	0.7mL

LS : liquide salivaire ; LG : liquide gastrique ; LI : liquide intestinal

3.3.2 Protocole expérimental de la digestion bucco -gastro-intestinale *in vitro*

Le protocole de la digestion est mentionné dans la figure 3 ci-dessous. Le but de la digestion est de tester ce qui suit :

- La survie et la viabilité de la souche *L. plantarum* S10 seule ;
- L'effet de jus de *M. alba* comme véhicule probiotique sur la survie et la viabilité de la même souche ;
- Effet sur l'activité antioxydante de la souche seule ;
- Effet de la combinaison de jus mixte avec la bactérie sur l'activité antioxydante ;
- Bio-disponibilité des composés phénoliques de jus mixte dans les mêmes conditions de digestion.

Le protocole de la digestion est fait en se référant à celui décrit par (Minekus *et al.*, 2014) :

Phase orale : 15ml du jus fermenté a été mélangé avec 10,5ml du liquide salivaire, 1,5ml de l'enzyme α -amylase, 75 μ l de CaCl₂ et 2,925ml de l'eau distillée, puis incubé à 37°C/2min dans l'agitateur incubateur.

Phase gastrique : 15ml de la phase orale a été mélangé avec 11,25ml du liquide gastrique, 2,4ml du pepsine, 7,5 μ l CaCl₂, 0,3ml du HCl (1M) et 1,041ml de l'eau distillée, le mélange est incubé à 37°C/2h dans l'agitateur incubateur.

Phase intestinale : 15ml de la phase gastrique a été mélangé avec 8,25ml du liquide intestinal, 5,25ml du pancréatine, 1,875ml des sels biliaires, 30 μ l CaCl₂, 0,112ml NaOH (1M) et 0,982 de l'eau distillée, puis incubé à 37°C/2h dans l'agitateur incubateur (Figure 4).

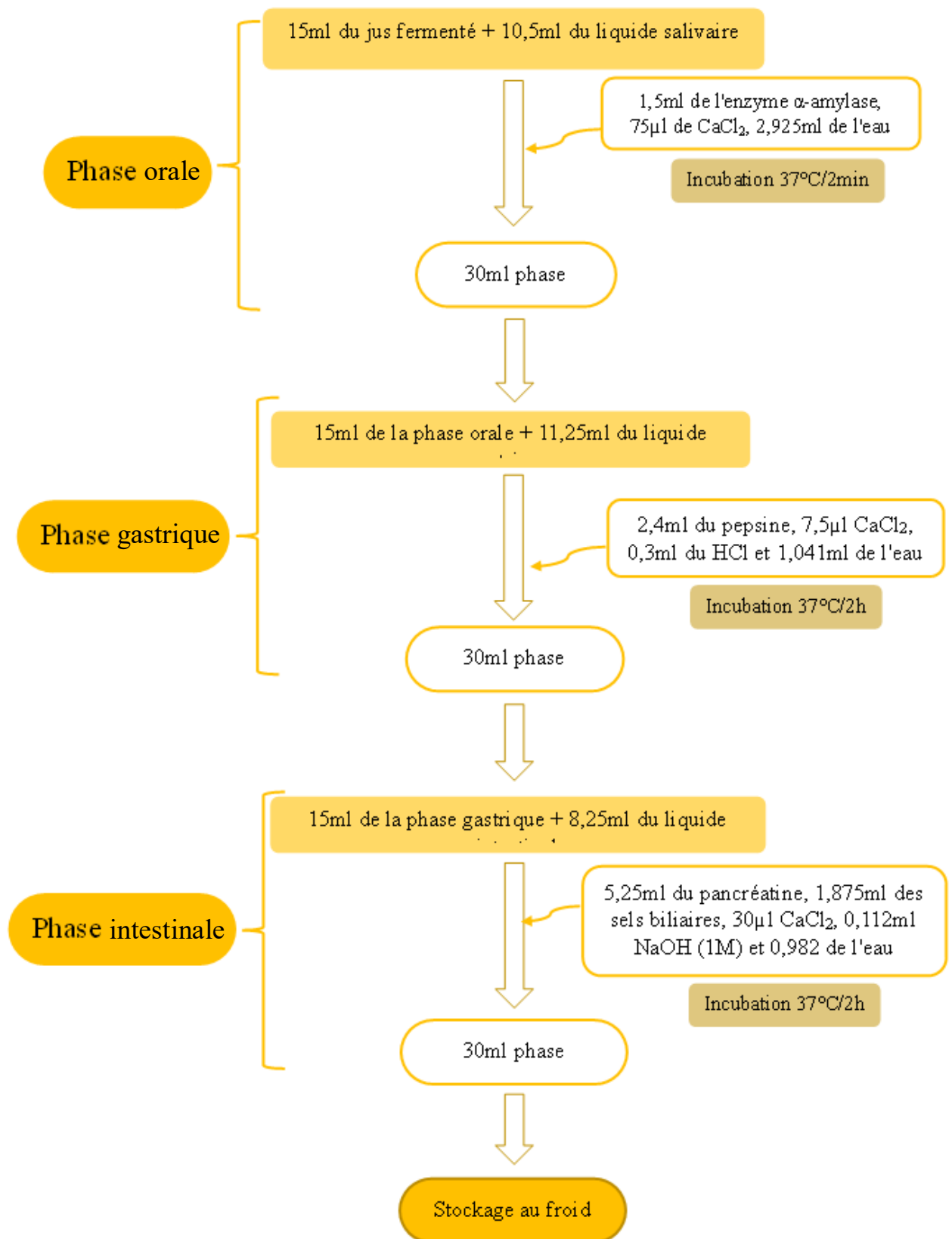


Figure 4 Schéma de la digestion bucco-gastro-intestinale in vitro (Minekus *et al.*, 2014).

4.1 Contrôle des paramètres morphologiques

La morphologie et la fermeté du fruit est un paramètre important au point de vue de la qualité du produit final et pour la commercialisation (Jaiswal *et al.*, 2015). Le tableau 5 résume les rapports : longueur/largeur, pulpe/murier entier et le rendement du jus.

Tableau 5 Paramètres morphologiques de *M. alba*.

Paramètre	Résultats
Longueur (cm)/largeur (cm)	1,833 ± 0,288
Pulpe/murier entier	0,2 ± 0
Rendement du jus (%)	76,66%

Le rapport longueur/largeur du fruits de *M. alba* était d'une valeur de 1.833±0.288, l'analyse statistique effectué entre la longueur et la largeur du fruit était non significative ($P>0.05$). Notre résultat est proche de celui de (Aljane *et al.*, 2016), qui ont trouvé la valeur de $1,56 \pm 0.14$. D'une autre part le rapport pulpe/murier entier était $0,2 \pm 0$, le rendement du jus était 76,66%, il est supérieur à celui de l'étude du jus réalisée par (Wilczyński *et al.*, 2019), où ils ont trouvés un rendement varie entre 61,9% et 71,6%. Le rendement d'un jus diffère par le type du fruit et la méthode de broyage et pressage comme il est montré par Adubofuor *et al.*, (2016), où ils ont trouvé une différence entre le rendement du jus de citrouille (88.62%) et de jus de l'ananas (83.17%).

4.2 Evolution des paramètres physicochimiques du jus de *M. alba* au cours de la fermentation et la conservation à 4°C

4.2.1 Détermination du pH et de l'acidité

Le pH est un paramètre important qui permet de conférer une bonne qualité organoleptique avec une stabilisation de la qualité des produits alimentaires, cela est due à la diminution du pH qui permet d'éliminer une grande quantité des carbohydrates pour produire des acides organiques et augmente l'acidité du produit. En effet, cette production importante d'acidité permet d'inhiber les germes pathogènes et conduit à une amélioration de la qualité hygiénique et organoleptique du produit fini et permet de renforcer les effets probiotiques dans le corps humain (Rokni *et al.*, 2015 ; Chen *et al.*, 2019).

La figure 5 montre les résultats du pH et de l'acidité avant la fermentation et au cours la conservation du jus fermenté.

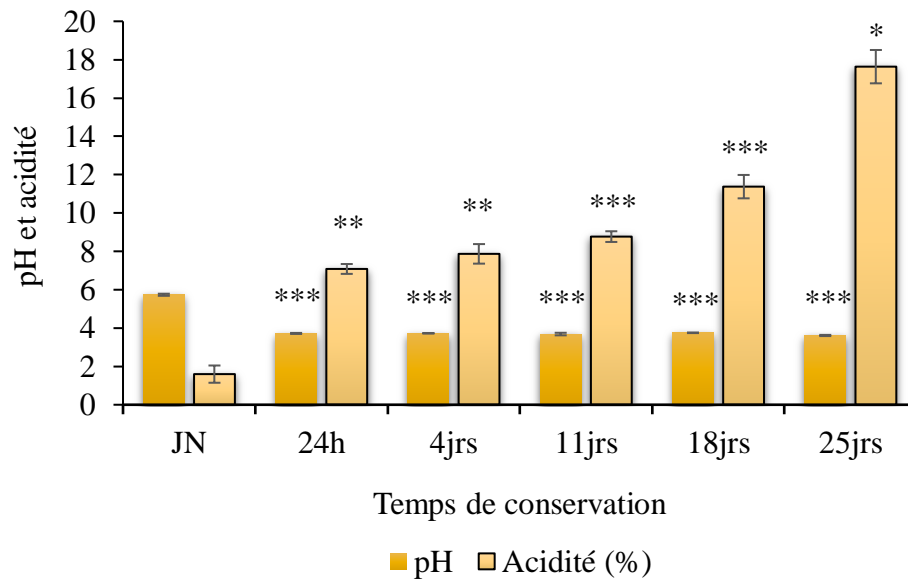


Figure 5 Valeurs moyennes du pH et acidité.

Le pH du JN était à 5.736 ± 0.055 , il diminue à T_{24h} et au cours la conservation du JL de 3.72 ± 0.026 jusqu'à 3.613 ± 0.03 . La différence entre le JN et le JL en fonction du temps est hautement significative ($P < 0.001$). Cet abaissement est expliqué par l'activité métabolique persistante des bactéries lactiques pour produire de l'acide lactique consommation des sucres présents dans le milieu (figure 5) ([AbdulAlim et al., 2018](#)). Nos résultats sont dans la fourchette des valeurs appropriés par [AbdulAlim et al., \(2018\)](#) et [Kwaw et al., \(2018a\)](#), qui étaient dans la plage de 3,55 et 3,7.

L'acidité titrable évolue dans le sens inverse du pH, les résultats obtenues dans la figure 5 montrent une augmentation progressive de l'acidité commence de $1,597 \pm 0,45$ dans le JN jusqu'à atteindre à T_{25jrs} de la conservation la valeur $17,635 \pm 0,869$. Cette augmentation de l'acidité entre le JN et T_{25jrs} était significative ($P < 0,05$), très significative ($P < 0,01$) entre le JN et T_{24h} , T_{4jrs} de conservation, et hautement significative ($P < 0,001$) entre JN et T_{11jrs} , T_{18jrs} .

[Zhang et al., \(2021\)](#) démontre que acidité totale contenue dans le jus fermenté de myrtille augmente avec le temps de stockage jusqu'à 9% après 28 jours de conservation au froid. Cette évolution est due à la fermentation des sucres en acide organique par les bactéries lactiques ([Rokni et al., 2015](#)).

4.2.2 Conductivité

La détermination de la conductivité permet d'avoir un aperçu de taux de minéraux et d'ions dans un jus ou une boisson ([Kouassi et al., 2017](#)). La mesure de la conductivité électrique des échantillons du JN et JL est illustrée dans la figure 6.

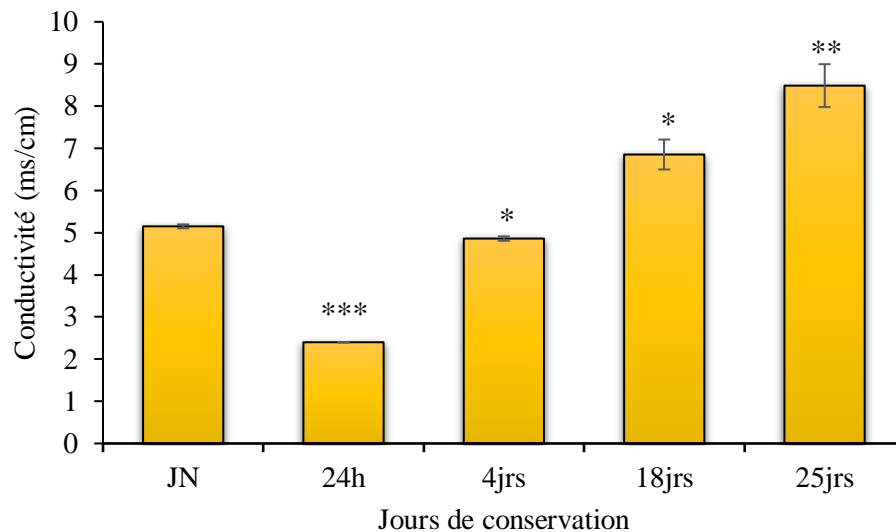


Figure 6 Valeurs moyennes de la conductivité.

Généralement, les produits liquides sont électriquement conducteurs en raison de la présence de nutriments, tels que les minéraux, les vitamines et les protéines. Dans l'étude présente, le JN présente une bonne conductivité avec $5,15 \pm 0,045$, après 24h de fermentation elle se diminue jusqu'à $2,4 \pm 0,006$ et augmente progressivement par la suite pour atteindre $8,486 \pm 0,508$. Cette différence est hautement significative entre le JN et le JL à T_{24h} , significative entre le JN et le JF à T_{4jrs} et T_{18jrs} et très significatif entre le JN et T_{25jrs} . La diminution de la conductivité peut être expliquée par la neutralisation des minéraux et des ions par les bactéries lactiques, en revanche, l'augmentation de cette dernière est liée par la mortalité des bactéries lactiques qui produisent des molécules neutralisantes au cours de la conservation du produit.

Nos résultats sont un peu proches à celle du [Bákonyi et al., \(2020\)](#), ils trouvent que la conductivité électrique dans le JL de la luzerne était inférieure au JN par 25,2 %.

Une autre étude menée par [Loo-Miranda et al., \(2020\)](#) a montré une augmentation de la conductivité électrique en fonction du temps pour le lixiviat de cacao fermenté et la différence entre les résultats était significative ($P < 0.05$).

4.2.3 Taux de solides solubles (degré Brix)

Le taux de solides solubles représente le comportement en matière sèche soluble, y compris les sucres en degré Brix, plus les sucres sont importants, plus le degré Brix sera important ([Metlef et al., 2022](#)).

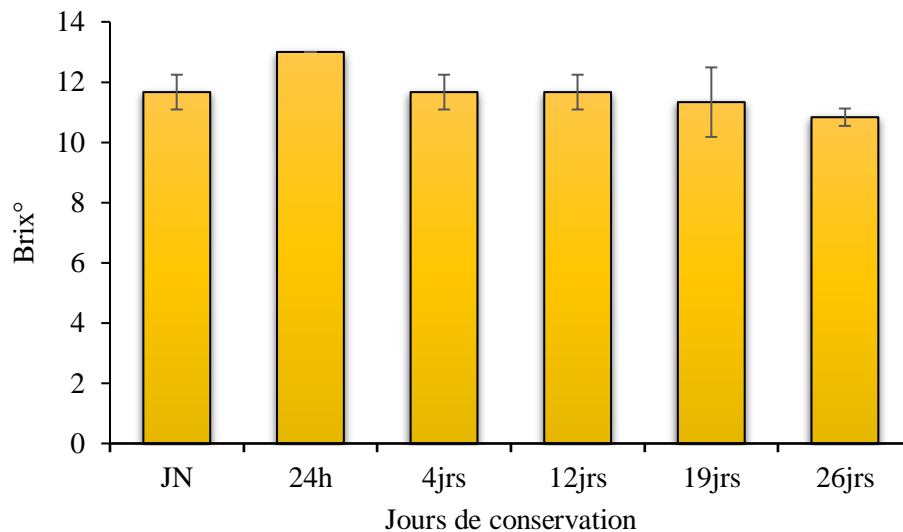


Figure 7 Taux de solides soluble (Brix°) des jus.

Avant la fermentation, le degré Brix était d'une valeur de $11,666 \pm 0,577$, après 24h de fermentation il augmente jusqu'à 13 ± 0 et diminue progressivement jusqu'à $10,833 \pm 0,288$ à T_{25jrs}. Ce changement des valeurs entre le JN et le JL au cours de la fermentation est non significatif ($P > 0.05$). L'augmentation des solides solubles est liée à un plus grand degré de dégradation des tissus, libérant plus de composés tels que les sucres, qui contribuent aux solides solubles (Nguyen et Nguyen, 2018). D'autre part, la diminution de ce dernier est expliquée par la consommation de la souche des sucres dans leur métabolisme pour le développement et la survie, en conséquent, le degré Brix diminue (Kwaw *et al.*, 2018b).

Nos résultats sont loin des résultats de l'étude du jus fermenté de sohiong menée par Vivek *et al.*, (2019), où ils ont montré une diminution progressive des solides solubles avec l'augmentation du temps de fermentation, les valeurs étaient dans l'intervalle de $15,107 \pm 0,006$ jusqu'à $14,293 \pm 0,005$.

4.2.4 Matière organique et cendres

Le taux en cendre représente la valeur totale en sels minéraux d'un produit, elle désigne la partie inorganique d'un échantillon alimentaire restant après faire brûlée à 550° pendant 5h.

Les résultats des cendres et de la matière organique sont exprimés dans la figure 8.

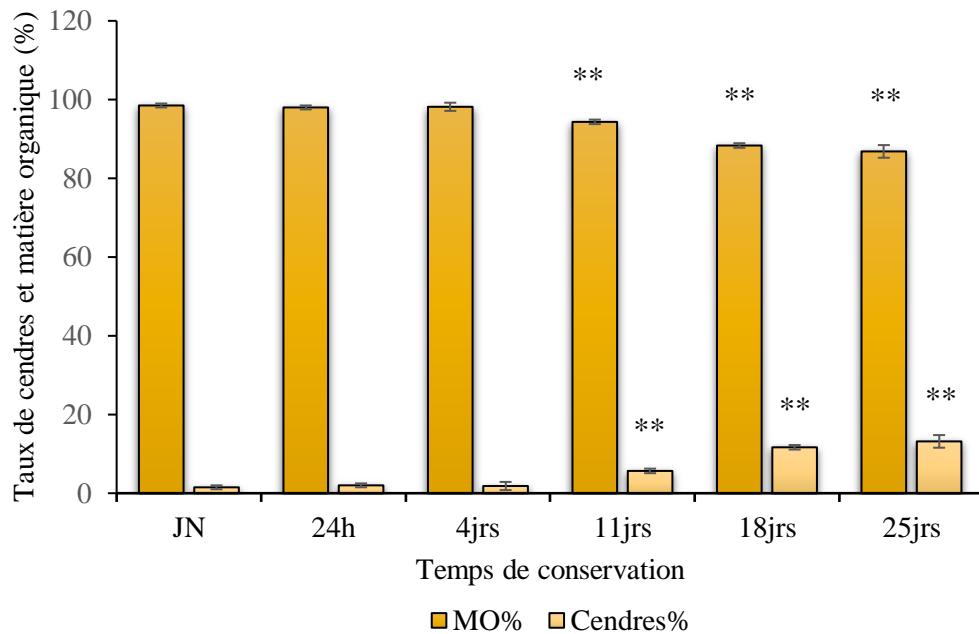


Figure 8 Matière organique et taux de cendres.

Dans une étude menée par [Mahesh et al., \(2017\)](#), la teneur en matière organique du fruit de murier (*Morus spp.*) était 77.33 - 86.67%, leurs valeurs sont proches de notre.

Cependant, le taux de cendres a augmenté de $1,5 \pm 0,5$ dans le JN jusqu'à $13,166 \pm 1,607$ à T_{25jrs}. Les résultats obtenus concernant le taux de cendres sont beaucoup supérieurs à celui de [Ani et Abel, \(2018\)](#) dans un jus de *Citrus maxima* avec une valeur de $0,73 \pm 0,06$. La teneur en minéraux n'est pas affectée par la fermentation à moins que certains sels soient ajoutés au produit lors de la fermentation ou par lessivage, lorsque la partie liquide est séparée de l'aliment fermenté. Parfois, lorsque la fermentation est réalisée dans des conteneurs en verre, des minéraux sont solubilisés par le produit fermenté, ce qui peut provoquer une augmentation de la teneur en minéraux ([Fofana et al., 2017](#)).

La diminution de la matière organique par rapport au matière sèche est non significative ($P > 0.05$) entre le JN et le JL à T_{24h} et T_{4jrs}, et très significative ($P < 0.01$) entre le JN et le JL à T_{11jrs}, T_{18jrs} et T_{25jrs}. La même chose pour les cendres.

4.2.5 Teneur en sucre totaux

La détermination de la teneur en sucres totaux a été réalisée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de glucose. Les résultats de la teneur sont montrés dans la figure 9.

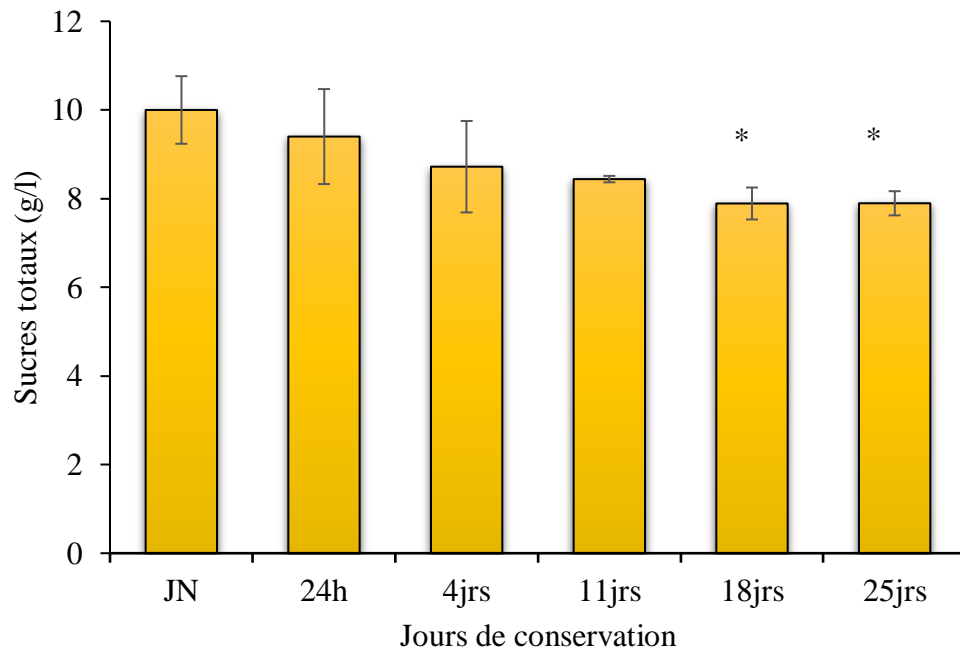


Figure 9 Teneur de jus en sucres totaux.

La teneur en sucre initial dans le JN était $10 \pm 0,762$ g/l avant sa consommation par la souche, la diminution progressive avec le temps de conservation jusqu'à atteindre $7,895 \pm 0,272$ à T_{25jrs} cela montre une variation non significative ($P > 0.05$) entre le JN, à T_{24h} , T_{4jrs} et T_{11jrs} , et significative ($P < 0.05$) entre le JN, T_{18jrs} et T_{25jrs} .

Pendant la fermentation, la population des bactéries probiotiques utilise les sucres présent dans le jus comme source de carbone pour son développement et sa survie dans le milieu ([Lebaka et al., 2018](#)).

Nos résultats sont supérieurs à celles de [Sharma et Mishra, \(2013\)](#), qui ont mené une étude impliquant la fermentation de jus de légumes, ils ont trouvé une diminution dans le total des sucres dans le jus fermenté d'une valeur de $2,18 \pm 0,21$ à T_0 jusqu'à $1,72 \pm 0,15$ à T_{72h} . Dans une autre étude sur le jus fermenté de la pêche réalisé par [Pakbin et al., \(2014\)](#) a montré une diminution des sucres totaux durant la durée de conservation, les résultats sont supérieurs à les notre.

4.2.6 Teneur en protéines

Les protéines représentent entre 10 à 20% de l'apport énergétique des régimes alimentaires, ils sont indispensables comme composant de l'alimentation dont le rôle nutritionnel est de fournir des acides aminés, de l'azote et de l'énergie. Les jus des fruits sont des sources pauvres en protéines ([Tomé, 2008](#) ; [George et Moiloa, 2015](#)).

La figure 10 représente la teneur en protéine de JN et JL pendant la conservation.

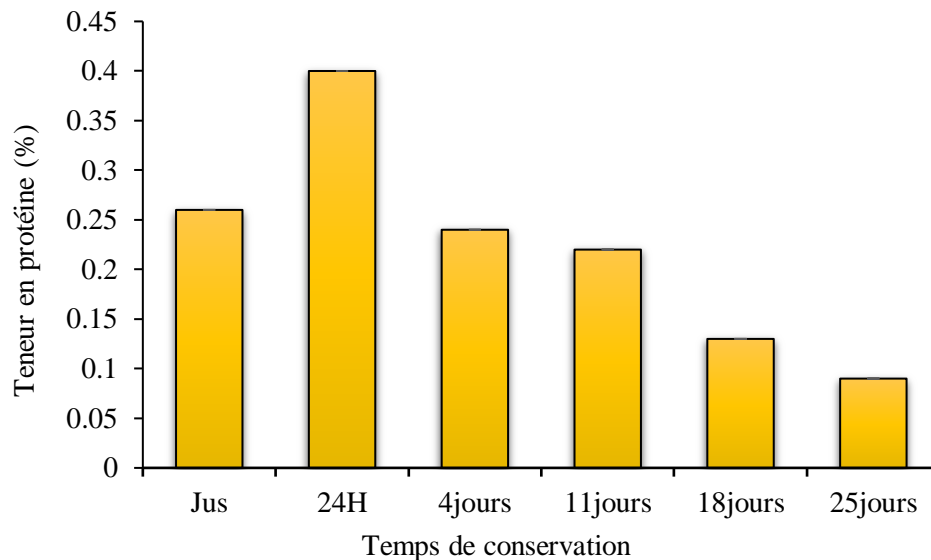


Figure 10 Teneur en protéines.

La teneur en protéine de JL est 0,4%, était plus élevée que celle du JN 0,26%. Cette valeur a diminué pendant la conservation jusqu'à 0,09% à T₂₅. Nos résultats étaient très faibles par rapport à celles de [Sánchez-Salcedo et al., \(2015\)](#), qui ont trouvés des valeurs comprises entre 8,9% et 13,33%.

La cause de l'augmentation de la teneur en protéines après fermentation peut être due à l'activité des microorganismes probiotiques et de leurs métabolites ([Rafiq et al., 2016](#) ; [Panghai et al., 2017](#)).

Selon [Juillard et al., \(1996\)](#) la diminution de la teneur en protéine dans le JL pendant la conservation est due à la dégradation de ces protéines par *L. plantarum* pour les utiliser comme source d'azote.

4.3 Caractéristiques phytochimiques de jus

4.3.1 Polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires trouvés dans les régimes à base de plantes, y compris les fruits, les légumes, les céréales et des boissons telles que le vin rouge, le café, le cacao et le thé. Ils sont divisés en cinq sous-groupes, y compris les flavonoïdes, les acides phénoliques, les stilbènes et « autres » polyphénols. Les recherches approfondies ont démontré systématiquement les effets antioxydants et anti-inflammatoires de ces composés au niveau cellulaire et tissulaire ([Gao et al., 2021](#)). De nombreuses études ont révélé la forte activité des polyphénols sur les radicaux libres, la forte activité antioxydante résulte de la stabilisation de la résonance du radical polyphénolique obtenu après les processus d'oxydation ainsi que de la capacité des antioxydants à chélater les métaux de transition ([Wojtunik-Kulesza et al., 2020](#)).

La figure 11 montre les résultats du polyphénol avant la fermentation et au cours la conservation du jus fermenté.

Les valeurs des concentrations en polyphénols dans notre jus sont exprimées en μg d'équivalent d'acide gallique par litre.

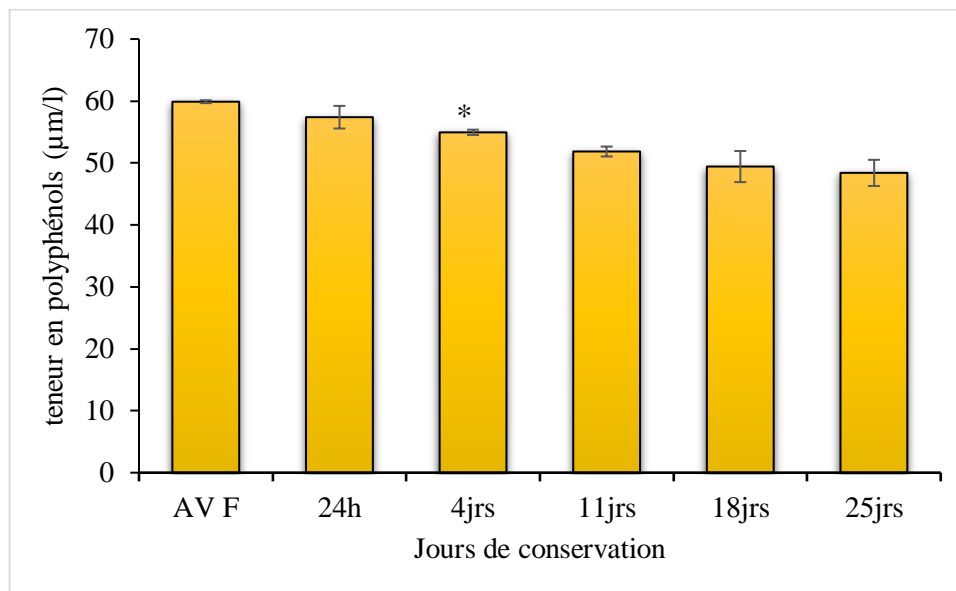


Figure 11 Teneur en polyphénols durant la conservation.

Les résultats montrent que la différence entre les moyennes des teneurs en polyphénols entre JN et celle de JL au cours de la conservation était hétérogène du fait la différence des teneurs en polyphénols entre le JN et T_{24h} , T_{11jrs} , T_{18jrs} , et T_{25jrs} de conservation était non significative ($P > 0.05$) et significative ($P < 0.05$) entre JN et T_{4jrs} . Ces teneurs diminuent progressivement pour le JN ($59,88 \pm 0,231$) et au cours de la conservation de JL du fait dans T_{24h} on était $57,38 \pm 1,827$ et $48,39 \pm 2,11$ dans T_{25jrs} de conservation.

Cet abaissement peut être expliqué par la dégradation de certains composés phénoliques thermolabiles selon [Malik et al., \(2019\)](#).

Nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par [Li et al., \(2021\)](#) qui ont obtenu une teneur totale en composés phénoliques des jus de myrtille avant la fermentation était de $866,15 \pm 19,23$ mg/l. Également nous pouvons expliquer cet abaissement à cause de temps de fermentation prolongé, le total la teneur en polyphénols pourrait subir une baisse sur l'ensemble du processus ([Nhan et al., 2020](#)). Les mêmes résultats sont observés par [Vivek et al., \(2019\)](#), sur un jus fermenté de Sohiong.

L'étude de changement des teneurs en polyphénols dans la digestion bucco-gastrointestinale *in vitro* est effectuée dans 4 périodes différentes de conservation pour JN et JL.

- Digestion à 4 jours : la figure 9 montre les valeurs des polyphénols du JN et JL après chaque phase de digestion du jus après 4 jours de conservation.

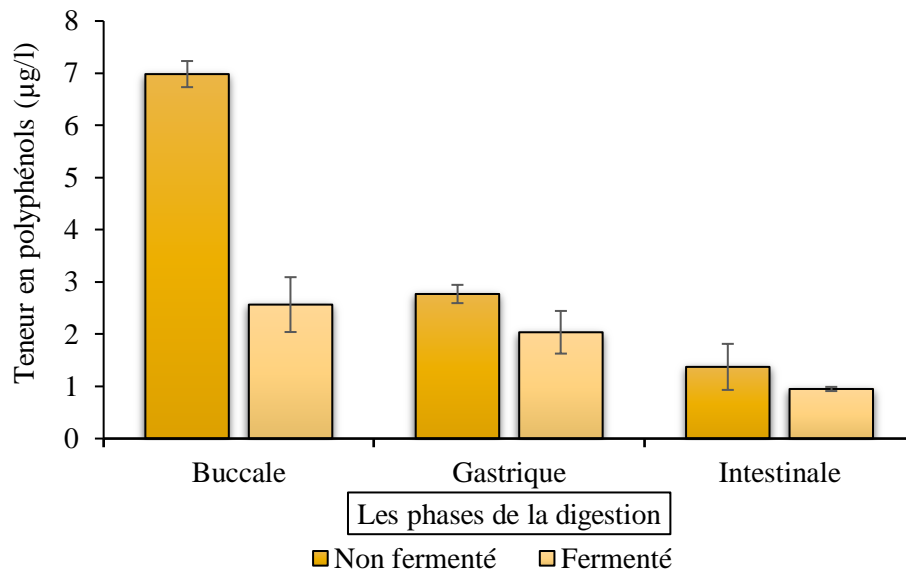


Figure 12 Teneur en polyphénols de la première digestion.

Les résultats montrent une diminution progressive dans les teneurs en polyphénols entre JN et celle de JL au cours de la digestion à partir de la phase buccale jusqu'à la phase intestinale.

Dans le JN, dans la phase buccale elle était $6,98 \pm 0,250$, dans la phase gastrique $2,77 \pm 0,175$ et la phase intestinal $1,37 \pm 0,44$, alors que dans le JL, la phase buccale $2,56 \pm 0,525$, dans la phase gastrique $2,03 \pm 0,408$ et la phase intestinale avec une valeur de $0,95 \pm 0,04$. Cette diminution est non Significative ($P > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} , G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} .

- Digestion à 11 jours : la figure 13 montre les valeurs de JN et JL après chaque phase de digestion.

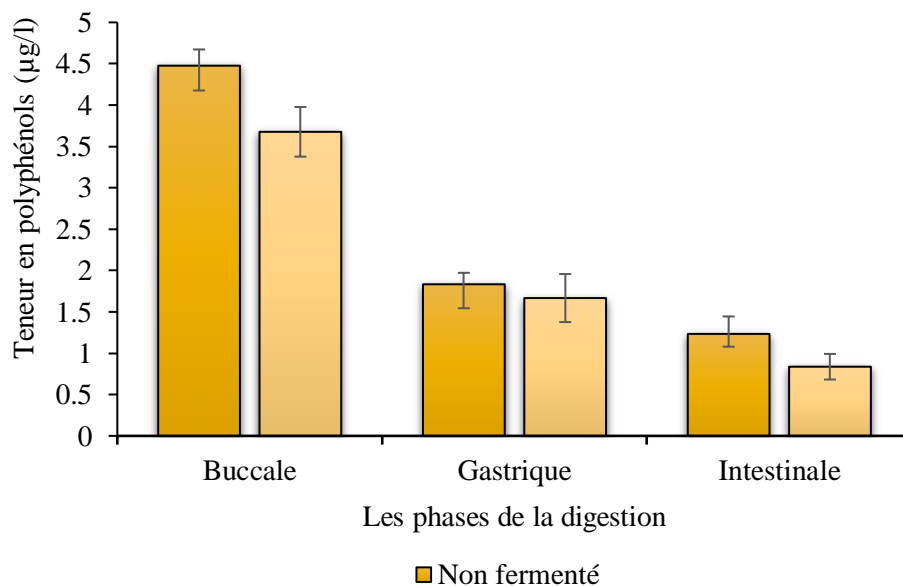


Figure 13 Teneur en polyphénols de la deuxième digestion.

Dans cette période de digestion les teneurs en polyphénols sont encore en diminution à chaque passage entre les phases de la digestion les teneurs diminuent progressivement, dans le JN à la phase buccale elle était $4,47 \pm 0,196$, dans la phase gastrique $1,83 \pm 0,138$, et $1,23 \pm 0,211$ dans la phase intestinale, Pour le JL dans la phase buccale $2,56 \pm 0,525$, dans la phase gastrique $1,66 \pm 0,290$, et $0,83 \pm 0,155$ dans la phase intestinale. Cette diminution est non Significatives ($P > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} et entre G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} .

- Digestion à 18 jours : la figure 14 montre les valeurs de JN et JL après chaque phase de digestion.

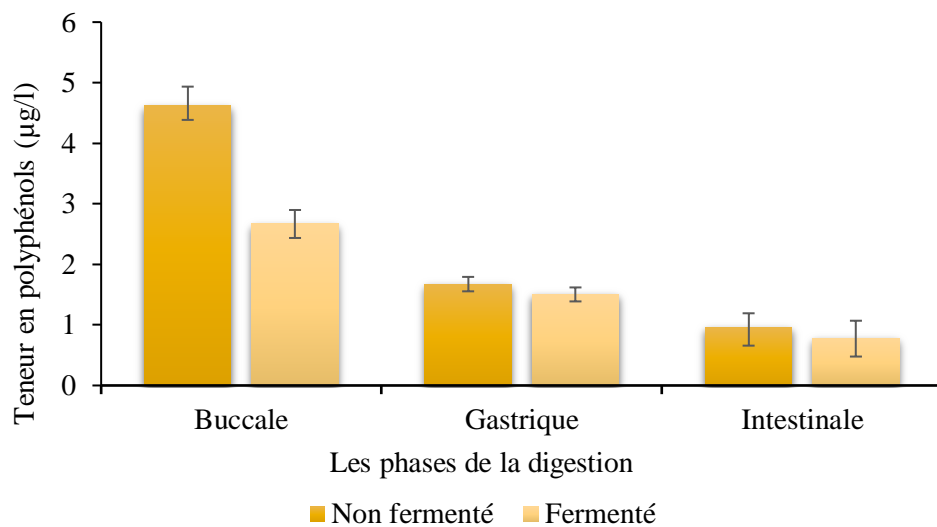


Figure 14 Teneur en polyphénols de la troisième digestion.

Les résultats toujours montrent une diminution progressive, dans le JN à la phase buccale $4,61 \pm 0,318$, à la phase gastrique $1,67 \pm 0,122$, et $0,95 \pm 0,238$, dans la phase intestinale, pour le JL dans la phase buccale $2,66 \pm 0,231$, gastrique $1,50 \pm 0,115$, et $0,77 \pm 0,295$ dans la phase intestinale. Cette diminution est toujours non significative ($P > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} et entre G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} .

- Digestion à 25 jours : la figure 15 montre les valeurs de JN et JL après chaque phase de digestion.

Les teneurs en polyphénols restent toujours en diminution. Dans le JN à la phase buccale $4,60 \pm 0,356$, suivi par $0,85 \pm 0,405$ dans la phase gastrique et $0,52 \pm 0,173$ dans la phase intestinale. Dans le JL à la phase buccale $0,85 \pm 0,122$, $0,49 \pm 0,265$ dans la phase gastrique et $0,22 \pm 0,1$ dans la phase intestinale. Cette diminution est non significative ($P > 0,05$) entre G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} et significatives ($P < 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} .

D'après ces, nous remarquons une diminution des composées phénoliques après chaque stade de digestion (buccale, gastrique et intestinale), Pour le JN et même pour le JL tout au long la période de conservation (25 jours).

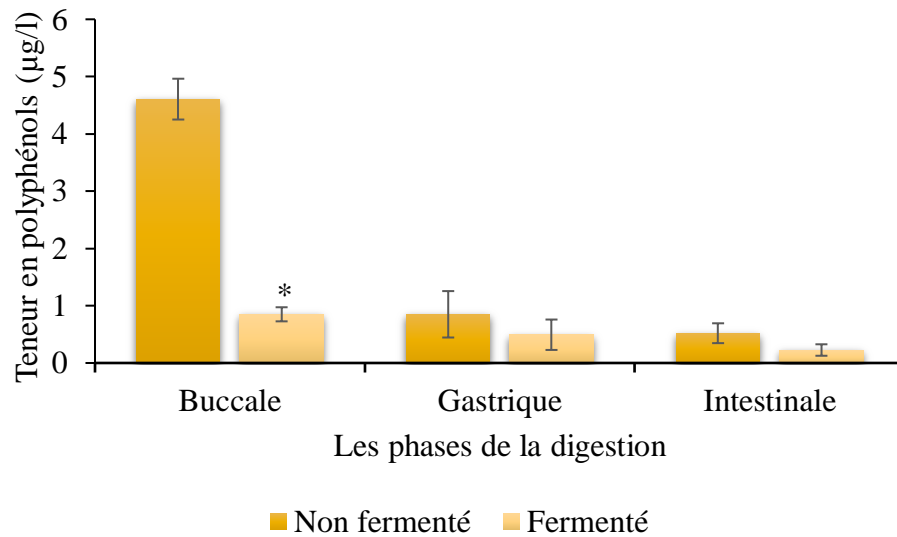


Figure 15 Teneur en polyphénols de la quatrième digestion.

Ces résultats sont similaires à ceux de [Sancho et al., \(2015\)](#), qui montrent que la digestion provoque un abaissement dans les teneurs en polyphénols.

4.3.2 Flavonoïdes

- La figure 16 montre les résultats des flavonoïdes dans le jus avant et après 24 heures de fermentation et au cours la conservation du jus fermenté.

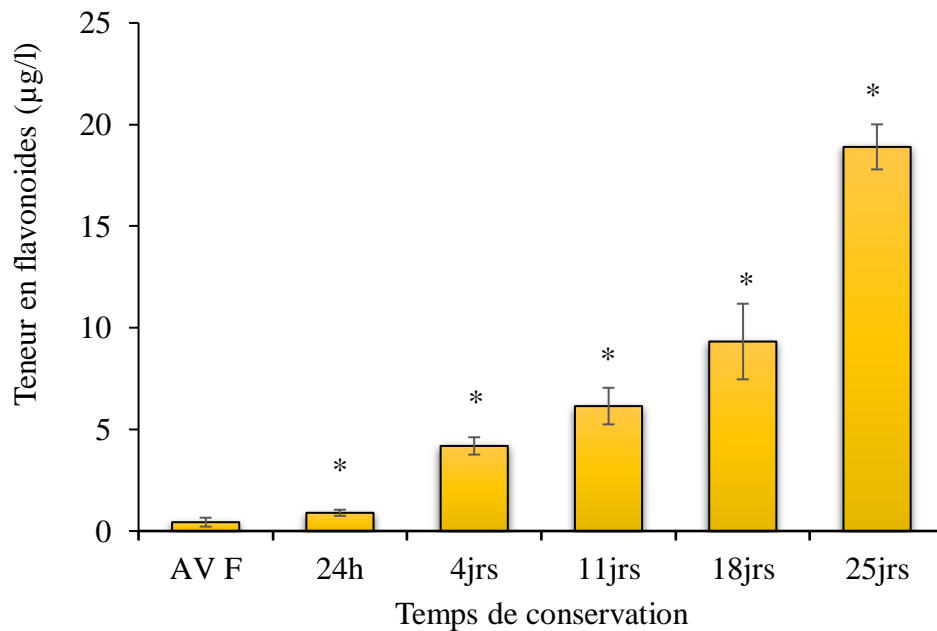


Figure 16 Teneur en flavonoïdes durant la conservation.

Les résultats obtenus montrent que la différence entre les moyennes des teneurs en flavonoïdes entre JN avec celles de JL au cours de la durée de conservation, étaient significative ($P < 0.05$) entre JN et T_{24h} , T_{4jrs} , T_{11jrs} , T_{18jrs} et T_{25jrs} . Ces teneurs augmentent progressivement, dans le JN on a $0,43 \pm 0,22$ suivi par $0,89 \pm 0,149$ après T_{24h} de fermentation, $4,18 \pm 0,427$ T_{4jrs} de conservation, $6,14 \pm 0,9$ pour T_{11jrs} , $9,32 \pm 1,86$ pour T_{18jrs} et $18,9 \pm 1,108$ pour T_{25jrs} . C'est le contraire de ce qui a été trouvé par [Deseva et al., \(2020\)](#), ou les valeurs sont inférieures aux notre et ne dépassaient pas les 6.72 ± 0.16 mg/l.

- Digestion à 4 jours : la figure 17 montre les valeurs de JN et JL après chaque phase de digestion après 4 jours de conservation. cddc

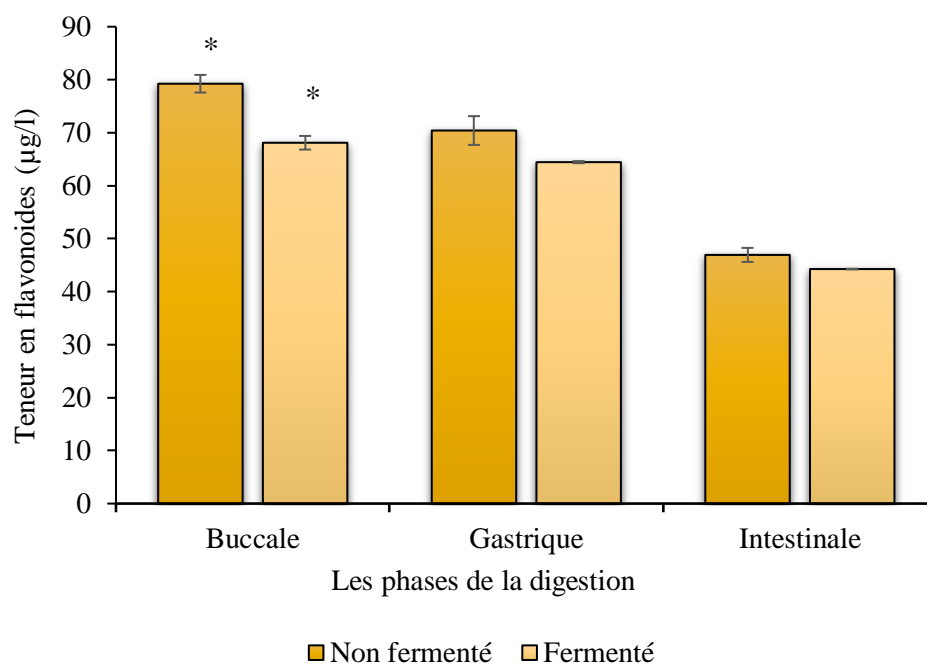


Figure 17 Teneur en flavonoïdes de la première digestion.

Les résultats obtenus montrent une diminution dans les teneurs en flavonoïdes entre les entre JN et celle de JL au cours de la digestion à partir de la phase buccale jusqu'à la phase intestinale, pour le JN à la phase buccale était de $79,24 \pm 1,665$, suivi par $70,41 \pm 2,715$ dans la phase gastrique et $46,93 \pm 1,322$ dans la phase intestinale. Pour le JL, $68,1 \pm 1,286$ dans la phase buccale, $64,44 \pm 0,197$ dans la phase gastrique et $44,26 \pm 0,066$ dans la phase intestinale. Cette diminution est non significative ($P > 0.05$) entre G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} et significative ($P < 0.05$) entre B_{JN}/B_{JL} .

- Digestion à 11 jours : la figure 18 montre les valeurs de JN et JL après chaque phase de la digestion après 11 jours de conservation

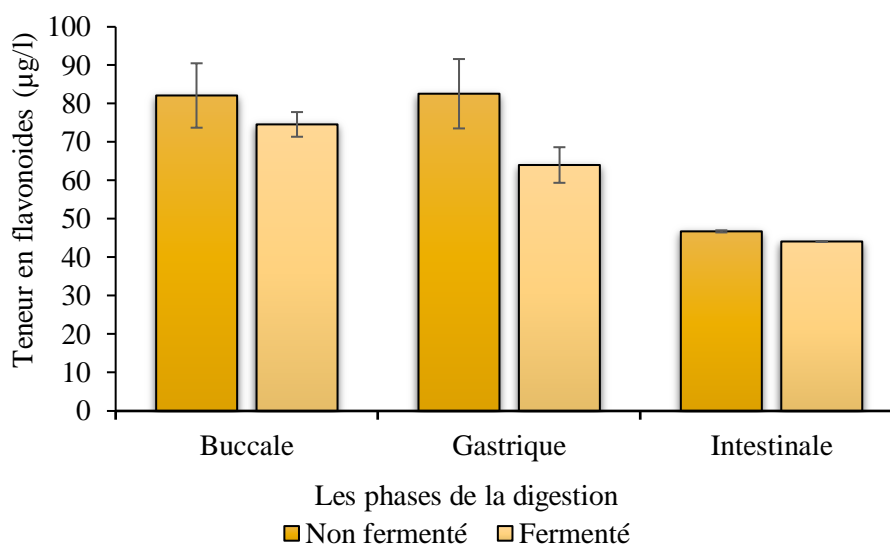


Figure 18 Teneur en flavonoïdes de la deuxième digestion.

On observe une augmentation en teneurs en flavonoïdes dans cette durée de conservation. Pour le JN dans la phase buccale est de $82,13 \pm 8,386$, $82,58 \pm 9,029$ dans la phase gastrique et $46,75 \pm 0,275$ dans la phase intestinale. Pour le JL les résultats montrent une valeur de $74,6 \pm 3,210$ à la phase buccale, suivi par $64,03 \pm 4,638$ à la phase gastrique et $44,12 \pm 0,122$ à la phase intestinale. Cette augmentation est non significative ($P > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} et entre G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} .

- Digestion à 18 jours : la figure 19 montre les valeurs de JN et JL après chaque phase de la digestion

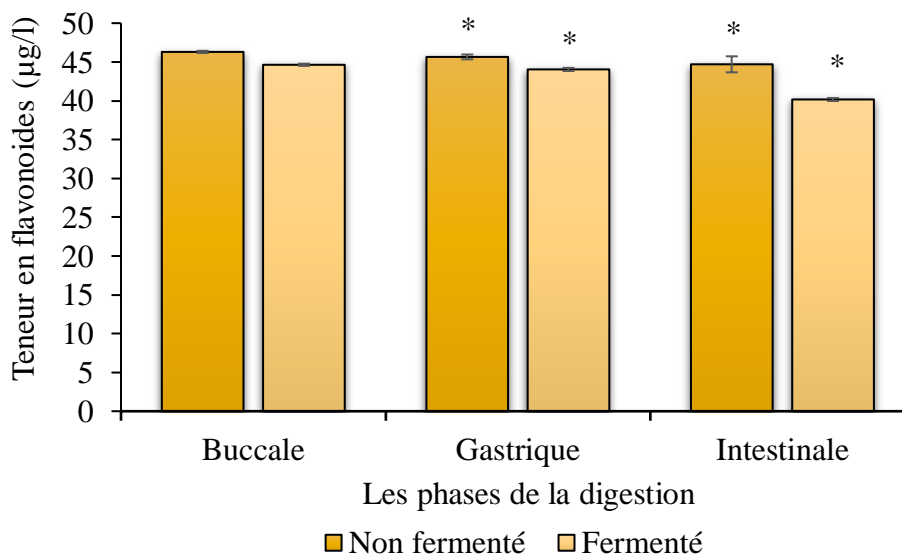


Figure 19 Teneur en flavonoïdes de la troisième digestion.

Les résultats montrent une diminution progressive dans les teneurs en flavonoïdes pendant cette digestion. Pour le JN dans la phase buccale $46,29 \pm 0,140$, à la phase gastrique $45,64 \pm 0,309$, et dans la phase intestinale $44,69 \pm 1,030$. Pour le JL dans la phase buccale $44,63 \pm 0,140$, à la phase

gastrique $44,04 \pm 0,199$, suivi par $40,16 \pm 0,196$ à la phase intestinale. Cette augmentation est significative ($P < 0,05$) entre G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} .

- Digestion à 25 jours : la figure 20 montre les valeurs de JN et JL après chaque phase de la digestion

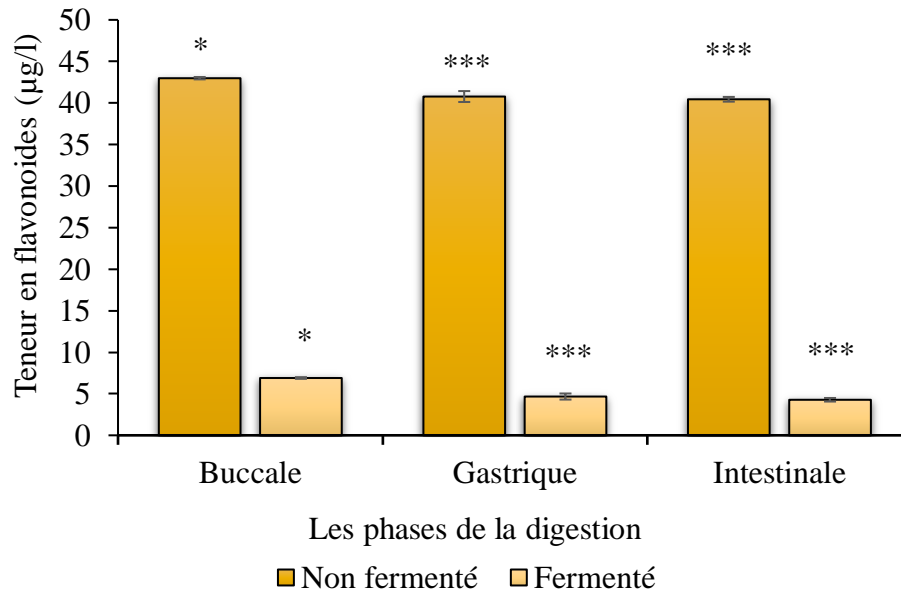


Figure 20 Teneur en flavonoïdes de la quatrième digestion.

Dans cette période de conservation nous observons une diminution brutale dans les teneurs en flavonoïdes par rapport ou JL.

Pour le JN on avait $42,98 \pm 0,141$ dans la phase buccale, $40,77 \pm 0,657$ à la phase gastrique et $40,44 \pm 0,283$ à la phase intestinale. Cependant dans le JL nous observons un fort abaissement dans ces teneurs, du fait dans la phase buccale $6,89 \pm 0,1$, suivi par $4,66 \pm 0,366$ dans la phase gastrique et $4,27 \pm 0,214$ dans la phase intestinale. Cette diminution est significative ($P < 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} , hautement significatives ($P < 0,001$) entre et entre G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} .

Nos résultats sont similaires avec ceux des plusieurs chercheurs, comme le cas de [Ketnawa et al., \(2020\)](#), les composés phénoliques et des flavonoïdes lors de la digestion pancréatique sont diminué. Dans l'étude précédente, les flavonoïdes dans l'extrait de papaye était significativement réduit ($P < 0,05$) après digestion *in vitro*, ce qui peut être lié à l'instabilité de composés phénoliques lorsqu'ils sont hydrolysés en molécules plus petites, telles que l'acide gallique. Cela indique que la digestion possède un effet négatif sur la biodisponibilité des composés phytochimique.

Lorsque nous comparons les résultats des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes, nous observons une diminution de la biodisponibilité des polyphénols pendant la période de

conservation, cependant les teneurs en flavonoïdes augmentent progressivement, les composés phénoliques sont réduites en composés plus simples dite flavonoïdes (Gao *et al.*, 2021).

4.4 Activité antioxydante

4.4.1 Activité antioxydante totale

Les antioxydants sont définis comme faisant partie du mécanisme de défense des organismes supérieurs et prévenir les maladies liées au stress oxydative qui contribuent à la production de radicaux libres et métabolites réactifs en réduisant la quantité de radicaux libres. Selon la littérature, les herbes sont de bonnes sources de substances bioactives composés comprenant principalement des phénoliques et des flavonoïdes avec activité antioxydante importante, qui ont un potentiel pour la santé. Les composés phénoliques sont considérés comme des composés complémentaires dans le traitement de plusieurs maladies, y compris les troubles mentaux, avec leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoire (Ozkan *et al.*, 2023).

De nombreuses études antioxydantes ont révélé la forte activité des polyphénols sur les radicaux libres, la forte activité antioxydante résulte de la stabilisation de la résonance du radical polyphénolique obtenu après les processus d'oxydation (Wojtunik-Kulesza *et al.*, 2020).

La figure 21 montre les résultats de l'activité antioxydante totale avant la fermentation et au cours la conservation du jus fermenté.

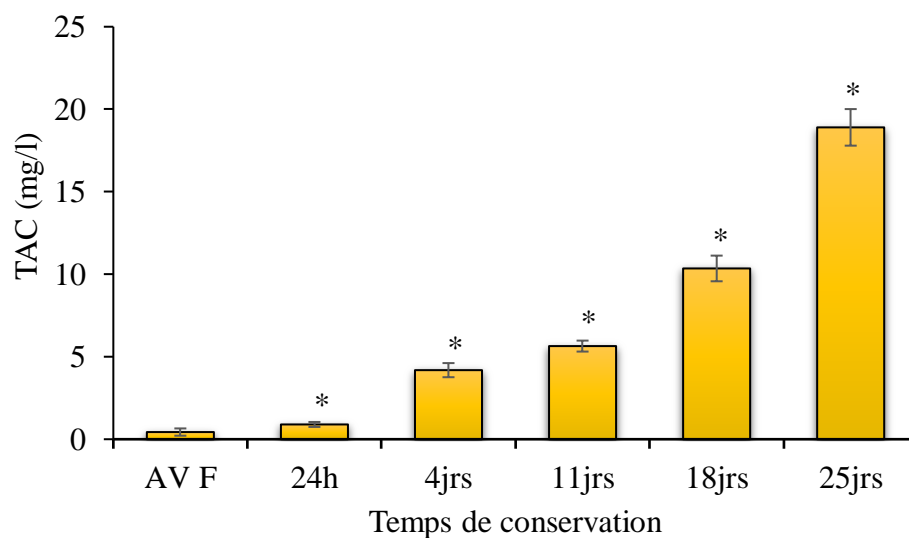


Figure 21 Activité antioxydante totale durant la conservation du jus fermenté.

Les valeurs des concentrations en TAC dans notre jus sont exprimées en mg d'équivalent d'acide ascorbique par litre.

Les résultats obtenus montrent une augmentation significative ($P < 0.05$) dans les valeurs de TAC entre le JN avec celle de JL au cours de la conservation (entre JN et T_{24h} , T_{4jrs} , T_{11jrs} , T_{18jrs} et T_{25jrs}).

Ces valeurs augmentent progressivement pendant la durée de conservation, qui débutent par une valeur de $0,434 \pm 0,220$ pour le JN, suivi par $0,895 \pm 0,149$ dans T_{24h} , $4,186 \pm 0,427$ dans T_{4jrs} , $5,645 \pm 0,332$ dans T_{11jrs} , $10,35 \pm 0,777$ dans T_{18jrs} et augmente jusqu'à $18,9 \pm 1,108$ dans T_{25jrs} .

D'après ces résultats nous observons une augmentation significative par rapport à TAC, cette augmentation peut être expliquée par la biodisponibilité des composés phytochimiques (polyphénols et flavonoïdes) dans le jus, comme l'indique [Shrestha et al., \(2022\)](#), la capacité antioxydante est due aux composés phénoliques, ainsi le changement des composés phénoliques peut changer cette capacité.

Nos résultats sont plus faibles par rapport à ceux obtenu par [Milosevic et al., \(2012\)](#), ($312,72 \pm 3,04$, $123,80 \pm 8,03$, $65,56 \pm 2,67$, $145,12 \pm 14,76$).

L'étude de cette activité dans la digestion bucco-gastro intestinale *in vitro* est effectuée dans 4 périodes différentes de conservation pour JN et JL.

- Digestion à 4 jours : la figure 22 montre les valeurs de TAC de JN et JL après chaque phase de digestion.

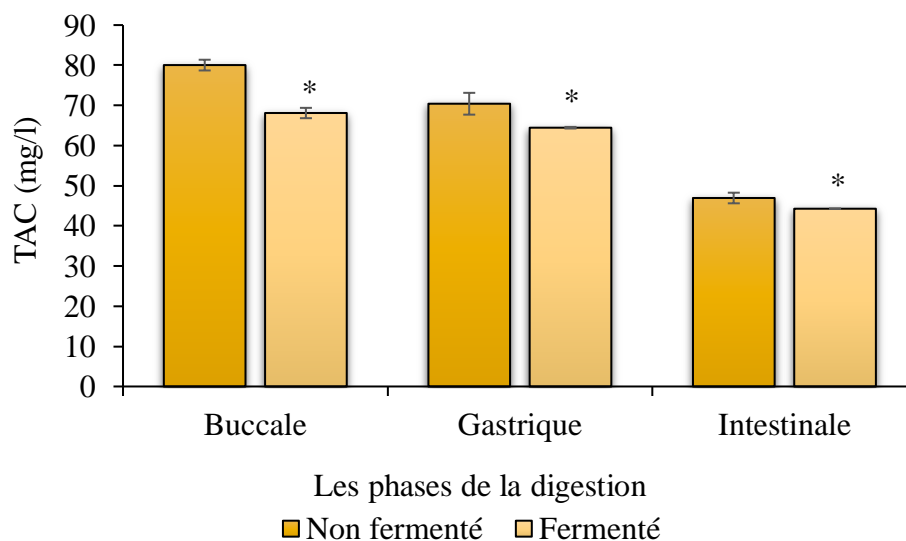


Figure 22 Activité antioxydante totale de la première digestion.

Les résultats montrent une diminution progressive entre les moyennes de l'activité antioxydante totale entre JN et JL pendant la digestion à partir la phase buccale jusqu'à la phase intestinale, dans le JN pour la phase buccale $80,035 \pm 1,336$, $70,41 \pm 2,715$ dans la phase gastrique et $46,935 \pm 1,322$ dans la phase intestinale. Pour le JL dans la phase buccale $68,1 \pm 1,286$, suivi par une valeur

de $64,44 \pm 0,197$ dans la phase gastrique et $44,26 \pm 0,066$ dans la phase intestinale. Cette diminution est significative ($P < 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} , G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} .

- Digestion à 11 jours : la figure 23 montre les valeurs de TAC de JN et JL après chaque phase de digestion.

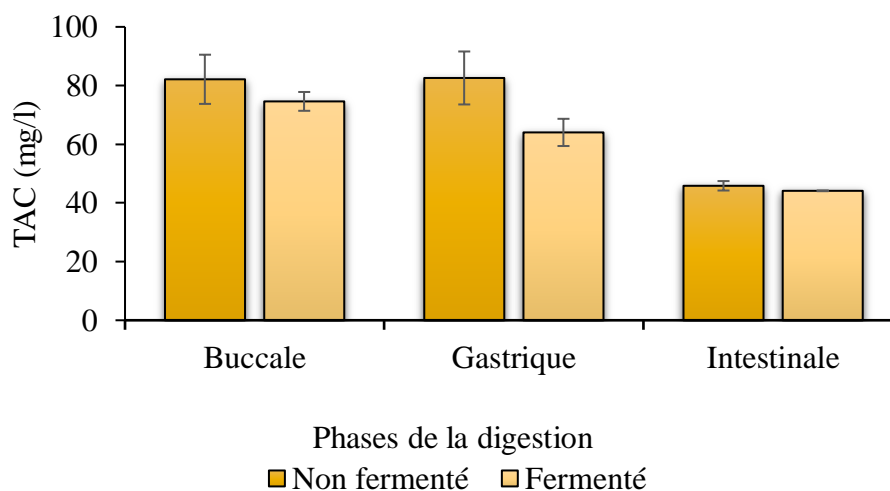


Figure 23 Activité antioxydante totale de la deuxième digestion.

Pour le JN les valeurs du TAC, dans la phase buccale $82,13 \pm 8,386$, $82,585 \pm 8,386$, dans la phase gastrique et $45,83 \pm 1,608$ dans la phase intestinale. Pour le JL dans la phase buccale $74,6 \pm 3,210$, $64,03 \pm 4,638$ dans la phase gastrique et $44,12 \pm 0,122$ dans la phase intestinale, ont observent une diminution en continu, cette dernière est non significative ($P > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} , G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} .

- Digestion à 18 jours : la figure 24 montre les valeurs de TAC de JN et JL après chaque phase de la digestion.

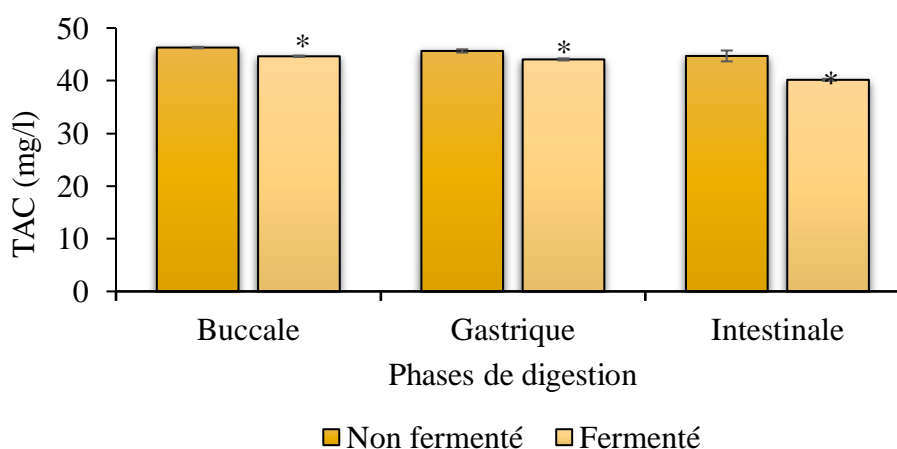


Figure 24 Activité antioxydante totale de la troisième digestion.

La diminution reste toujours présente entre chaque phase de la digestion pour le JN et le JL.

Le JN dans la phase buccale était $46,29 \pm 0,140$, suivi par $45,64 \pm 0,309$ dans la phase gastrique et $44,69 \pm 1,030$ dans la phase intestinale. Pour le JL dans la phase buccale $44,63 \pm 0,140$, $44,04 \pm 0,199$ dans la phase gastrique et $40,16 \pm 0,196$ dans la phase intestinale. Cette diminution est significative ($P < 0.05$) entre G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} .

- Digestion à 25 jours : la figure 25 montre les valeurs de TAC de JN et JL après chaque phase de digestion.

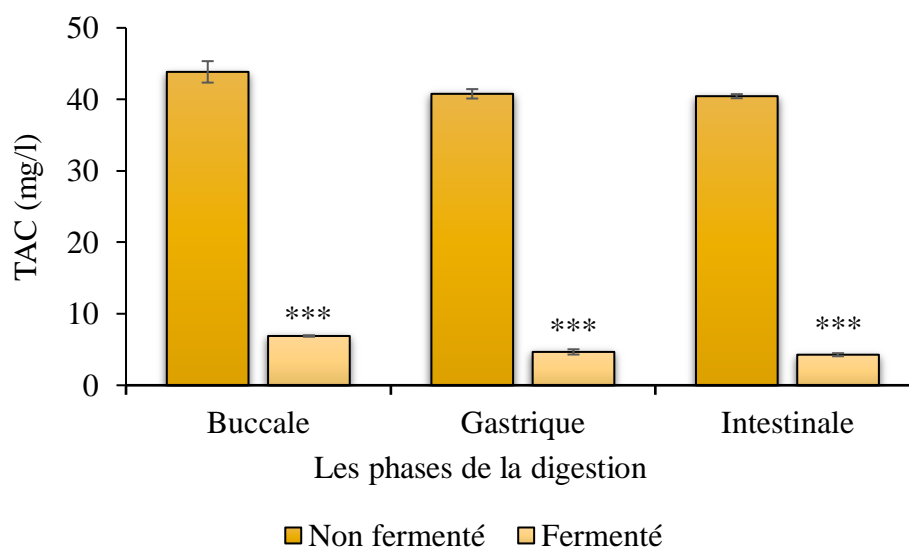


Figure 25 Activité antioxydante totale de la quatrième digestion.

Dans cette période de digestion on observe un fort abaissement dans les teneurs de TAC pour le JL. Pour le JN dans la phase buccale est $43,84 \pm 1,498$, ensuite $40,77 \pm 0,657$ dans la phase gastrique et $40,44 \pm 0,283$ dans la phase intestinale. Alors que dans le JL à la phase buccale $6,89 \pm 0,100$, $4,66 \pm 0,366$ dans la phase gastrique et $4,27 \pm 0,214$ dans la phase intestinale. Cette diminution est hautement significative ($P < 0.001$) entre B_{JN}/B_{JL} , G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} .

Durant la période de la digestion bucco-gastro intestinale nous remarquons une diminution continue de la TAC, cela est expliqué par l'effet des enzymes et de condition non favorable dans ce compartiment.

D'après [Wojtunik-Kulesza et al., \(2020\)](#) la digestion gastro-intestinale in vitro des aliments influencent significativement la bioaccessibilité des composés bioactifs tels que les composés phénoliques. La diminution de la teneur en antioxydants est due à la réduction du contenu phénolique ([Shrestha et al., 2022](#)), En général la digestion a un effet réducteur sur le taux des polyphénols et l'activité antioxydante ([Jara-Palacios et al., 2018](#)).

4.4.2 Réduction du fer (FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power)

L'activité antioxydante de jus de *M. alba* a été également déterminée à l'aide d'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 (Lai et Lim, 2011).

- Au cours de la conservation : La figure 26 représente les valeurs de pouvoir réducteur ferrique de JN et de JL pendant la conservation.

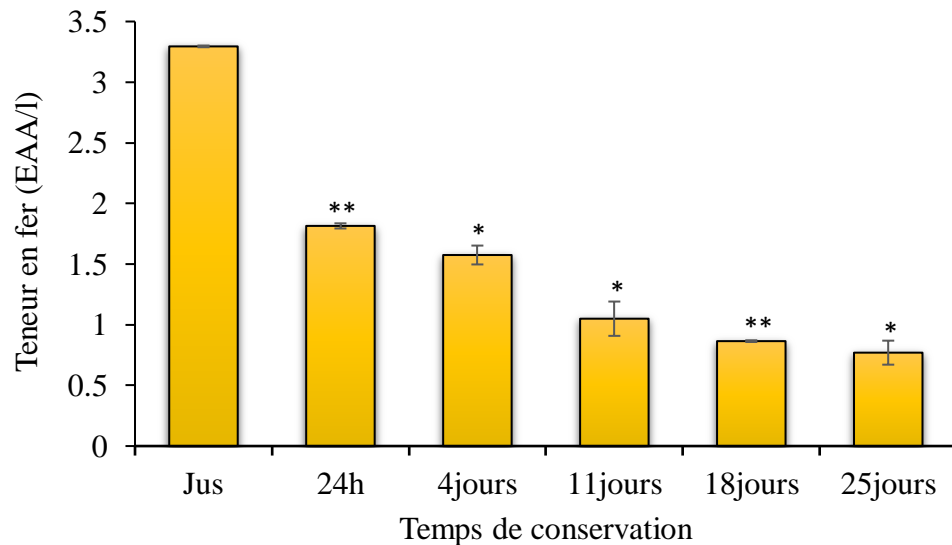


Figure 26 Teneur en fer durant la conservation du JL.

Les résultats montrent une diminution de l'activité FRAP de JN et de JL au cours de la conservation. Cette activité commence dans le JN avec une valeur de $3,295 \pm 0,007$ jusqu'à $0,77 \pm 0,098$ à T₂₅, et la différence étaient très significative ($P < 0,01$) entre JN et T_{24h}, T₁₈ et significative ($P < 0,05$) entre JN et T₄, T₁₁ et T₂₅ de conservation. Cette diminution est liée à l'instabilité des polyphénols aux changements de pH pendant la période de conservation (Tianlin et al., 2021).

L'étude de cette activité dans la digestion bucco-gastro intestinale *in vitro* est effectuée dans 4 périodes déférentes de conservation pour JN et JL.

- Digestion à 4 jours : la figure 27 représente les valeurs de JN et JL après chaque phase de digestion.

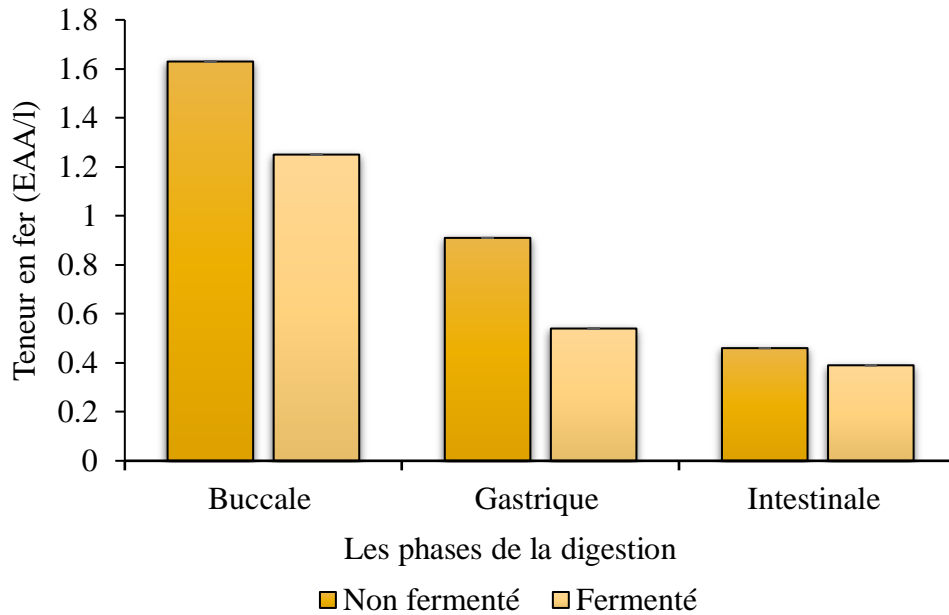


Figure 27 Teneur en fer de la première digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de l'activité réductrice de fer entre le JN et JL avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale jusqu'à la phase intestinale, dans le JN on commence avec une valeur de $1,63 \pm 0$ dans la phase buccale, $0,91 \pm 0$ à la phase gastrique et $0,46 \pm 0$ à la phase intestinale, et une valeur de $1,25 \pm 0$ au stade buccal dans le JL, $0,54 \pm 0$ gastrique, et $0,39 \pm 0$ à la phase intestinale.

- Digestion à 11 jours : la figure 28 représente les valeurs de l'activité réductrice de JN et JL après chaque phase de digestion.

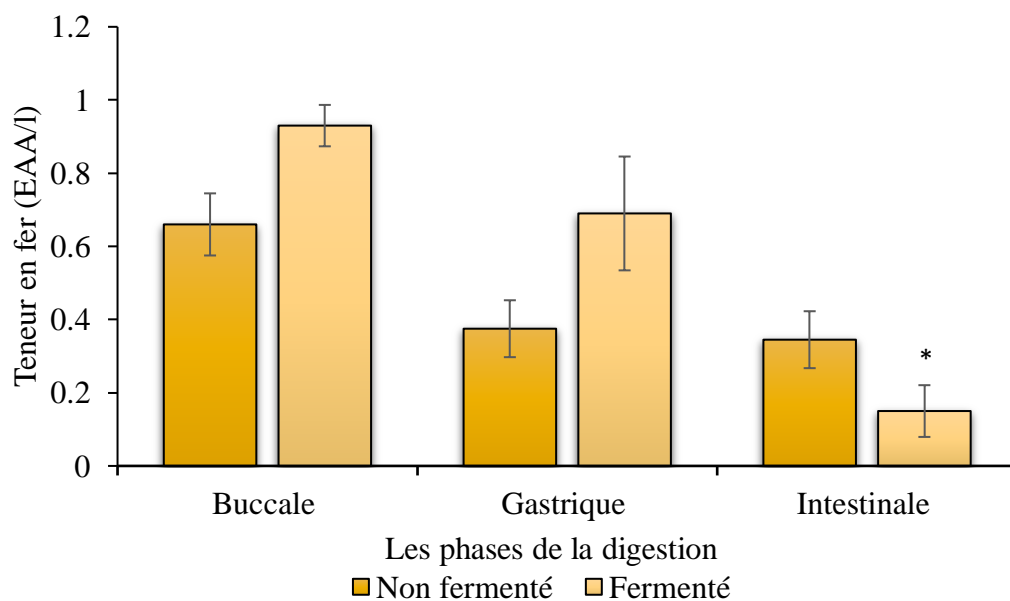


Figure 28 Teneur en fer de la deuxième digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de l'activité réductrice de fer entre le JN et JL avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale jusqu'à la phase intestinale, dans le JN on commence avec une valeur de $0,66 \pm 0,084$ dans la phase buccale, $0,375 \pm 0,077$ à la phase gastrique et $0,345 \pm 0,077$ à la phase intestinale, une valeur de $0,93 \pm 0,056$ au stade buccal dans le JL, $0,69 \pm 0,155$ gastrique, et $0,15 \pm 0,07$ à la phase intestinale.

La différence est non significative ($p > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} et G_{JN}/G_{JL} et significative ($p < 0,05$) entre I_{JN}/I_{JL} .

- Digestion à 18 jours : la figure 29 représente les valeurs de l'activité réductrice de JN et JL après chaque phase de digestion.

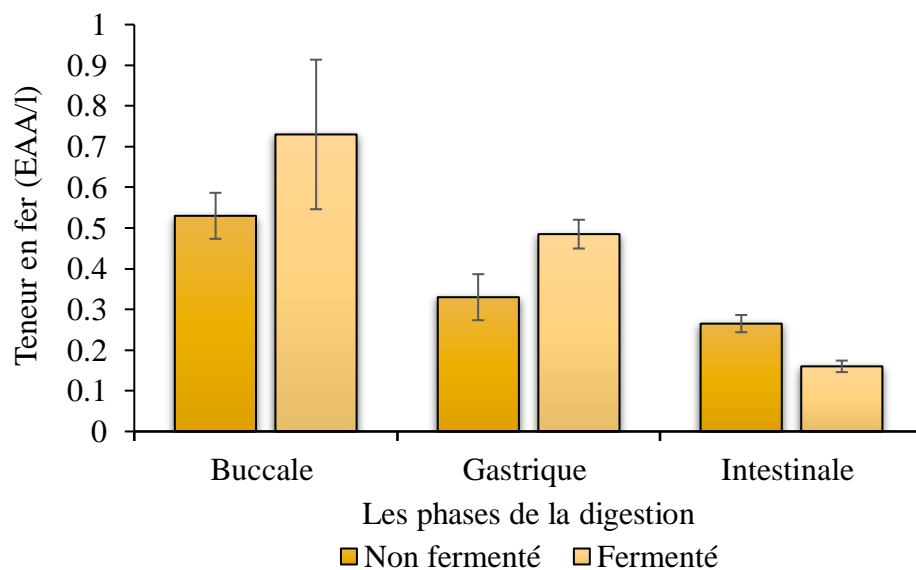


Figure 29 Teneur en fer de la troisième digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de l'activité réductrice de fer entre le JN et JL avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale jusqu'à la phase intestinale, dans le JN on commence avec une valeur de $0,53 \pm 0,056$ dans la phase buccale, $0,33 \pm 0,056$ à la phase gastrique et $0,265 \pm 0,021$ à la phase intestinale et une valeur de $0,73 \pm 0,183$ au stade buccal dans le JL, $0,485 \pm 0,035$ gastrique, et $0,16 \pm 0,014$ à la phase intestinale. Leurs différences étaient non significatives ($p > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} et G_{JN}/G_{JL} et entre I_{JN}/I_{JL} .

- Digestion à 25 jours : la figure 30 représente les valeurs de l'activité réductrice de JN et JL après chaque phase de digestion.

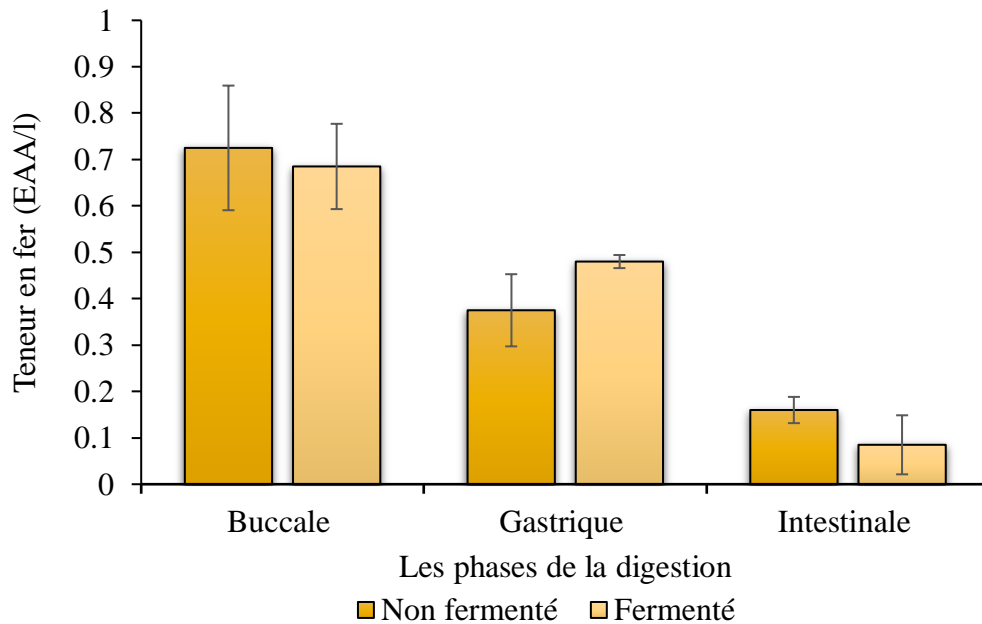


Figure 30 Teneur en fer de la quatrième digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de l'activité réductrice de fer entre le JN et JL avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale jusqu'à la phase intestinale, dans le JN on commence avec une valeur de $0,725 \pm 0,134$ dans la phase buccale, $0,375 \pm 0,077$ à la phase gastrique et $0,16 \pm 0,028$ à la phase intestinale, et une valeur de $0,685 \pm 0,091$ au stade buccal dans le JL, $0,48 \pm 0,014$ gastrique, et $0,085 \pm 0,063$ à la phase intestinale. Leurs différences étaient non significatives ($p > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} et G_{JN}/G_{JL} et entre I_{JN}/I_{JL} .

La diminution observée de l'activité antioxydante FRAP après la digestion salivaire et intestinale peut être attribuée à l'instabilité des polyphénols dans les conditions de digestion et nous savons que les polyphénols fournissent de puissantes capacités antioxydants. Ainsi que la digestion *in vitro* pourrait affecter les propriétés antioxydants de ces composés bioactifs (Henning *et al.*, 2014). Les études ont révélé que l'activité antioxydante est corrélée au nombre des groupements OH supplémentaires en ortho-position ainsi qu'à leurs capacités de donner l'hydrogène. La diminution des propriétés antioxydants pourrait être liée à l'instabilité des polyphénols aux changements de pH pendant la digestion. Les chercheurs ont examiné l'impact de ce facteur sur le mécanisme de piégeage des radicaux libres par les diverses classes de métabolites secondaires. De plus, l'activité antioxydante est différente dans les environnements acides et alcalins par rapport aux environnements neutres (Hayes *et al.*, 2011 ; Laib *et al.*, 2021).

4.4.3 Piégeage des radicaux libres 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).

- Au cours de la conservation : La figure 31 représente les valeurs d'inhibition de DPPH de JN et de JL pendant la conservation.

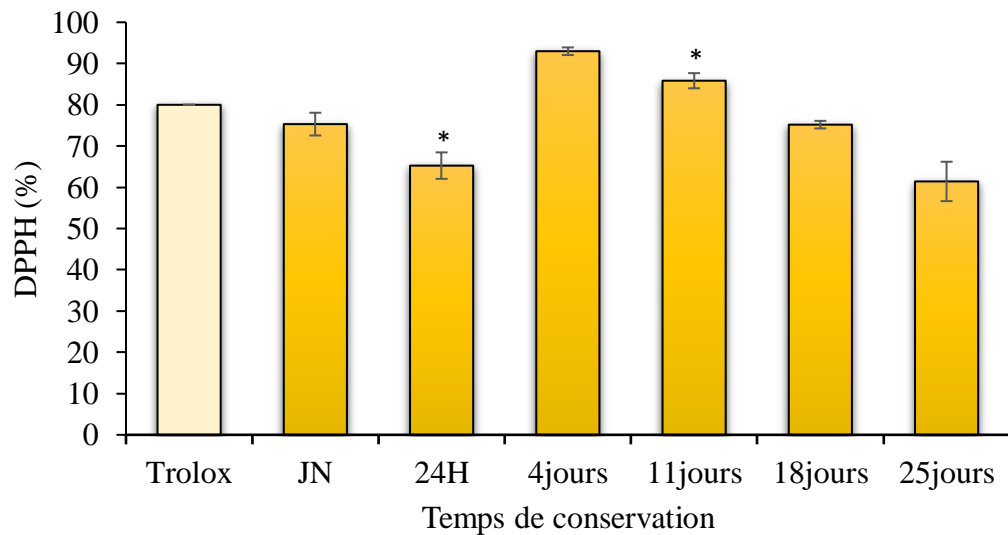


Figure 31 Pourcentage d'inhibition du radical DPPH durant la conservation du JL.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de l'activité inhibitrice DPPH% et leur diminution en commence du JN et le JL au cours de la conservation. Cette activité commence dans le JN avec une valeur de $75,32 \pm 2,757\%$ après 24h pour atteindre $61,425 \pm 4,772\%$ à T₂₅. L'activité à T₄ et T₁₁ est très importante par rapport au témoin. Et leurs différences étaient significative (P<0,05) entre JN et T_{24h}, T₁₁ de conservation et non significative (P>0,05) entre JN et T₄, T₁₈ et T₂₅ de conservation. Des résultats similaires de Sánchez-Salcedo *et al.*, (2015) sur *M. alba* a montré des valeurs d'inhibition entre 87% et 93%. La diminution de l'activité inhibitrice DPPH% avec le temps est à cause de l'abaissement de contenue phénolique, plus la teneur en composés phénoliques est élevée, plus l'activité antiradicalaire augmente (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015 ; Adiamo *et al.*, 2018).

L'étude de cette activité dans la digestion bucco-gastro intestinale *in vitro* est effectuée dans 4 périodes déférentes de conservation pour JN et JL.

- Digestion à 4 jours : la figure 32 représente les valeurs de DPPH de JN et JL après chaque phase de digestion.

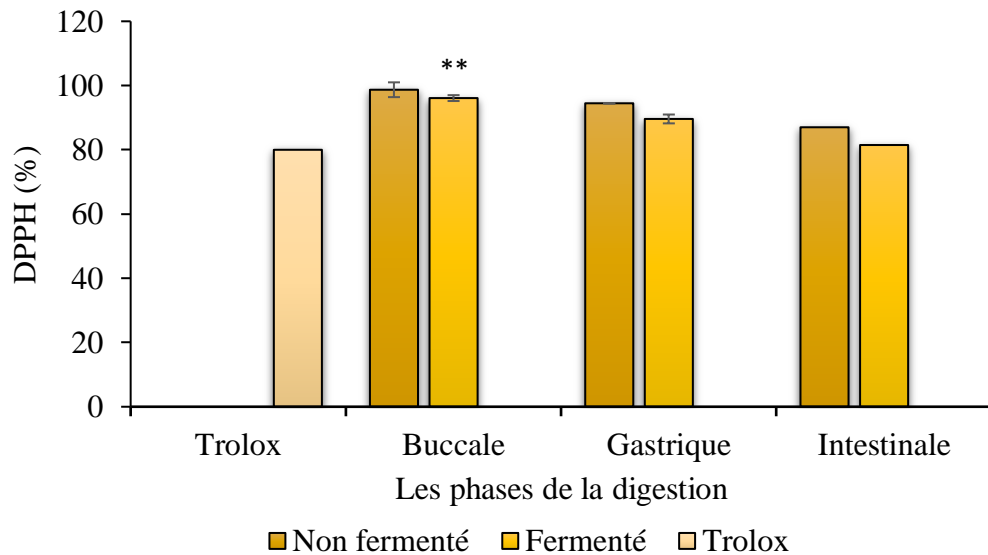


Figure 32 Pourcentage d’inhibition du radical DPPH de la première digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de l’activité inhibitrice DPPH% entre le JN et JL avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale jusqu’à la phase intestinale, dans le JN on commence avec une valeur de $98,7 \pm 0,919\%$ dans la phase buccale, $94,475 \pm 2,298\%$ à la phase gastrique et $87,01 \pm 0\%$ à la phase intestinale, et une valeur de $96,1 \pm 0\%$ au stade buccale dans le JL, $89,605 \pm 0,912\%$ gastrique, et $81,485 \pm 1,378\%$ à la phase intestinale. Ces résultats étaient très importants par rapport au témoin. Leurs différences étaient non significatives ($p > 0,05$) entre G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL} et très significative entre B_{JN}/B_{JL}

- Digestion à 11 jours : la figure 33 représente les valeurs de DPPH de JN et JL après chaque phase de digestion.

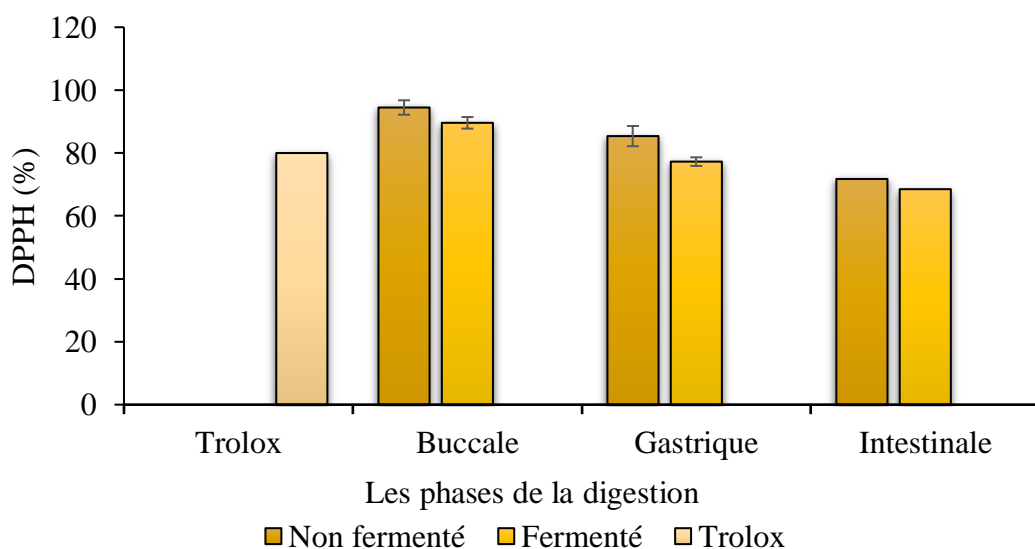


Figure 33 Pourcentage d’inhibition du radical DPPH de la deuxième digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de l'activité inhibitrice DPPH% entre le JN et JL avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale jusqu'à la phase intestinale, dans le JN on commence avec une valeur de $94,475 \pm 1,378\%$ dans la phase buccale, $85,385 \pm 2,298\%$ à la phase gastrique et $71,75 \pm 3,21\%$ à la phase intestinale, et une valeur de $89,605 \pm 2,75\%$ au stade buccale dans le JL, $77,27 \pm 1,838\%$ gastrique, et $68,505 \pm 1,378\%$ à la phase intestinale. Ces résultats étaient très importants en B_{JN}, B_{JL} et G_{JN} par rapport au témoin. Leurs différences étaient non significatives ($p > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} et I_{JN}/I_{JL} et significatives ($P < 0,05$) entre G_{JN}/G_{JL}.

Digestion à 18 jours : la figure 34 représente les valeurs de DPPH de JN et JL après chaque phase de digestion.

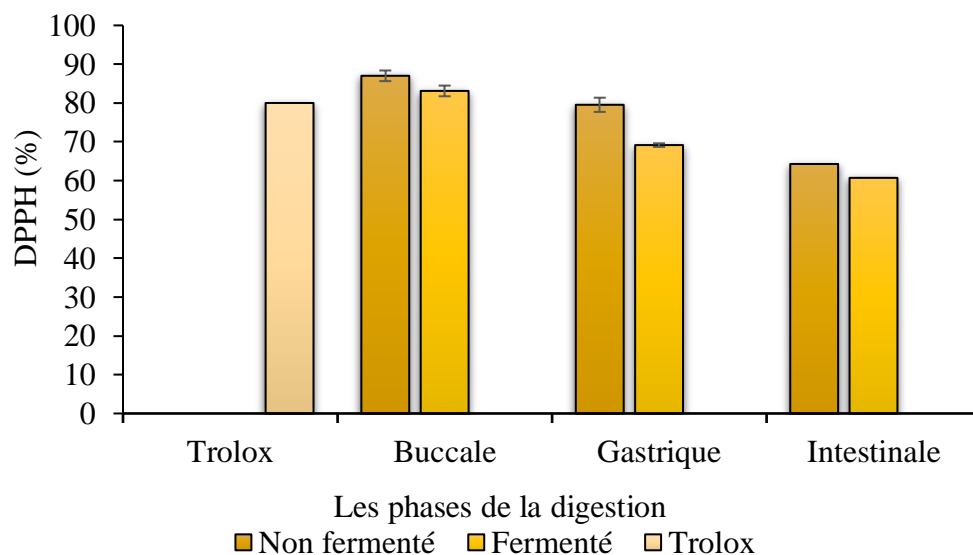


Figure 34 Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de la troisième digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de l'activité inhibitrice DPPH% entre le JN et JL avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale jusqu'à la phase intestinale, dans le JN, les valeurs sont $87,01 \pm 0,919\%$ dans la phase buccale, $79,54 \pm 1,371\%$ à la phase gastrique et $64,285 \pm 1,831\%$ à la phase intestinale, dans le JL, $83,11 \pm 0,919\%$ au stade buccale, $69,155 \pm 1,378\%$ gastrique, et $60,71 \pm 0,452\%$ à la phase intestinale. Ces résultats étaient très importants en B_{JN}, B_{JL} et G_{JN} par rapport au témoin. Leurs différences étaient non significatives ($p > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL}, G_{JN}/G_{JL} et I_{JN}/I_{JL}.

- Digestion à 25 jours : la figure représente les valeurs de DPPH de JN et JL après chaque phase de digestion.

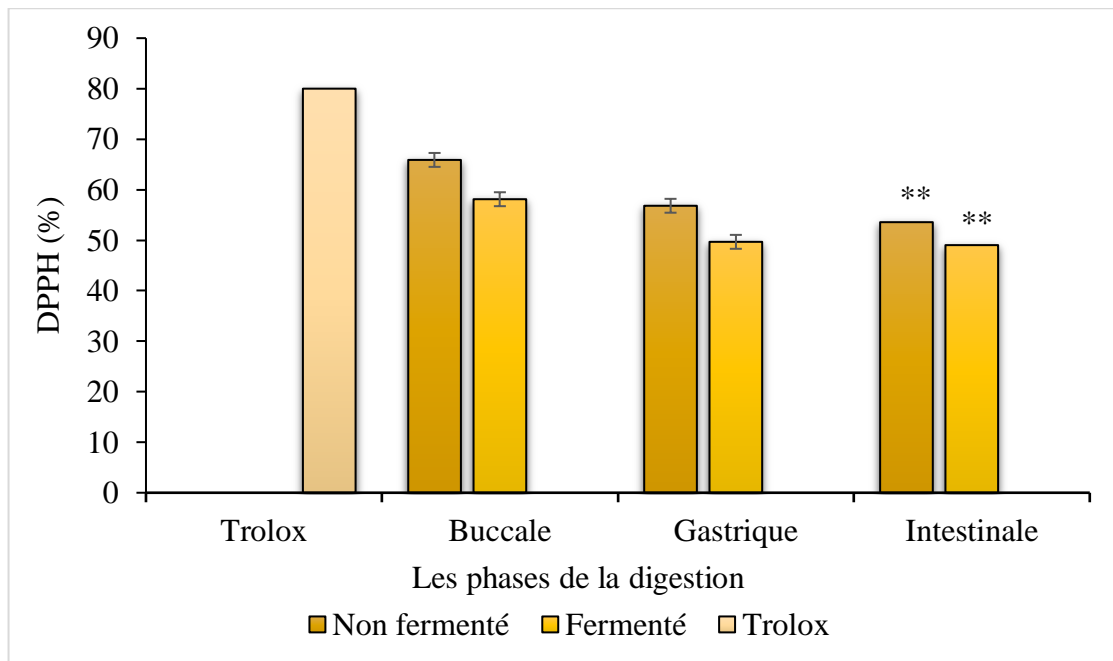


Figure 35 Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de la quatrième digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de l'activité inhibitrice DPPH% entre le JN et JL avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale jusqu'à la phase intestinale, dans le JN les valeurs commencent de $65,895 \pm 2,312\%$ dans la phase buccale, $56,815 \pm 1,378\%$ à la phase gastrique et $53,57 \pm 1,371\%$ à la phase intestinale, et une valeur de $58,115 \pm 0,459\%$ au stade buccale dans le JL, $49,675 \pm 1,378\%$ gastrique, et $49,025 \pm 1,378\%$ à la phase intestinale. Ces résultats étaient un peu faibles par rapport au témoin. Les différences étaient non significatives ($p > 0,05$) entre B_{JN}/B_{JL} , et très significatives pour I_{JN}/I_{JL} .

Les résultats obtenus par [Laib et al., \(2021\)](#) montrent une diminution de cette activité pendant les deux phases buccale et intestinale, contrairement à nos résultats, elle augmente au cours de la phase gastrique. La diminution observée de l'activité antioxydante inhibitrice DPPH% après la digestion bucco-gastro-intestinale peut être dû à l'instabilité des composés phénoliques dans les conditions de l'environnement digestif ([Jara-Palacios et al., 2018](#)).

4.4.4 Activités antioxydantes de la souche

4.4.4.1 Piégeage des radicaux libres DPPH de la souche

La figure 36 représente l'activité antioxydante inhibitrice DPPH% de la souche en suspension et le surnageant.

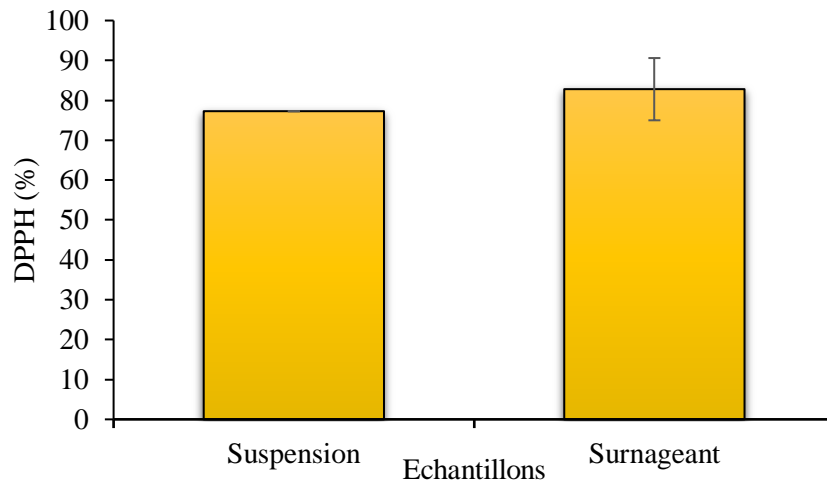


Figure 36 Pourcentage d’inhibition du radical DPPH de la souche et surnageant.

Les résultats montrent une activité de $77,27 \pm 0\%$ de la suspension bactérienne, elle est inférieure que celle du surnageant ($82,79 \pm 7,806\%$). La différence entre l’activité de la suspension et du surnageant est non significative ($P > 0.05$). Les résultats obtenus sont meilleurs que celle de [Zhang et al., \(2014\)](#) qui ont trouvé, 63,2% pour le surnageant et 50% pour la suspension bactérienne. L’activité de piégeage des radicaux libres de lactobacilles pourrait être due à des enzymes antioxydants intracellulaires notamment NADH oxydase, Catalase et NADH peroxydase libérées après la lyse cellulaire, les lysats de cellules de certains lactobacilles peuvent également contenir des composé antioxydants non enzymatiques tels que le glutathion et le thiorédoxine [Zhang et al., \(2021\)](#).

4.4.4.2 Pouvoir réductrice fer de la souche bactérienne

La figure 37 représente l’activité antioxydante réductrice de fer de la souche en suspension et le surnageant.

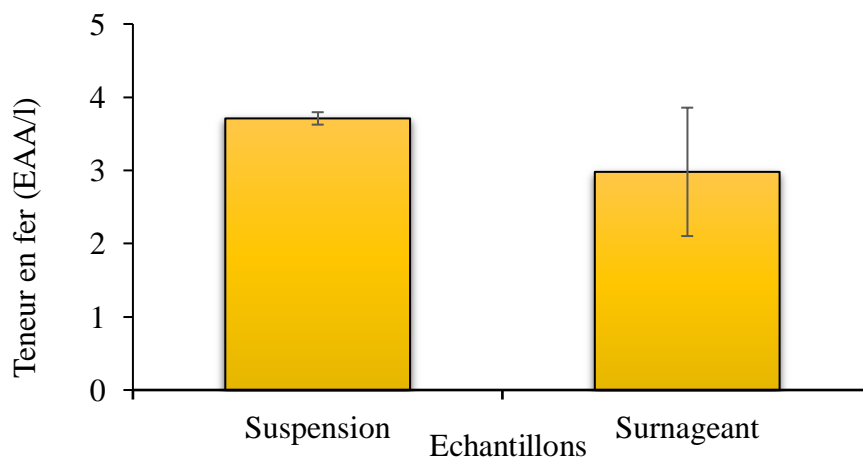


Figure 37 Teneur en fer de la souche et surnageant.

Les résultats montrent une activité de $2,98 \pm 0,876$ pour le surnageant et $3,71 \pm 0,084$ pour la suspension bactérienne. Cette différence non significative ($P > 0.05$), est peut-être liée à l'effet des cellules bactériennes dans cette activité.

4.4.4.3 L'activité antioxydante totale de souche et de surnageant

La figure 38 montre les valeurs de cette activité pour la souche et le surnageant :

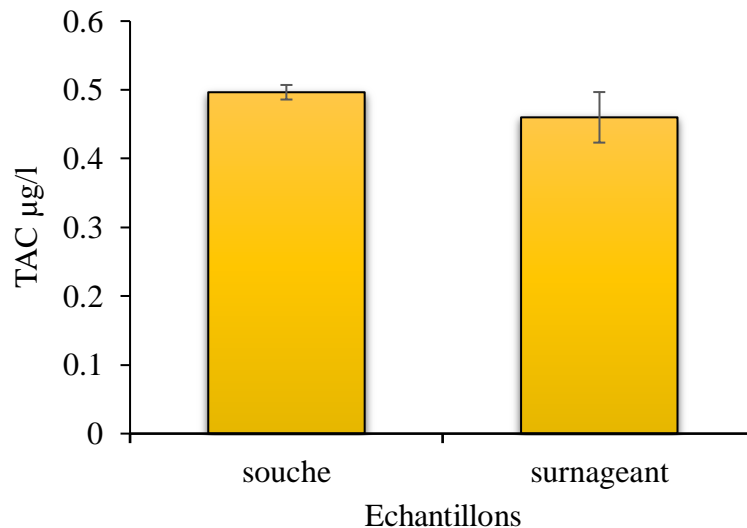


Figure 38 Activité antioxydantes totale de la souche et surnageant.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de l'activité antioxydante totale de la souche et de surnageant.

Pour la souche ont une valeur de $0,49 \pm 0,010$, Cependant, pour le surnageant la valeur est de $0,46 \pm 0,036$, donc ils ont presque la même activité antioxydante. La différence est non significative ($P > 0.05$) entre la souche et le surnageant.

4.5 Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne fait référence à la capacité d'une substance ou d'un agent à inhiber ou à tuer les microorganismes tels que les bactéries, les virus, les champignons ou les parasites. L'objectif principal de l'activité antibactérienne est de contrôler ou d'éliminer la croissance des microorganismes pathogènes responsables des infections.

La figure 39 montre les résultats de l'activité antibactérienne de JN et JL contre *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, et *Escherichia coli*.

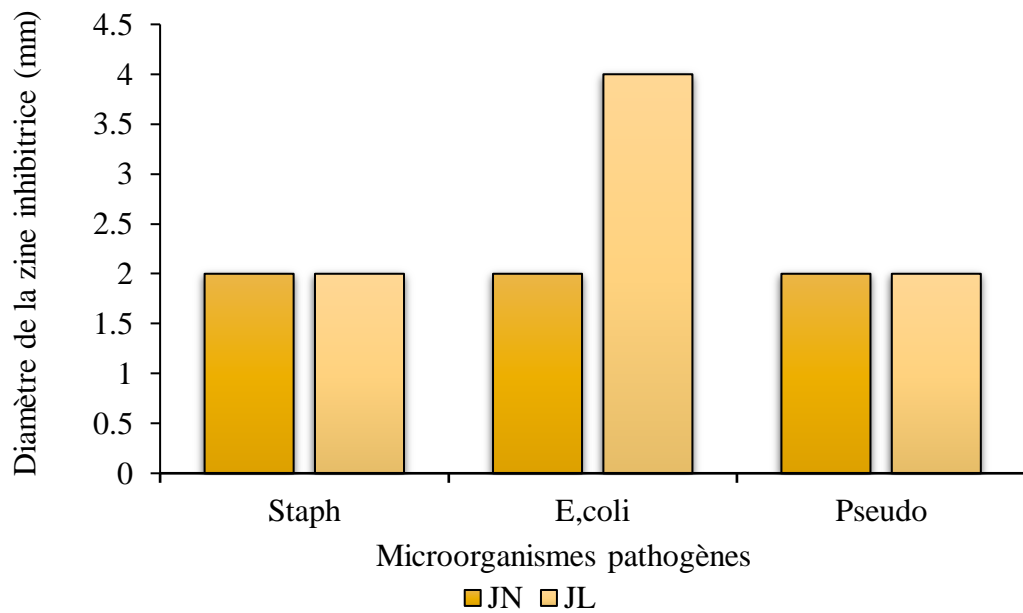


Figure 39 Activité antibactérienne du JN et JL.

D'après [Kumar et al., \(2015\)](#) quand la zone d'inhibition est supérieure à 1mm ont dit que y a un effet antibactérien. Pour le JN, des zones d'inhibition de 2 mm contre *Staphylococcus*, *Pseudomonas* et *E. coli*, ce résultat peut être expliqué par l'effet des protéines thermostables de *M. alba* contre ces dernière ([Devi et al., 2013](#)). Pour le JL, des zones d'inhibition de 2mm contre *Staphylococcus*, *Pseudomonas* et une zone de 4 mm pour *E. coli*. L'augmentation des zones d'inhibitions pour *E. coli* dans le JL indique l'activité antibactérienne de *L. plantarum* due à l'action des agent antibactérienne qui peuvent être produits par la souche tel que les bactériocines, acides ou autres ([Allouche et al., 2010](#)).

4.6 La survie et la viabilité de *L. plantarum*

Les résultats de la viabilité des souches étudiées en combinaison avec le jus de *M. alba* aux différentes périodes de conservation et après chaque phase de digestion sont les suivants :

- Au cours de la conservation : La figure 40 représente la viabilité de la souche pendant la conservation.

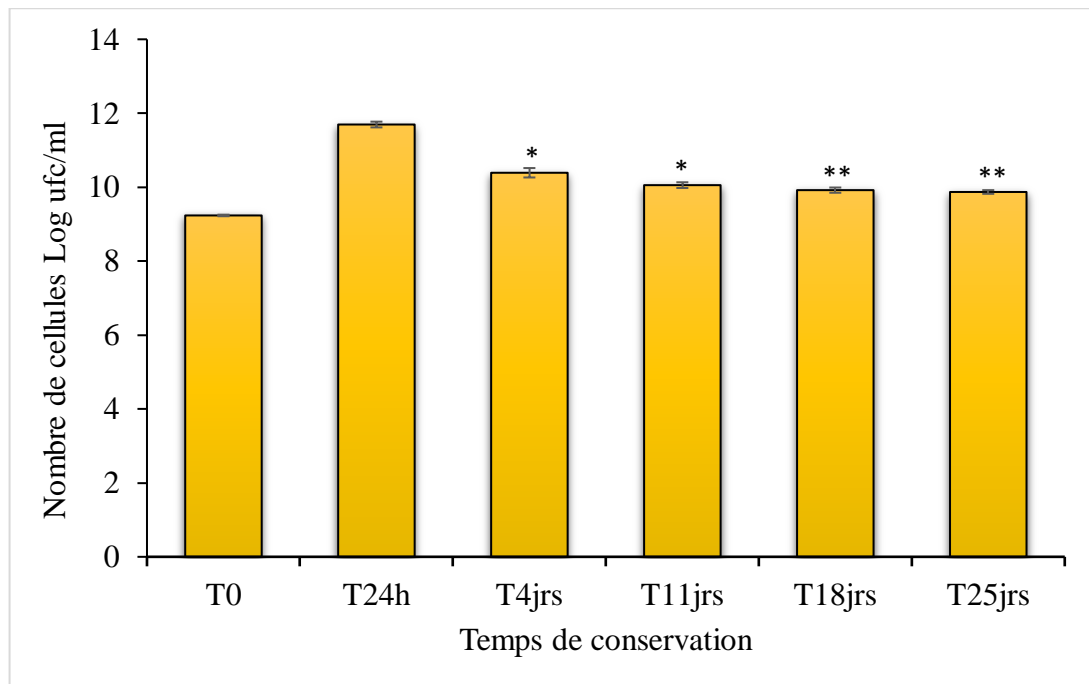


Figure 40 Dénombrement durant la conservation.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de viabilité et survie de souche au cours de la conservation. Elle commence de T₀ avec une valeur de $9,235 \pm 0,021$ avec un développement jusqu'à $11,695 \pm 0,077$ après 24h de fermentation, cette valeur elle diminuer avec le temps jusqu'à $9,87 \pm 0,049$ à T₂₅, et les différences étaient significatives ($P < 0,05$) entre T_{24h}, T₄ et T₁₁ de conservation et très significatives ($P < 0,01$) entre T₂₄ T₁₈ et T₂₅ de conservation.

Nos résultats est similaire avec celle de [Daneshi et al., \(2013\)](#) qui montre la diminution de nombre de cellules durant les 20jours de conservation. Il justifier cette décroissance par l'effet du pH et l'acidification du milieu qui conduire à la mort des cellules.

La survie et la viabilité de la souche dans la digestion bucco-gastro intestinale *in vitro* est effectuée dans 4 périodes déférentes de conservation.

- Digestion à 4 jours : la figure 41 représente les valeurs de viabilité de souche après chaque phase de digestion.

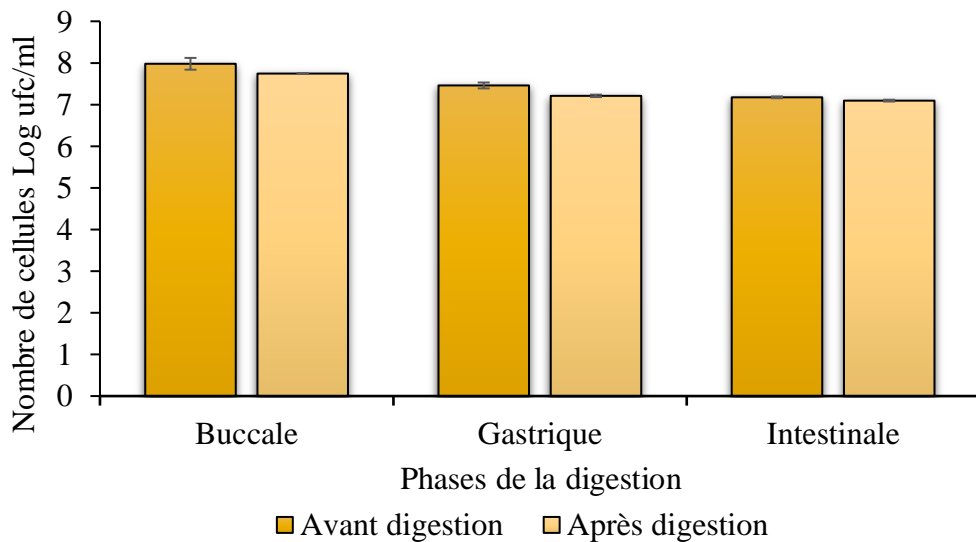


Figure 41 Dénombrement de la première digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de viabilité et survie de souche avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale $7,98 \pm 0,141$ jusqu'à la phase intestinale $7,095 \pm 0,021$. Leurs différences étaient non significatives ($p > 0,05$) entre B_{AV}/B_{AP} et G_{AV}/G_{AP} . Pour I_{AV}/I_{AP} l'analyse statistique ne peut pas être effectuée car l'erreur standard de la différence est nulle.

- Digestion à 11 jours : la figure 42 représente les valeurs de viabilité de souche après chaque phase de digestion.

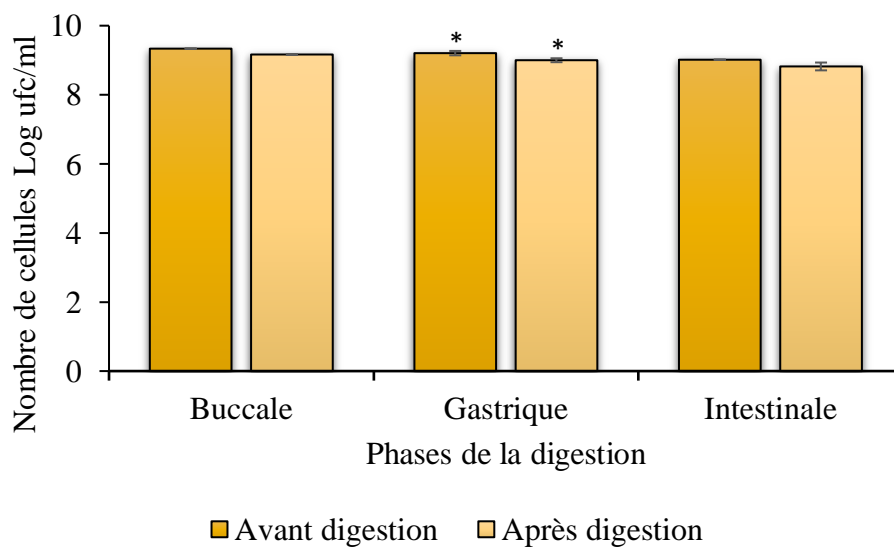


Figure 42 Dénombrement de la deuxième digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de viabilité et survie de souche avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale, $9,335 \pm 0,007$ jusqu'à la phase intestinale $8,82 \pm 0,113$. Leurs différences étaient significatives ($p < 0,05$) entre G_{AV}/G_{AP} , et non significatives ($p > 0,05$) pour I_{AV}/I_{AP} . D'autre part, B_{AV}/B_{AP} l'analyse statistique ne peut pas être effectuée car l'erreur standard de la différence est nulle.

- Digestion à 18 jours : la figure représente les valeurs de viabilité de souche après chaque phase de digestion.

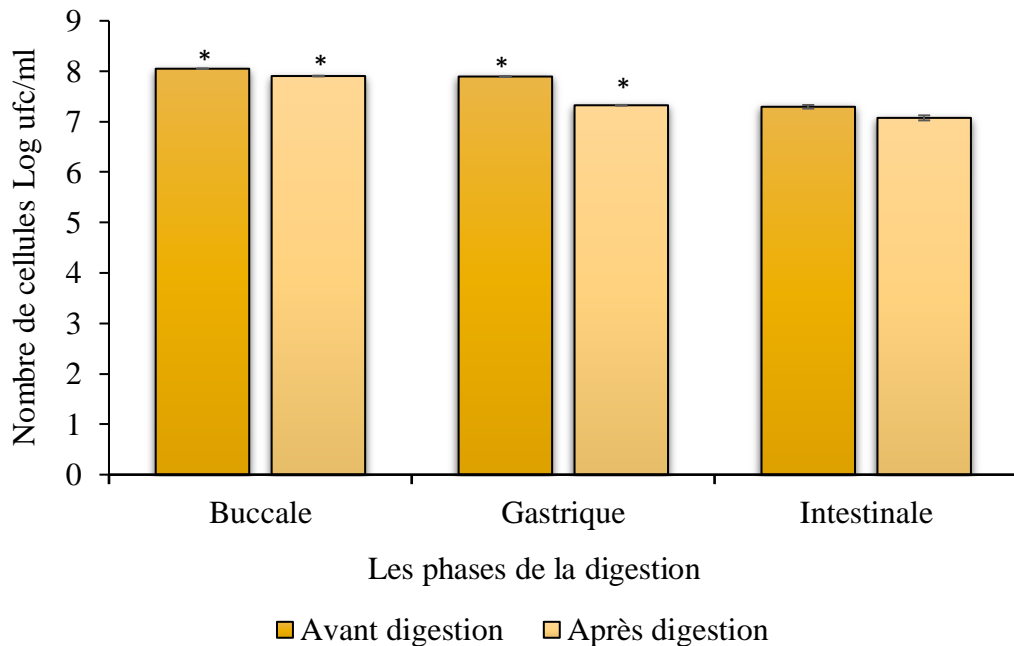


Figure 43 Dénombrement de la troisième digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de viabilité et survie de souche avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale $8,05 \pm 0$ jusqu'à la phase intestinale $7,075 \pm 0,049$. Leurs différences étaient significatives ($p < 0,05$) entre B_{AV}/B_{AP} et entre G_{AV}/G_{AP} , et non significatives ($p > 0,05$) pour I_{AV}/I_{AP} .

- Digestion à 25 jours : la figure représente les valeurs de viabilité de souche après chaque phase de digestion.

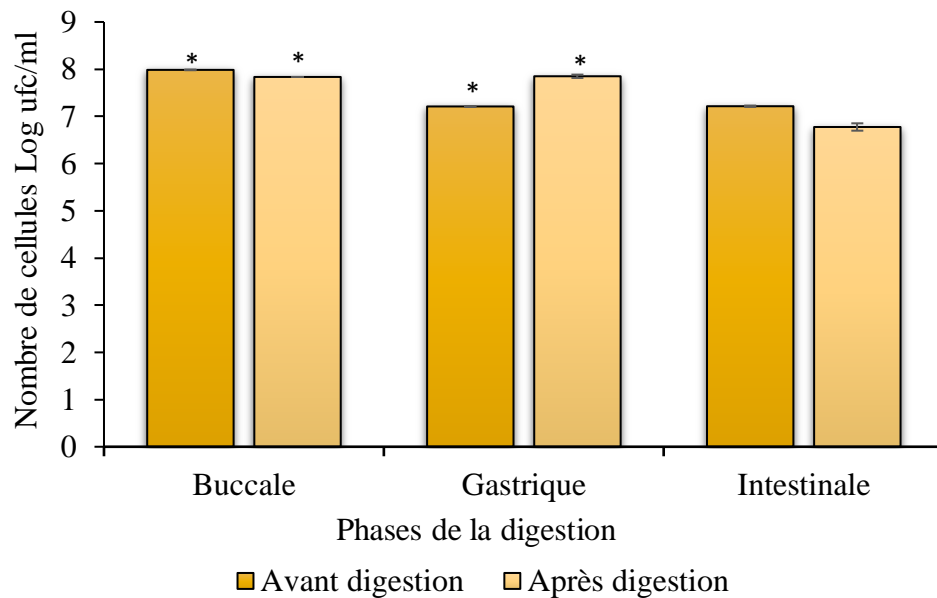


Figure 44 Dénombrement de la quatrième digestion.

Les résultats montrent la différence entre les moyennes de viabilité et survie de souche avec une diminution des valeurs à partir de la phase buccale $7,985 \pm 0,007$ jusqu'à la phase intestinale $6,775 \pm 0,077$.

Leurs différences étaient significatives ($p < 0,05$) entre B_{AV}/B_{AP} et entre G_{AV}/G_{AP} , et non significatives ($p > 0,05$) pour I_{AV}/I_{AP} .

Les résultats des 4 digestions indiquent que le nombre de cellules est abaissé durant les conditions du tractus digestif mais la survie reste toujours. L'addition de la pepsine aux conditions acides de l'estomac a provoqué une importante de la viabilité bactérienne comme il a démontré **Vamanu, (2017)** où il indique que la présence de la pepsine avec un pH bas entraîne une diminution importante de la viabilité des souches de *L. plantarum*.

Actuellement, les industries agroalimentaires s'orientent vers la probiotification des boissons par l'utilisation des bactéries lactiques. La production des produits fermentés est motivée par la satisfaction des clients. Ces produits ont eu la confiance du publique à travers le monde, vu leurs effets bénéfiques déjà prouvés. Ces produits, en véhiculant les cellules bactériennes viables contribuent au maintien de la santé du tube digestif dont dépend largement la santé du corps.

La présente étude a été menée pour évaluer la qualité nutritionnelle ainsi que les changements des composés phytochimiques, la composition physicochimique, l'activité antimicrobienne et les substances bioactives dans le jus de *M. alba* fermenté par *L. plantarum*, pendant le processus de fermentation, la période de conservation et au cours de la digestion *in vitro*.

Les résultats qu'on a obtenus ont montré que notre jus est de bonne qualité, a une bonne composition physicochimique (matière organique, matière sèche et d'autres), de même il avait une grande richesse en composés bioactifs tel que les polyphénols et les flavonoïdes, avec une activité antibactérienne et une bonne activité antioxydante.

D'autre part, après le processus de fermentation de notre jus avec *L. plantarum* qu'elle a déjà une activité antioxydante remarquable et un effet antimicrobien, augmente la qualité de jus et les autres activités.

Les activités antioxydantes au cours de la conservation de JL se diminuent en raison de changement de profil des polyphénols et le changement de pH. Mais la souche a résisté les conditions de stress (digestion, conservation).

La combinaison de cette bactérie avec le jus et leur passage à un processus de la digestion bucco-gastro-intestinale *in vitro* a montré une bonne survie avec une perte de composés phénoliques et une diminution de pouvoir antioxydant d'une phase à l'autre, ce qui peut confirmer que probablement les bactéries utilisent des polyphénols et des flavonoïdes dans sa croissance.

Enfin, l'utilisation de la combinaison de la bactérie avec le jus de murier blanc a amélioré le statut probiotique et la capacité antioxydante. Nos résultats ouvrent de nouvelles perspectives pour la continuité du travail, et nous suggérons :

- Une évaluation *in vivo* de la digestion de jus de *M. alba* et l'étude de son effet bénéfique.
- Une évaluation *in vivo* de la survie et de la viabilité de cette souche dans le tube digestif
- Une évaluation *in vivo* de leur profil antioxydant
- Le développement des aliments fonctionnel tels que les jus fermentés par les probiotiques pour lutter contre les maladies induites par les radicaux libres.

- AbdulAlim, T. S., Zayan, A. F., Campelo, P. H., and Bakry, A. M. (2018). Development of new functional fermented product: Mulberry-whey beverage. *Journal of Nutrition Food Science and Technology*, **1**(3), 64-69.
- Adiamo, O. Q., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F., Babiker, E. E., and 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.
- Adjou, E., Amamion, H., Tchobo, F. P., Aissi, V. M., and Soumanou, M. M. (2013). Extraction assistée par enzyme du jus de la pulpe fraîche du rônier (*Borassus aethiopum* Mart.) acclimaté au Benin: caractérisation physico-chimique et microbiologique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **7**(3), 1135-1146.
- Adubofuor, J., Amoah, I., and Agyekum, P. B. (2016). Physicochemical properties of pumpkin fruit pulp and sensory evaluation of pumpkin-pineapple juice blends. *American Journal of Food Science and Technology*, **4**(4), 89-96.
- Al-Tawaha, R., and Meng, C. (2018). Potential benefits of *Lactobacillus plantarum* as probiotic and its advantages in human health and industrial applications: A review. *Advances in Environmental Biology*, **12**, 16-27.
- Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., and Mesbah, S. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la société royale des sciences de liège*.
- Aljane, F., Sdiri, N., Laamari, R., Ochatt, S., and Ferchichi, A. (2016). Morphological, phytochemical and antioxidant characteristics of white (*Morus alba* L.), red (*Morus rubra* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits grown in arid regions of Tunisia. *Journal of New Sciences*, **35**.
- Allouche, F. N., Hellal, A., and Laraba, A. (2010). Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Nature and Technology*(3), 13.
- Amaretti, A., Di Nunzio, M., Pompei, A., Raimondi, S., Rossi, M., and Bordoni, A. (2013). Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: *in vitro* and *in vivo* activities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **97**, 809-817.
- Amiot-Carlin, M. J., and Georgé, S. (2017). Qualités nutritionnelles des produits végétaux: le cas des fruits et légumes. *Agronomie, Environnement & Sociétés*, **7**(1), p. 43-49.
- Ani, P. N., and Abel, H. C. (2018). Nutrient, phytochemical, and antinutrient composition of *Citrus maxima* fruit juice and peel extract. *Food Science & Nutrition*, **6**(3), 653-658.

- Ashaolu, T. J. (2020). Immune boosting functional foods and their mechanisms: A critical evaluation of probiotics and prebiotics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **130**, 110625.
- Bákonyi, N., Kisvarga, S., Barna, D., O. Tóth, I., El-Ramady, H., Abdalla, N., Kovács, S., Rozbach, M., Fehér, C., and Elhawat, N. (2020). Chemical traits of fermented alfalfa brown juice: Its implications on physiological, biochemical, anatomical, and growth parameters of *Celosia*. *Agronomy*, **10**(2), 247.
- Balla, A., and Baragé, M. (2008). Analyses physico-chimiques de la pulpe et caractérisation de la fraction lipidique des amandes du fruit du pommier de Cayor (*Neocarya macrophylla* Sabine). *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin*, **61**(6).
- Behnsen, J., Deriu, E., Sassone-Corsi, M., and Raffatellu, M. (2013). Probiotics: properties, examples, and specific applications. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, **3**(3), a010074.
- Belicová, A., Mikulášová, M., and Dušinský, R. (2013). Probiotic potential and safety properties of *Lactobacillus plantarum* from Slovak Bryndza cheese. *Biomed Research International*, **2013**.
- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., and Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, **12**(6), 364-371.
- Bey, M. B., and Louaileche, H. (2015). A comparative study of phytochemical profile and *in vitro* antioxidant activities of dark and light dried fig (*Ficus carica* L.) varieties. *The Journal of Phytopharmacology*, **4**(1), 41-48.
- Boizot, N., and Charpentier, J.-P. J.-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bove, P., Russo, P., Capozzi, V., Gallone, A., Spano, G., and Fiocco, D. (2013). *Lactobacillus plantarum* passage through an oro-gastro-intestinal tract simulator: Carrier matrix effect and transcriptional analysis of genes associated to stress and probiosis. *Microbiological Research*, **168**(6), 351-359.
- Butel, M.-J. (2014). Les probiotiques et leur place en médecine humaine. *Journal des Anti-infectieux*, **16**(2), 33-43.
- Chan, E. W.-C., Phui-Yan, L., and Siu-Kuin, W. (2016). Phytochemistry, pharmacology, and clinical trials of *Morus alba*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **14**(1), 17-30.
- Chen, C., Lu, Y., Yu, H., Chen, Z., and Tian, H. (2019). Influence of 4 lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice. *Food Bioscience*, **27**, 30-36.

- Chung, H.-J., Lee, H., Na, G., Jung, H., Kim, D.-G., Shin, S.-I., Jung, S.-E., Choi, I.-d., Lee, J.-H., and Sim, J.-H. (2020). Metabolic and lipidomic profiling of vegetable juices fermented with various probiotics. *Biomolecules*, **10**(5), 725.
- Daneshi, M., Ehsani, M. R., Razavi, S. H., and Labbafi, M. (2013). Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. *Electronic Journal of Biotechnology*, **16**(5), 5-5.
- Das, D., and Goyal, A. (2015). Antioxidant activity and γ -aminobutyric acid (GABA) producing ability of probiotic *Lactobacillus plantarum* DM5 isolated from Marcha of Sikkim. *LWT-food Science and Technology*, **61**(1), 263-268.
- de Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Júnior, A. I. M., Thomaz-Soccol, V., and Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology Advances*, **36**(8), 2060-2076.
- Dedehou, E. S., Dossou, J., and Soumanou, M. (2015). Etude diagnostique des technologies de transformation de la pomme de cajou en jus au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **9**(1), 371-387.
- Deseva, I., Stoyanova, M., Petkova, N., and Mihaylova, D. (2020). Red Beetroot Juice Phytochemicals Bioaccessibility: an *In Vitro* Approach. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, **70**(1), 45-53.
- Devi, B., Sharma, N., Kumar, D., and Jeet, K. (2013). *Morus alba* Linn: A phytopharmacological review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, **5**(2), 14-18.
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., and Smith, F. (1951). A colorimetric method for the determination of sugars. *Nature*, **168**, 167-167.
- Feldsine, P., Abeyta, C., and Andrews, W. H. (2002). AOAC International methods committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. *Journal of AOAC International*, **85**(5), 1187-1200.
- Fernandez-Pacheco, P., Arévalo-Villena, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., and Pérez, A. B. (2018). Probiotic characteristics in *Saccharomyces cerevisiae* strains: Properties for application in food industries. *LWT-food Science and Technology*, **97**, 332-340.
- Ferrando, V., Quiberoni, A., Reinheimer, J., and Suárez, V. (2016). Functional properties of *Lactobacillus plantarum* strains: A study *in vitro* of heat stress influence. *Food Microbiology*, **54**, 154-161.
- Fofana, I., Doudjo, S., Yeo, M., and Koffi, E. (2017). Influence de la fermentation sur les caractéristiques physicochimiques et Sensorielles de La farine composite a base de banane plantain et d'amande de cajou. *European Scientific Journal*, **13**.

- Foughalia, A., Aliliche, M., Boulabtina, A., and Akkouche, Z. (2020). Journal Algérien des Régions Arides (JARA). *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*, **14**(1), 26-36.
- Gao, Q., Zhong, C., Zhou, X., Chen, R., Xiong, T., Hong, M., Li, Q., Kong, M., Xiong, G., and Han, W. (2021). Inverse association of total polyphenols and flavonoids intake and the intake from fruits with the risk of gestational diabetes mellitus: a prospective cohort study. *Clinical Nutrition*, **40**(2), 550-559.
- George, M. J., and Moilola, 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 Sciences Journal*, **5**(3), 247-252.
- Gogineni, V. K., Morrow, L. E., Gregory, P. J., and Malesker, M. A. (2013). Probiotics: history and evolution. *Journal of Infectious Diseases & Preventive Medicine*, **1**(2), 1-7.
- Gundogdu, M., Canan, I., Gecer, M. K., Kan, T., and Ercisli, S. (2017). Phenolic compounds, bioactive content and antioxidant capacity of the fruits of mulberry (*Morus* spp.) germplasm in Turkey. *Folia Horticulturae*, **29**(2), 251-262.
- Handaji, N., Benyahia, H., Arsalane, N., Ben Azouz, A., and Gaboun, F. (2013). Evaluation pomologique et organoleptique de 34 variants d'orangers (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) issus de semis apomictique en essai dans la région du Gharb, ". *Revue de la recherche agronomique marocaine.*" *Al Awamia*, **127**, 47-70.
- Hayes, J., Stepanyan, V., Allen, P., O'grady, M., and Kerry, J. (2011). Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf-life stability of raw and cooked pork sausages. *LWT-Food Science and Technology*, **44**(1), 164-172.
- Henning, S. M., Zhang, Y., Rontoyanni, V. G., Huang, J., Lee, R.-P., Trang, A., Nuernberger, G., and Heber, D. (2014). Variability in the antioxidant activity of dietary supplements from pomegranate, milk thistle, green tea, grape seed, goji, and acai: effects of *in vitro* digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **62**(19), 4313-4321.
- Islam, M., Morshed, S., Saha, S., Quader, F., and Alam, M. (2015). Evaluation of Nutritive Value of Mango Juices Found in Bangladeshi Markets. *Journal of Environmental Science and Natural Resources*, **8**(1), 95-98.
- Jaiswal, S. G., Patel, M., and Naik, S. (2015). Physico-chemical properties of *Syzygium cumini* (L.) Skeels jam and comparative antioxidant study with other fruit jams. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, **6**(1), 9-15.
- Jara-Palacios, M. J., Gonçalves, S., Hernanz, D., Heredia, F. J., and Romano, A. (2018). Effects of *in vitro* gastrointestinal digestion on phenolic compounds and antioxidant activity of different white winemaking byproducts extracts. *Food Research International*, **109**, 433-439.

- Jawad Kadhim, I., and Seyed Hadi, R. (2017). Characterization of *Lactobacillus plantarum* as a potential probiotic *in vitro* and use of a dairy product (yogurt) as food carrier. *Applied Food Biotechnology*, **4**(1), 11-18.
- Juillard, V., Furlan, S., Foucaud, C., and Richard, J. (1996). Mixed cultures of proteinase-positive and proteinase-negative strains of *Lactococcus lactis* in milk. *Journal of Dairy Science*, **79**(6), 964-970.
- Jung, S., Lee, M.-S., Choi, A.-J., Kim, C.-T., and Kim, Y. (2019). Anti-inflammatory effects of high hydrostatic pressure extract of mulberry (*Morus alba*) fruit on LPS-stimulated RAW264. 7 cells. *Molecules*, **24**(7).
- Kareb, O., and Aïder, M. (2019). Whey and its derivatives for probiotics, prebiotics, synbiotics, and functional foods: a critical review. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **11**, 348-369.
- Ketnawa, S., Suwannachot, J., and Ogawa, Y. (2020). *In vitro* gastrointestinal digestion of crisphead lettuce: Changes in bioactive compounds and antioxidant potential. *Food Chemistry*, **311**, 125885.
- Khan, M. A., Rahman, A. A., Islam, S., Khandokhar, P., Parvin, S., Islam, M. B., Hossain, M., Rashid, M., Sadik, G., and Nasrin, S. (2013). A comparative study on the antioxidant activity of methanolic extracts from different parts of *Morus alba* L.(*Moraceae*). *BMC Research Notes*, **6**, 1-9.
- Kim, J.-A., Bayo, J., Cha, J., Choi, Y. J., Jung, M. Y., Kim, D.-H., and Kim, Y. (2019). Investigating the probiotic characteristics of four microbial strains with potential application in feed industry. *PloS one*, **14**(6), e0218922.
- Kouassi, P. K. K., Soro, D., Kone, Y. K., Assidjo, E. N., and Yao, B. K. (2017). 19. Clarification du jus de pomme de cajou (*Anacardium occidentale* L.) par la gélatine et détermination des paramètres physico-chimiques et biochimiques lors de sa conservation à différentes températures. *Intensification agro-écologique de la production et de la transformation du cajou en Afrique: Problématique–Acquis scientifiques et technologiques–Perspectives*, 184.
- Kumar, B. V., Sreedharamurthy, M., and Reddy, O. V. S. (2015). Probiotication of mango and sapota juices using *Lactobacillus plantarum* NCDC LP 20. *Nutrafoods*, **14**, 97-106.
- Kumar, Y. S., Varakumar, S., and Reddy, O. (2012). Evaluation of antioxidant and sensory properties of mango (*Mangifera indica* L.) wine. *CyTA-Journal of Food*, **10**(1), 12-20.
- Kwaw, E., Ma, Y., Tchabo, W., Sackey, A. S., Apaliya, M. T., Xiao, L., Wu, M., and Sarpong, F. (2018a). Ultrasonication effects on the phytochemical, volatile and sensorial characteristics of lactic acid fermented mulberry juice. *Food Bioscience*, **24**, 17-25.

- Kwaw, E., Tchabo, W., Ma, Y., Apaliya, M. T., Sackey, A. S., Mintah, B. K., Farooq, M., and Ma, S. (2018b). Effect of storage on quality attributes of lactic-acid-fermented mulberry juice subjected to combined pulsed light and ultrasonic pasteurization treatment. *Journal of Food Measurement and Characterization*, **12**, 1763-1771.
- Lai, H., and Lim, Y. (2011). Evaluation of antioxidant activities of the methanolic extracts of selected ferns in Malaysia. *International Journal of Environmental Science and Development*, **2**(6), 442.
- Laib, I., Kehal, F., Arris, M., Maameri, M. I., Lachlah, H., Bensouici, C., Mosbah, R., Houasnia, M., and Barkat, M. (2021). Effet de la digestion gastro-intestinale in vitro sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante du thé vert *Camellia sinensis* L. issu de l'agriculture biologique. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **35**(3), 212-221.
- Lebaka, V. R., Wee, Y. J., Narala, V. R., and Joshi, V. K. (2018). Development of new probiotic foods—a case study on probiotic juices. *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods*, 55-78.
- Li, S., Tao, Y., Li, D., Wen, G., Zhou, J., Manickam, S., Han, Y., and Chai, W. S. (2021). Fermentation of blueberry juices using autochthonous lactic acid bacteria isolated from fruit environment: Fermentation characteristics and evolution of phenolic profiles. *Chemosphere*, **276**, 130090.
- Lin, X., Xia, Y., Yang, Y., Wang, G., Zhou, W., and Ai, L. (2020). Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* AR113 and its molecular mechanism of antioxidant. *LWT-Food Science and Technology*, **126**, 109278.
- Loo-Miranda, J., Chire-Fajardo, G., and Ureña-Peralta, M. (2020). Modeling of the variation of the electrical conductivity of the leachate of cocoa with different fermentation index. *Enfoque UTE*, **11**(3), 46-54.
- Mahesh, D. S., Vidhathi, B. S., Vidyashree, D. N., Narayanaswamy, T. K., Subbarayappa, C. T., and Ramaiah, M. (2017). Biochemical Composition and Pharmacological Properties of Mulberry (*Morus* spp.) - A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **6**, 2207-2217.
- Malik, M., Bora, J., and 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.
- Mantzourani, I., Kazakos, S., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A., and Plessas, S. (2018). Potential of the probiotic *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 strain to produce functional fermented pomegranate juice. *Foods*, **8**(1), 4.

- Markowiak, P., and Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, **9**(9), 1021.
- Matouskova, P., Hoova, J., Rysavka, P., and Marova, I. (2021). Stress effect of food matrices on viability of probiotic cells during model digestion. *Microorganisms*, **9**(8), 1625.
- Metlef, S., Zidane, A., and Gadouche, L. (2022). Evaluation de la qualité physico chimique d'un jus de fruit soumis à quelques traitements thermiques durant sa conservation: Evaluation of the physico-chemical quality of a fruit juice subjected to some thermal treatments during its conservation. *Revue Nature et Technologie*, **14**(02), 33-41.
- Milosevic, T., Mratinic, E., Milosevic, N., Glisic, I., and Mladenovic, J. (2012). Segregation of blackberry cultivars based on the fruit physico-chemical attributes. *Journal of Agricultural Sciences*, **18**(2), 100-109.
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., and Dupont, D. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & function*, **5**(6), 1113-1124.
- Mishra, V., Shah, C., Mokashe, N., Chavan, R., Yadav, H., and Prajapati, J. (2015). Probiotics as potential antioxidants: a systematic review. *Journal of agricultural and food chemistry*, **63**(14), 3615-3626.
- Muhammad, F., Javed, I., Akhtar, M., Khaliq, T., Aslam, B., Waheed, A., Yasmin, R., Zafar, H., Zafar, M., Anjum, F., Javed, I., Akhtar, M., Khaliq, T., Aslam, B., Waheed, A., Yasmin, R., and Zafar, H. (2013). White Mulberry (*Morus alba*): A Brief Phytochemical and Pharmacological Evaluations Account. *International Journal of Agriculture and Biology*, **15**, 1560-8530.
- Mureşan, A., Sârbu, I., Pelinescu, D., Ionescu, R., Csutak, O., Stoica, I., and Vassu-Dimov, T. (2018). In vitro selection of some lactic acid bacteria strains with probiotic potential. *Romanian Biotechnological Letters*, **23**(1), 13327.
- Natić, M. M., Dabić, D. Č., Papetti, A., Akšić, M. M. F., Ognjanov, V., Ljubojević, M., and Tešić, Ž. L. (2015). Analysis and characterisation of phytochemicals in mulberry (*Morus alba* L.) fruits grown in Vojvodina, North Serbia. *Food chemistry*, **171**, 128-136.
- Nematollahi, A., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., and Jazaeri, S. (2016). Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, **21**, 49-53.
- Nguyen, C. L., and Nguyen, H. V. (2018). The quality of mulberry juice as affected by enzyme treatments. *Beverages*, **4**(2), 41.

- Nhan, H. T. H., Vy, C. T. T., Nhat, N. T. M., and Linh, V. T. K. (2020). Development of a fermented beverage from white mulberry juice using the Kombucha consortium. *Journal of Technical Education Science*(60), 44-57.
- Ozkan, G., Sakarya, F. B., Tas, D., Yurt, B., Ercisli, S., and Capanoglu, E. (2023). Effect of *In Vitro* Digestion on the Phenolic Content of Herbs Collected from Eastern Anatolia. *ACS omega*, **8**(14), 12730-12738.
- Pakbin, B., Razavi, S. H., Mahmoudi, R., and Gajarbeygi, P. (2014). Producing probiotic peach juice. *Biotechnology and Health Sciences*.
- Panghai, A., Virkrr, K., Kumar, V., Dhull, S. B., Gat, Y., and Chhikara, N. (2017). Development of probiotic beetroot drink. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, **5**(3).
- Park, Y. H., Hamidon, F., Rajangan, C., Soh, K. P., Gan, C. Y., Lim, T. S., Abdullah, W. N. W., and Liong, M. T. (2016). Application of probiotics for the production of safe and high-quality poultry meat. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, **36**(5), 567.
- Petruzzi, L., Campaniello, D., Speranza, B., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., and 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.
- Piquepaille, C. (2013). Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales [Thèse]. *Pharmacie. Limoge*.
- Prieto, P., Pineda, M., and Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, **269**(2), 337-341.
- Rafiq, S., Sharma, V., Nazir, A., Rashid, R., Sofi, S., Nazir, F., and Nayik, G. (2016). Development of probiotic carrot juice. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, **6**(4), 1000534.
- Rohela, G. K., Jogam, P., Mir, M. Y., Shabnam, A. A., Shukla, P., Abbagani, S., and Kamili, A. N. (2020). Indirect regeneration and genetic fidelity analysis of acclimated plantlets through SCoT and ISSR markers in *Morus alba* L. cv. Chinese white. *Biotechnology Reports*, **25**, e00417.
- Rokni, Y., Ghabbour, N., Chihib, N.-E., Thonart, P., and Asehraou, A. (2015). Caractérisation physico-chimique et microbiologique du processus de fermentation naturelle des olives vertes de la variété picholine marocaine. Physico-chemical and microbiological characterization of the natural fermentation of Moroccan picholine green olives variety. *Journal of Materials and Environmental Science*, **6**, 1740-1751.

- Sánchez-Salcedo, E. M., Amorós, A., Hernández, F., and Martínez, J. J. (2017). Physicochemical properties of white (*Morus alba*) and black (*Morus nigra*) mulberry leaves, a new food supplement. *Journal of Food and Nutrition Research*, **5**, 253-261.
- Sánchez-Salcedo, E. M., Mena, P., García-Viguera, C., Martínez, J. J., and Hernández, F. (2015). Phytochemical evaluation of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits, a starting point for the assessment of their beneficial properties. *Journal of functional foods*, **12**, 399-408.
- Sánchez, E. M., Calín-Sánchez, Á., Carbonell-Barrachina, Á. A., Melgarejo, P., Hernández, F., and Martínez-Nicolás, J. J. (2014). Physicochemical characterisation of eight Spanish mulberry clones: processing and fresh market aptitudes. *International Journal of Food Science & Technology*, **49**(2), 477-483.
- Sancho, R. A. S., Pavan, V., and Pastore, G. M. (2015). Effect of in vitro digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Research International*, **76**, 74-78.
- Seddik, H. A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G., and Drider, D. (2017). *Lactobacillus plantarum* and its probiotic and food potentialities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **9**, 111-122.
- Seo, K.-H., Lee, D.-Y., Jeong, R.-H., Lee, D.-S., Kim, Y.-E., Hong, E.-K., Kim, Y.-C., and Baek, N.-I. (2015). Neuroprotective effect of prenylated arylbenzofuran and flavonoids from *Morus alba* fruits on glutamate-induced oxidative injury in HT22 hippocampal cells. *Journal of Medicinal Food*, **18**(4), 403-408.
- Sharma, V., and Mishra, H. (2013). Fermentation of vegetable juice mixture by probiotic lactic acid bacteria. *Nutrafoods*, **12**, 17-22.
- Shewale, R. N., Sawale, P. D., Khedkar, C., and Singh, A. (2014). Selection criteria for probiotics: a review. *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, **9**(1/2), 17.
- Shokryazdan, P., Faseleh Jahromi, M., Liang, J. B., and Ho, Y. W. (2017). Probiotics: from isolation to application. *Journal of the American College of Nutrition*, **36**(8), 666-676.
- Shrestha, R., Panprivech, S., Kitsawad, K., and Kunathigan, V. (2022). Investigation and Comparison of Physicochemical Characteristics of Non-aged and 4-month Aged Mulberry Wine Prepared from Three Different Wine Making Techniques. *In Proceedings of the 6th Food Ingredient Asia Conference (6th FiAC 2020) - Food Science, Nutrition and Health*, 79-87.
- Smeriglio, A., Galati, E. M., Monforte, M. T., Lanuzza, F., D'Angelo, V., and Circosta, C. (2016). Polyphenolic Compounds and Antioxidant Activity of Cold-Pressed Seed Oil from Finola Cultivar of *Cannabis sativa* L. *Phytotherapy Research*, **30**(8), 1298-1307.

- Taale, E., Savadogo, A., Sina, H., Zongo, C., Karou, S. D., Baba-Moussa, L., and Traore, A. S. (2016). Searching for Bacteriocin pln loci from *Lactobacillus* spp. isolated from fermented food in Burkina Faso by molecular methods. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, **7**(3), 86-94.
- Tamang, J. P., Shin, D.-H., Jung, S.-J., and Chae, S.-W. (2016). Functional properties of microorganisms in fermented foods. *Frontiers in Microbiology*, **7**, 578.
- Tanilgan, K., Özcanb, M. M., and Ünverb, A. (2007). Physical and chemical characteristics of five Turkish olive (*Olea europea* L.) varieties and their oils. *Grasas y aceites*, **58**(2), 142-147.
- Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., and Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients*, **11**(7), 1591.
- Tianlin, L., Jiang, T., Liu, N., Wu, C., Xu, H., and Lei, H. (2021). Biotransformation of phenolic profiles and improvement of antioxidant capacities in jujube juice by select lactic acid bacteria. *Food Chemistry*, **339**, 127859.
- Tomé, D. (2008). Besoins en protéines et en acides aminés & qualité des protéines alimentaires. *Critical Reviews in Food Science and Nutritio*, **48**(177).
- Tufarelli, V., and Laudadio, V. (2016). An overview on the functional food concept: Prospectives and applied researches in probiotics, prebiotics and synbiotics. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, **4**(3, Suppl.), 273-278.
- Valan Arasu, M., Jung, M. W., Ilavenil, S., Jane, M., Kim, D. H., Lee, K. D., Park, H. S., Hur, T. Y., Choi, G. J., and Lim, Y. C. (2013). Isolation and characterization of antifungal compound from *Lactobacillus plantarum* KCC-10 from forage silage with potential beneficial properties. *Journal of Applied Microbiology*, **115**(5), 1172-1185.
- Vamanu, E. (2017). Effect of gastric and small intestinal digestion on lactic acid bacteria activity in a GIS1 simulator. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **24**(7), 1453-1457.
- Vivek, K., Mishra, S., Pradhan, R. C., and Jayabalan, R. (2019). Effect of probiotification with *Lactobacillus plantarum* MCC 2974 on quality of Sohiong juice. *LWT-Food Science and Technology*, **108**, 55-60.
- Wilczyński, K., Kobus, Z., and Dziki, D. (2019). Effect of press construction on yield and quality of apple juice. *Sustainability*, **11**(13), 3630.
- William, H. (2000). Official methods of analysis of AOAC international. *AOAC official method* 985.29.
- Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczuk, A., Oniszczuk, T., Combrzyński, M., Nowakowska, D., and Matwijczuk, A. (2020). Influence of *in vitro* digestion on composition, bioaccessibility

- and antioxidant activity of food polyphenols—A non-systematic review. *Nutrients*, **12**(5), 1401.
- Xu, X., Huang, Y., Xu, J., He, X., and Wang, Y. (2020). Anti-neuroinflammatory and antioxidant phenols from mulberry fruit (*Morus alba* L.). *Journal of Functional Foods*, **68**, 103914.
- Yan, F., Li, N., Yue, Y., Wang, C., Zhao, L., Evivie, S. E., Li, B., and Huo, G. (2020). Screening for potential novel probiotics with dipeptidyl peptidase IV-inhibiting activity for type 2 diabetes attenuation in vitro and *in vivo*. *Frontiers in Microbiology*, **10**, 2855.
- Younus, I., Fatima, A., Ali, S. M., Usmani, S., Begum, Z., Badar, S., and Asghar, R. (2016). A review of ethnobotany, phytochemistry, antiviral and cytotoxic/anticancer potential of *morus alba* linn. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, **1**(2), 84-96.
- Zafar, M. S., Muhammad, F., Javed, I., Akhtar, M., Khaliq, T., Aslam, B., Waheed, A., Yasmin, R., and Zafar, H. (2013). White mulberry (*Morus alba*): A brief phytochemical and pharmacological evaluations account. *International Journal of Agriculture and Biology*, **15**(3).
- Zhang, J., Zhang, X., Zhang, L., Zhao, Y., Niu, C., Yang, Z., and Li, S. (2014). Potential probiotic characterization of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Inner Mongolia “Hurood” cheese. *Journal of Microbiology and Biotechnology*.
- Zhang, Y., Liu, W., Wei, Z., Yin, B., Man, C., and Jiang, Y. (2021). Enhancement of functional characteristics of blueberry juice fermented by *Lactobacillus plantarum*. *LWT-Food Science and Technology*, **139**, 110590.
- Zou, Y., and Jiang, A. (2016). Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science and Technology*, **36**, 111-115.

Annexe I

Tableaux utilisés

Tableau 01 : les valeurs moyennes des teneurs en sucres, matière organique, cendres, l'acidité titrable, pH, protéines, taux de solides solubles et la conductivité électrique.

	AVF	24h	4jours	11jours	18jours	25jours
pH	5.736±0.055	3.72±0.026	3.726±0.005	3.686±0.066	3.753±0.015	3.613±0.03
Acidité (%)	1.597±0.45	7.083±0.257	7.87±0.51	8.77±0.278	11.376±0.61	17.635±0.869
Conductivité (ms/cm)	5.15±0.045	2.4±0.006	4.86±0.052	/	6.853±0.355	8.486±0.508
Taux des solides solubles (Brix°)	11.666±0.577	13±0	11.666±0.577	11.666±0.577	11.333±1.154	10.833±0.288
Matière organique (%)	98.5±0.5	98±0.5	98.166±1.04	94.333±0.577	88.333±0.577	86.833±1.607
Cendres	1.5±0.5	2±0.5	1.833±1.04	5.666±0.577	11.666±0.577	13.166±1.607
Sucres totaux	10±0.762	9.4±1.071	8.72±1.031	8.44±0.0726	7.89±0.36	7.895±0.272
Protéines	0.26±0	0.4±0	0.24±0	0.22±0	0.13±0	0.09±0

Tableaux 02 : les valeurs moyennes des teneurs en DPPH, Fer et TAC.

Pendant la conservation

Les activités	AVF	24h	4jours	11jours	18jours	25jours
DPPH	62,335±0,926	55,19±0,919	46,425±2,298	55,84±1,838	65,26±3,21	75,32±2,757
FER	3,295±0,007	1,815±0,021	1,575±0,077	1,05±0,141	0,865±0,007	0,77±0,098
TAC	0,434±0,220	0,895±0,149	4,186±0,427	5.645±0.332	10.35±0.777	18.9±1.108

La 1^{ère} digestion (4jours)

Les activités	Buccale		Gastrique		Intestinale	
	JN	JL	JN	JL	JN	JL
DPPH	49,025±1,378	53,57±1,371	49,675±1,378	56,815±1,378	58,115±0,459	65,895±2,312
FER	1,63±0	1,25±0	0,91±0	0,54±0	0,46±0	0,39±0
TAC	80,035±1,336	68,1±1,286	70,41±2,715	64,44±0,197	46,935±1,322	44,26±0,066

La 2^{ème} digestion (11jours)

Les activités	Buccale		Gastrique		Intestinale	
	JN	JL	JN	JL	JN	JL
DPPH	60,71±0,452	64,285±1,831	69,155±1,378	79,54±1,371	83,11±0,919	87,01±0,919
FER	0,66±0,084	0,93±0,056	0,375±0,077	0,69±0,155	0,345±0,077	0,15±0,07
TAC	82,13±8,386	74,6±3,21	82,585±8,386	64,03±4,638	45,83±1,608	44,12±0,122

La 3^{ème} digestion (18jours)

Les activités	Buccale		Gastrique		Intestinale	
	JN	JL	JN	JL	JN	JL
DPPH	68,505±1,378	71,75±3,21	77,27±1,838	85,385±2,298	89,605±2,75	94,475±1,378
FER	0,53±0,056	0,73±0,183	0,33±0,056	0,485±0,035	0,265±0,021	0,16±0,014
TAC	46,29±0,14	44,63±0,14	45,64±0,309	44,04±0,199	44,69±1,030	40,16±0,196

La 4^{ème} digestion (25jours)

Les activités	Buccale		Gastrique		Intestinale	
	JN	JL	JN	JL	JN	JL
DPPH	81,485±1,378	87,01±0	89,605±0,912	94,475±2,298	96,1±0	98,7±0,919
FER	0,725±0,134	0,685±0,091	0,375±0,077	0,48±0,014	0,16±0,028	0,085±0,063
TAC	43,84±1,498	6,89±0,1	40,77±0,657	4,66±0,366	40,44±0,283	4,27±0,214

Tableaux 03 : les valeurs moyennes de la teneur en polyphénols et flavonoïdes.

Pendant la conservation

	AVF	24h	4jours	11jours	18jours	25jours
Polyphénol	59,88±0,231	57,38±1,827	54,93±0,43	51,84±0,8	49,42±2,511	48,39±2,11
Flavonoïde	0,43±0,22	0,89±0,149	4,18±0,427	6,14±0,9	9,32±1,86	18,9±1,108

La 1^{ère} digestion (4jours)

Les activités	Buccale		Gastrique		Intestinale	
	JN	JL	JN	JL	JN	JL
Polyphénol	6,98±0,250	2,56±0,525	2,77±0,175	2,03±0,408	1,37±0,44	0,95±0,04
Flavonoïde	79,24±1,665	68,1±1,286	70,41±2,715	64,44±0,197	46,93±1,322	44,26±0,066

La 2^{ème} digestion (11jours)

Les activités	Buccale		Gastrique		Intestinale	
	JN	JL	JN	JL	JN	JL
Polyphénol	4,47±0,196	3,67±0,300	1,83±0,138	1,66±0,290	1,23±0,211	0,83±0,155
Flavonoïde	82,13±8,386	74,6±3,210	82,58±9,029	64,03±4,638	46,75±0,275	44,12±0,122

La 3^{ème} digestion (18jours) :

Les activités	Buccale		Gastrique		Intestinale	
	JN	JL	JN	JL	JN	JL
Polyphénol	4,61±0,318	2,66±0,231	1,67±0,122	1,50±0,115	0,95±0,238	0,77±0,295
Flavonoïde	46,29±0,140	44,63±0,140	45,64±0,309	44,04±0,199	44,69±1,030	40,16±0,196

La 4^{ème} digestion (25jours)

Les activités	Buccale		Gastrique		Intestinale	
	JN	JL	JN	JL	JN	JL
Polyphénol	4,60±0,356	0,85±0,122	0,85±0,405	0,49±0,265	0,52±0,173	0,22±0,1
Flavonoïde	42,98±0,141	6,89±0,1	40,77±0,657	4,66±0,366	40,44±0,283	4,27±0,214

Tableau 04 : les valeurs moyennes de la teneur en activité TAC, DPPH et le fer de la souche et surnageant.

Les activités antioxydantes					
TAC		DPPH		Fer	
Souche	Surnageant	Souche	Surnageant	Souche	Surnageant
0,49±0,010	0,46±0,036	77,27	82,79 ± 7,80	3,71 ± 0,084	2,98 ± 0,87

Tableau 05 : Les moyennes des valeurs de la viabilité de la souche et le surnageant

Pendant la conservation :

T₀	24H	4jours	11jours	18jours	25jours
9,235±0,021	11,695±0,077	10,39±0,127	10,055±0,077	9,92±0,07	9,87±0,049

Au cours de la digestion pendant 4 périodes de conservation :

La durée	Buccale		Gastrique		Intestinale	
	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après
4jours	7,98±0,141	7,745±0,007	7,46±0,07	7,21±0,028	7,175±0,021	7,095±0,021
11jours	9,335±0,007	9,165±0,007	9,205±0,063	9±0,056	9,015±0,007	8,82±0,113
18jours	8,05±0	7,905±0,007	7,895±0,007	7,325±0,007	7,295±0,035	7,075±0,049
25jours	7,985±0,007	7,85±0	7,835±0,007	7,215±0,035	7,21±0,014	6,775±0,077

Annexe II

Composition des milieux

Eau physiologique

Ingrédients	Unité
NaCl	9 g
Eau distillée	1000 ml

Bouillon Man-Rogosa-Sharpe (MRS) pH= 5.8

Ingrédients	Unité
Peptone	10g
Extrait de viande	8g
Extrait de levure	4g
Glucose	20g
Phosphate dipotassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0,2g
Sulfate de manganèse	0,05g
Tween 80	1ml
Eau distillée	1000ml

Tampon phosphate 0,2M (pH 6,6)

Ingrédients	Unité
NaH ₂ PO ₄	1,2g
Na ₂ HPO ₄	1,42
Eau distillée	100ml

Carbonate de sodium (7%)

Ingrédients	Unité
Carbonate de sodium	0.7g
Eau distillée	10ml

Folin -ciocalteu

Ingrédients	Unité
Folin -ciocalteu	1ml
Eau distillée	10ml

Chlorure d'Aluminium

Ingrédients	Unité
Chlorure d'Aluminium	1g
Eau distillée	50ml

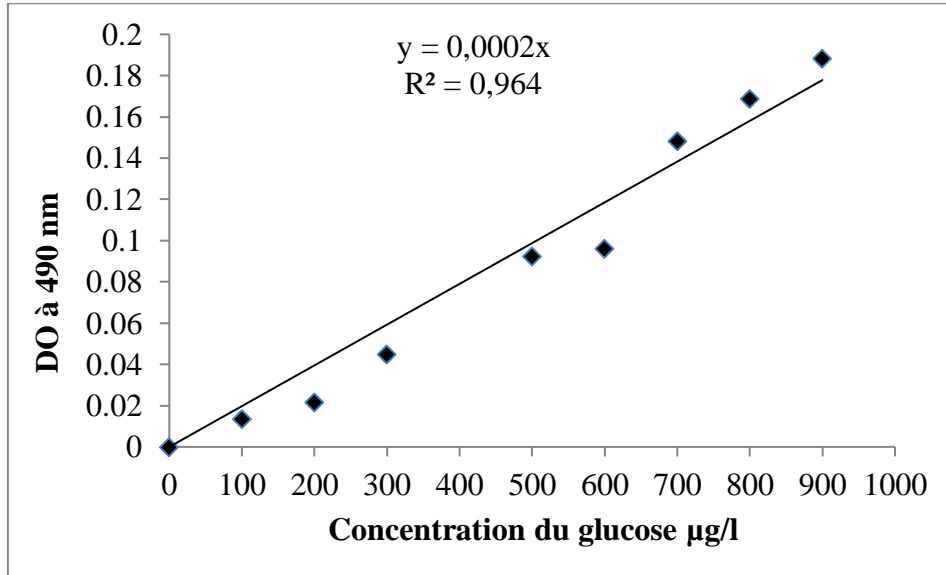
La solution de TAC

Ingrédients	Unité
Acide sulfurique	1.66ml
Phosphate de sodium	0.167g
Molybdate d'ammonium	0.247g

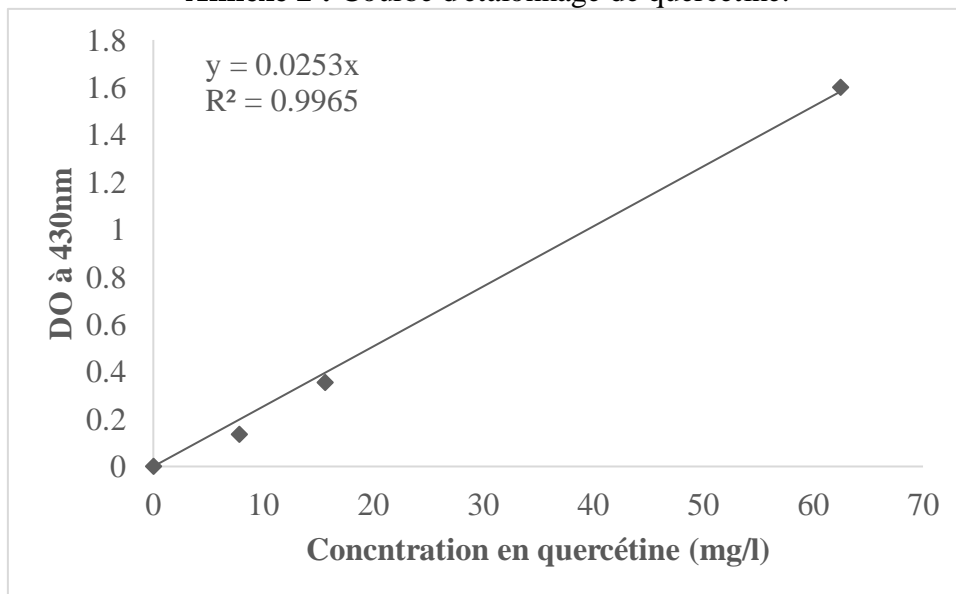
Annexe III

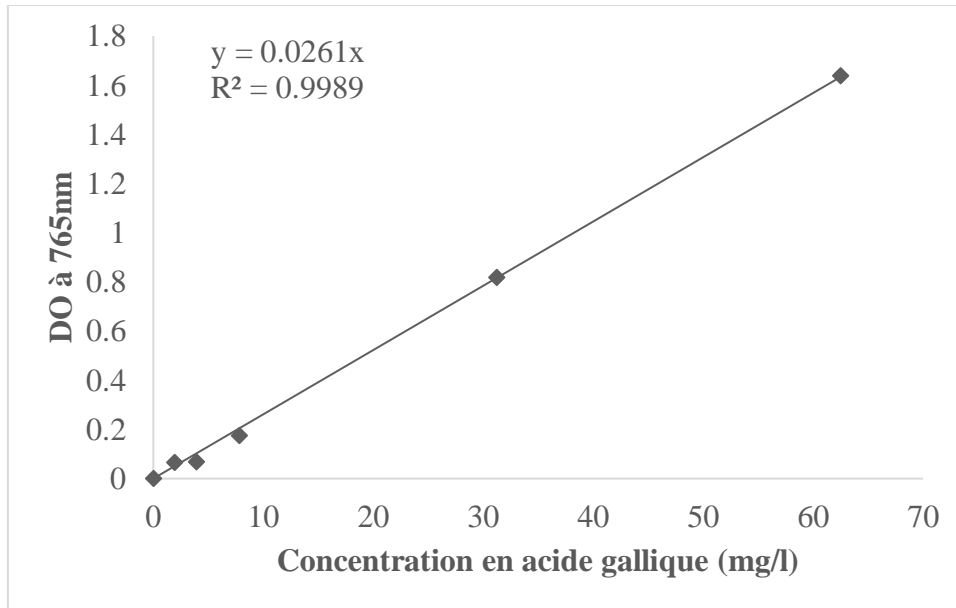
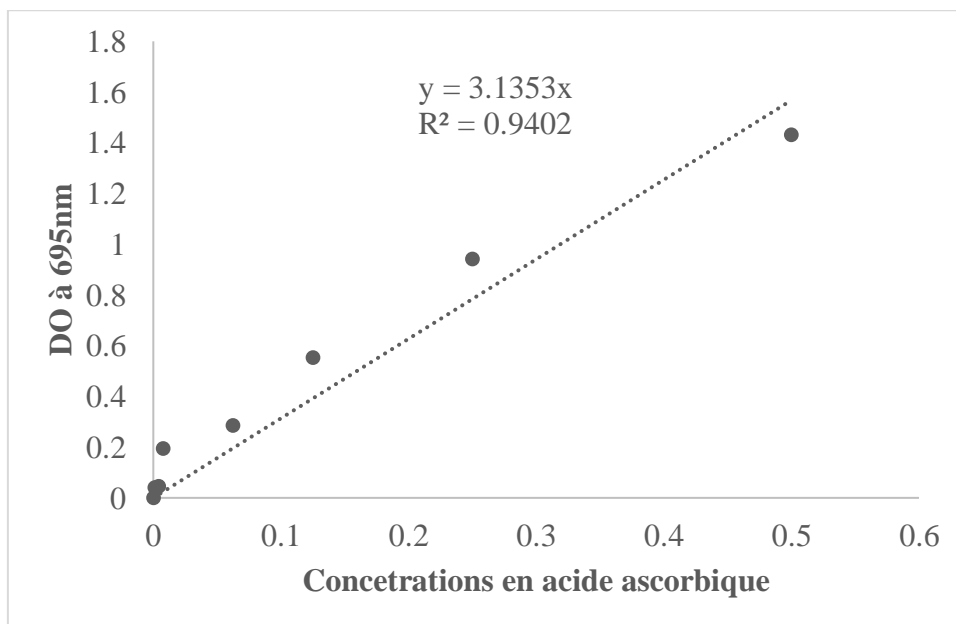
Les courbes d'étalonnage

Annexe 1 : Courbe d'étalonnage du glucose.



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de quercétine.



Annexe 3 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.**Annexe 4 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.**

Résumé

L'objectif de notre étude était de préparer une boisson probiotique non lactière à base de fruit de *Morus alba* fermenté par *Lactiplantibacillus plantarum* destinée aux personnes qui ne peuvent pas consommer les produits laitiers en raison d'une intolérance au lactose et aux personnes végétaliens.

Les résultats obtenus indiquent que la fermentation augmente la capacité antioxydante (jusqu'à : 18.9 ± 1.108 pour TAC, $92,99 \pm 0,926$ pour DPPH), ainsi que les composés bioactives et phytochimiques (polyphénols $57,38 \pm 1,827$ et flavonoïdes 18.9 ± 1.108). D'autre part, la conservation préserve la capacité antioxydante et la survie de la souche.

Alors que la digestion bucco-gastro intestinale, elle a des effets négatives sur la biodisponibilité des polyphénols et flavonoïdes et même la viabilité de la souche au cours de passage au tractus digestifs.

Abstract

The objective of our study was to prepare a non-dairy probiotic drink based on *Morus alba* fruit fermented by *Lactiplantibacillus plantarum* for people who cannot consume dairy products due to lactose intolerance and for vegans.

The results obtained indicate that fermentation increases antioxidant capacity (until: 18.9 ± 1.108 for TAC, $92,99 \pm 0,926$ for DPPH), as well as bioactive and phytochemical compounds (polyphenols $57,38 \pm 1,827$ and flavonoids 18.9 ± 1.108). On the other hand, conservation preserves the antioxidant capacity and the survival of the strain.

While bucco-gastrointestinal digestion, it has negative effects on the bioavailability of polyphenols and flavonoids and even on the viability of the strain during passage through the digestive tract.

ملخص

كان الهدف من دراستنا هو تحضير مشروب بروبيوتيك غير لبني أساسه فاكهة التوت الابيض المخمر بواسطة بكتيريا لبنية *Lactiplantibacillus plantarum* للأشخاص الذين لا يستطيعون تناول منتجات الألبان بسبب عدم تحمل اللاكتوز وللنباتيين.

تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن التخمير يزيد من قدرة مضادات الأكسدة (حتى: 18.9 ± 1.108 لـ TAC، 92.99 ± 0.926 لـ DPPH)، وكذلك المركبات النشطة بيولوجيًا والكيميائية النباتية (57.38 ± 1.827 polyphénols و 18.9 ± 1.108 flavonoïdes). من ناحية أخرى، يحافظ الحفظ على القدرة المضادة للأكسدة وبقاء السلالة. أثناء الهضم تبين أن له آثار سلبية على التوافر البيولوجي للبوليفينول والفلافونويدات وحتى على قابلية الإجهاد أثناء المرور عبر الجهاز الهضمي.