#### République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université A. Mira- Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie Spécialité : Biotechnologie et Santé



Réf																												
1/61	• •	٠	• •	• •	•	٠	•	• •	•	•	٠	٠	٠	٠	• •	•	٠	٠	٠	• •	•	•	٠	٠	٠	٠	٠	• •

# Mémoire de fin de cycle En vue l'obtention du diplôme MASTER

## Thème

Suivi de la qualité microbiologique et physico-chimique d'un jus d'orange probiotique, mis au point au laboratoire, au cours du stockage réfrigéré

Présenté par Mlles:

**BENTARA Kahina** 

**BELAID Kenza** 

Soutenu le : 24/06/2023

Devant le jury composé de :

Mme BENDALI Farida Pr Promotrice

Mr BARACHE Nacim M.C.B Président

Mme OUARABI Liza M.A.B Examinatrice

Année universitaire: 2022/2023

# **Dédicace**

Je dédie ce travail, qui n'aurait pu aboutir et voir la lumière sans l'aide de Dieu le tout puissant :

A mes très chers parents, symbole de courage et de volonté, qui ont consacré et sacrifié leur vie pour mon bien être ;

A mon adorable sœur et son mari: Nassima et Amine;

A mes très adorables frères : Badis et Yacine ;

A toute ma chère famille BENTARA et la famille de ma mère MOUSSOUNI;

A la meilleure promotrice Mme BENDALI;

A ma chère camarade et binôme : Kenza, que Dieu réalise tes vœux ;

A mes très chères copines pour tous les moments qu'on a passé ensembles :

Maissa, Ikram, Meriem, Dounia, Yasmina, Wissam et Ryma;

A tous les étudiants de ma promotion : Biotechnologie et Santé de l'année 2022-2023

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

Kahina

# **Dédicace**

Chaque jour qui passe je remercie ALLAH, et je le pris tout le temps de me donner la force de suivre le chemin qu'il ma tracé afin de mener à bien le destin qu'il ma prévu. Merci de m'avoir éclairé le chemin de la réussite.

#### Je dédie ce travail à :

Mes parents, je vous serai éternellement reconnaissante pour votre soutien, votre confiance et votre fierté.

Mon père Rabah, Tu es un pilier solide et incontournable pour ma personne et mon parcours, que Dieu te protège et te donne santé et longue vie.

Ma mère Ghania, qui m'a toujours donné plus qu'il ne le fallait, d'amour et de tendresse et sa constance à mes cotés dans les moments difficiles. Rien n'exprime ma gratitude.

Je prie Dieu de prendre soin de vous deux et de vous garder pour toujours dans ma vie.

Ma grand-mère BENDIF Yamina, la personne la plus idéale dans ce monde, c'est vrai quelle n'est pas avec nous pour récolter le fruit de ses sacrifices, mais elle reste toujours dans mon cœur. Repose en paix grand-mère.

A celui qui est tout le temps proche de moi, celui qui prend ma main et touche mon cœur et qui ma toujours encouragé pour réussir dans mes études : Mon cher frère Fouad.

Mes chères sœurs, Samia, Hanane, Lilia et Nawal.

A toute la famille parentale BELAID et maternelle AMIRAT, chacun par son nom.

A ma promotrice Mme BENDALI Farida pour tous les efforts et l'aide qu'elle nous a donné.

A ma chère camarade et Binôme Kahina et toute sa famille.

A mes chères amies Wahiba, Radia, Sonia, Hayat, Kahina, Saça, Rima, Lynda, Taous, Wissam, Sabrina, Fahima, Nissa, Soraya, Mélissa, Yasmine et Souad.

A toute la promotion Master 2 Biotechnologie et Santé de l'année 2022-2023.

A toutes les personnes qui de prés ou de loin m'ont apporté leur aide, je vous dédie du fond de mon cœur ce travail.

Kenza

#### REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, nous tenons tout d'abord à remercier le « bon Dieu » le tout puissant, de nous avoir accordé le courage, la patience et surtout la santé pour le réaliser.

Nous tenons à remercier vivement notre promotrice **Pr BENDALI Farida** pour sa disponibilité, ces conseils judicieux et ses encouragements. Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres de jury **Dr BARACHE Nacim** et **Dr OUARABI Liza** Pour l'honneur qu'ils nous font en examinant ce document et pour le temps et l'attention qu'ils ont bien voulu consacrer à ce travail.

#### Comme tout travail n'est que la consécration des efforts de toute une équipe :

Nos sincères remerciements vont au Directeur du laboratoire de recherche en Microbiologie Appliquée (LMA), en l'occurrence **Pr KECHA Mouloud**, de nous avoir accueilli au sein dudit laboratoire et d'avoir mis à notre disposition les moyens nécessaires pour mener à terme ce travail. Nous tenons à remercier tous les membres du LMA en particulier les doctorants Rania, Celia, Mohammed, Zahir, Zahra, Samia, Kahina et l'Ingénieur du laboratoire Nassima, qui nous ont permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Nos vifs remerciements vont à **Dr BARACHE Nacim**, membre du projet sur « la mise au point de jus probiotique », dirigé par Pr BENDALI F., qui n'a épargné aucun effort lors de la réalisation de cette partie.

Nos remerciements vos également au staff du département de Microbiologie, à savoir **Dr BOUKHALFA Farid** et **Mme BENACHOUR Karima** qui nous ont accompagné du mieux qu'ils pouvaient.

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel de l'unité TCHINA d'El Kseur (unité de Cevital) pour leur collaboration habituelle, ainsi que le personnel du laboratoire d'analyses privé « IDRES » pour nous avoir permis de réaliser certaines analyses à leur niveau.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Merci à tous.

#### Liste des abréviations

- **AT**: Acidité titrable.
- **DG18**: Dichloran Glycerol 18.
- **FTAM**: Flore Totale Aérobie Mésophile.
- **FMC**: Food Machinery Corporation.
- **FAO:** Food and Agriculture Organization.
- $\bullet$  L: Lactobicillus
- MRS: de Man Rogosa et Sharpe.
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
- **PCA**: Plate Count Agar.
- **pH**: Potentiel d'Hydrogène.
- **TSE**: Tryptone Sel Eau.
- **UFC**: Unité Formant Colonie.
- **UI**: Unité Internationale.

### Liste des figures

Figure 01 : Procédé de fabrication du pur jus et du concentré d'orange	4
Figure 02. Extracteur FMC	5
Figure 03. Photographie d'un extracteur Brown	5
Figure 04 : Revivification de la souche et standardisation de l'inoculum	. 22
<b>Figure 05 :</b> pH mètre (Marque Hanna® HI2210, Hanna Intruments) utilisé pour la mesure pH	
<b>Figure 06 :</b> Refractomètre (ATAGO, ATAGO Co., Ltd, Japon) utilisé pour la déterminat du <sup>o</sup> Brix	
Figure 07 : Evolution du pH du jus fermenté (probiotique) et du jus non fermenté (témo conservé à 6°C pendant 56 jours	
<b>Figure 08 :</b> Suivi de la survie et de la croissance de la souche probiotique <i>L. plantarum</i> dans le jus d'orange conservé à 6°C pendant 56 jours	

#### Liste des tableaux

Tableau I : Caractéristiques physico-chimiques du jus d'orange    8
<b>Tableau II :</b> Différentes techniques de pasteurisation du jus
Tableau III : Comparaison entre la composition d'un jus industriel classique et d'un jus         probiotique       19
<b>Tableau IV:</b> Acidité (g/L) du jus fermenté (probiotique) et non fermenté après 56 jours deconservation à 6°C
<b>Tableau V :</b> Degré Brix (%) du jus fermenté (probiotique) et non fermenté après 56 jours de conservation à 6°C
Tableau VI: Taux de la vitamine C (en % et en UI) du jus fermenté (probiotique) et
non fermenté après 56 jours de conservation à 6°C

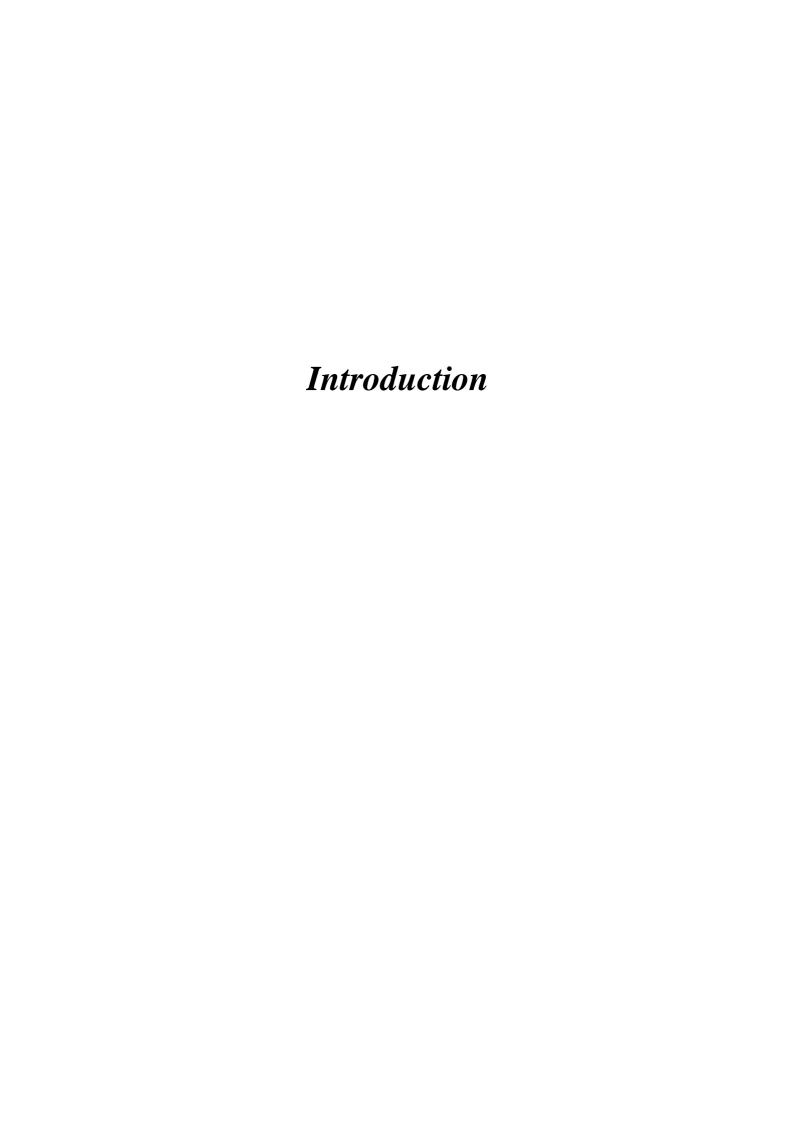
#### Sommaire

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
I. Généralités sur le jus d'orange	
I.1. Définition d'un jus d'orange	3
I.2. Production industrielle de jus d'orange	4
I.2.1. Triage et lavage des oranges	4
I.2.2. Extraction du jus	5
I.2.3. Raffinage et centrifugation	6
I.2.4. Pasteurisation	6
I.2.5. Conditionnement	6
I.3. Agents d'amélioration de la qualité de jus d'orange	7
I.3.1. Additifs	7
I.4. Caractéristiques physico-chimiques du jus d'orange	8
I.5. Intérêt alimentaire du jus d'orange	9
I.6. Flore naturelle du jus d'orange	10
I.7. Différents traitements thermiques du jus	10
I.7.1. Stérilisation	10
I.7.2. Appertisation	11
I.7.3. Pasteurisation	11
I.8. Effet de la conservation sur la qualité du jus d'orange	12
I.8.1. Effet sur la couleur du jus	
I.8.3. Effet sur la consistance du jus	13
I.9. Effet sur la salubrité du jus	14
II. Jus probiotiques	15
II.1. Définition d'un probiotique	15

II.2. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine
II.2.1. Elimination ou diminution de l'intolérance au lactose
II.2.2. Diminution du taux de cholestérol dans le sang
II.2.3. Amélioration de la santé digestive
II.2.4. Renforcement du système immunitaire
II.2.5. Amélioration de la santé mentale
II.2.6. Réduction des risques de maladies et régulation du poids
II.3. Aliments probiotiques
II.4. Jus de fruits probiotiques
II.4.1. Activité métabolique des probiotiques dans le jus
II.4.2. Différence entre un jus industriel classique et un jus probiotique
Partie pratique
I. Matériel et méthodes
I.1. Matériel biologique21
I.1. Matériel biologique
I.1.1. Souche bactérienne
I.1.1. Souche bactérienne
I.1.1. Souche bactérienne 21   I.1.2. Matrice d'origine végétale 21   I.2. Matériel non biologique 21
I.1.1. Souche bactérienne 21   I.1.2. Matrice d'origine végétale 21   I.2. Matériel non biologique 21   I.3. Préparation du jus d'orange probiotique 21
I.1.1. Souche bactérienne 21   I.1.2. Matrice d'origine végétale 21   I.2. Matériel non biologique 21   I.3. Préparation du jus d'orange probiotique 21   I.3.1. Préparation du jus d'orange 21
I.1.1. Souche bactérienne 21   I.1.2. Matrice d'origine végétale 21   I.2. Matériel non biologique 21   I.3. Préparation du jus d'orange probiotique 21   I.3.1. Préparation du jus d'orange 21   I.3.2. Revivification de la souche probiotique et standardisation de l'inoculum 22
I.1.1. Souche bactérienne 21   I.1.2. Matrice d'origine végétale 21   I.2. Matériel non biologique 21   I.3. Préparation du jus d'orange probiotique 21   I.3.1. Préparation du jus d'orange 21   I.3.2. Revivification de la souche probiotique et standardisation de l'inoculum 22   I.3.3. Préparation de la pré-culture 23
I.1.1. Souche bactérienne 21   I.1.2. Matrice d'origine végétale 21   I.2. Matériel non biologique 21   I.3. Préparation du jus d'orange probiotique 21   I.3.1. Préparation du jus d'orange 21   I.3.2. Revivification de la souche probiotique et standardisation de l'inoculum 22   I.3.3. Préparation de la pré-culture 23   I.3.4. Inoculation du jus d'orange 23
1.1.1. Souche bactérienne 21   1.1.2. Matrice d'origine végétale 21   1.2. Matériel non biologique 21   1.3. Préparation du jus d'orange probiotique 21   1.3.1. Préparation du jus d'orange 21   1.3.2. Revivification de la souche probiotique et standardisation de l'inoculum 22   1.3.3. Préparation de la pré-culture 23   1.3.4. Inoculation du jus d'orange 23   1.4. Dénombrement de la souche probiotique après 6 h de fermentation 23

II.	Ré	sulta	ts	et	discı	ıssi	on

II.1. Aspect du jus probiotique préparé	29
II.2. Résultats des analyses physico-chimiques du jus	29
II.2.1. Potentiel d'hydrogène (pH)	29
II.2.2. Acidité titrable	30
II.2.3. °Brix	31
II.2.4. Dosage de la vitamine C	32
II.3. Résultats des analyses microbiologiques	33
II.3.1. Dénombrement de la flore lactique	34
II.3.2. Dénombrement de la flore d'altération (FTAM, levures et moisissures)	35
Conclusion	37
Références bibliographiques	
Anneye	



#### Introduction

L'état nutritionnel de la population est affecté par une forte consommation de sucre, de sel et de graisses saturées et une faible consommation de fibres, de vitamines et de minéraux essentiels; ce qui est à l'origine des maladies chroniques dégénératives (Grantato et al., 2010). Par conséquent, ces dernières années le développement et la production de nouveaux aliments fonctionnels contenant, entre autres, des micro-organismes probiotiques ont suscité un intérêt considérable en raison de leurs propriétés bénéfiques sur la santé (Takiishi et Fenero, 2020). Parmi ces produits, les jus de fruits sont parmi les produits les plus innovants dans le secteur des aliments et des boissons (Bogue et Sorenson, 2009).

Les aliments probiotiques sont des produits transformés qui contiennent des microorganismes probiotiques viables dans une matrice appropriée et en concentration suffisante (**Sanders et al., 2016**). Dans la littérature scientifique, les quantités de 10<sup>6</sup> et 10<sup>7</sup> UFC/g sont considérées comme des doses thérapeutiques de cultures probiotiques dans les aliments transformés (**Talwalkar et al., 2004**).

Des études ont clairement démontré que le jus probiotique améliore la santé digestive, de plus ce dernier a des effets sur le système immunitaire et le bien être mental (**Chiang et al.**, **2021**). Le jus d'orange est l'un des jus de fruits le plus consommé au monde, car il offre une option nutritive avec une saveur agréable pour une large variété de consommateurs (**Ewais et al.**, **2021**).

Le contrôle physico-chimique et microbiologique des jus probiotiques dans l'industrie alimentaire est une étape cruciale qui a pour objectif d'évaluer la qualité, la stabilité et la salubrité de ces jus (**Khaje-laeini** et *al.*, 2021).

C'est dans ce cadre, que s'inscrit cette étude, qui fait suite à trois études déjà réalisées au niveau du laboratoire de Recherche en Microbiologie Appliquée, et qui a pour objectif de suivre la qualité physicochimique et microbiologique de deux types de jus d'orange : jus non fermenté, fabriqué industriellement sans conservateur chimique et un jus fermenté par une soucheprobiotique de *Lactiplantibacillus plantarum*.

Selon la disponibilité des moyens, nous avons réalisé deux types d'analyses : Analyses physicochimiques (suivi de l'évolution du pH durant 56 jours de conservation à 6°C, déterminations de l'acidité titrable, °Brix et dosage de la vitamine C au terme des 56 jours de conservation), analyses microbiologiques (suivi de l'évolution de la flore lactique dans le jus

fermenté et de la flore totale aérobie mésophile dans le jus non fermenté et des levures moisissures, dans les deux types de jus, durant les 56 jours de conservation).

A cet effet, notre étude comportera une partie bibliographique scindée en deux chapitres ; le premier donnant un aperçu sur le jus d'orange et le deuxième traitant des jus probiotiques et une partie pratique où nous décrierons la méthodologie suivie et les résultats obtenus. Enfin, une conclusion et des perspectives seront dégagées.

# Synthèse bibliographique

#### I. Jus d'orange

#### I.1. Définition d'un jus d'orange

Un jus d'orange est une boisson préparée en extrayant le liquide des oranges. Il est particulièrement apprécié pour sa saveur fraîche et considéré comme hautement nutritif pour sa haute teneur en vitamines C, en minéraux et en antioxydants (Galaverna et al., 2008).

Au niveau de l'Union Européenne (UE), suivant le Journal Officiel de l'Union Européenne (JOUE) N° L 010, les jus de fruits sont réglementés par la Directive 2001/112/CE du Conseil du 20 décembre 2001 relative aux jus de fruits et à certains produits similaires destinés à l'alimentation humaine (JOUE, 2001). Elle définit le jus comme suit : « Le produit fermentescible mais non fermenté obtenu à partir des parties comestibles de fruits sains et mûrs, frais ou conservés par réfrigération ou congélation, d'une espèce ou de plusieurs espèces en mélange, possédant la couleur, l'arôme et le goût caractéristiques du jus des fruits dont il provient » (JOUE, 2001).

En Algérie, suivant le Journal Officiel de la République Algérienne (JORA) N°40 du 15 Juin 2022, les jus de fruits sont réglementés par l'arrêté interministériel du 18 Chaâbane 1443 correspondant au 21 mars 2022 portant adoption du règlement technique relatif aux jus et nectars de fruits, jus de légumes et boissons aux jus de fruits et/ou de légumes (JORA, 2022).

Il définit le jus comme suis : «produit liquide non fermenté, mais fermentescible, tiré de la partie comestible de fruits frais, sains, parvenus au degré de maturité approprié ou de fruits conservés dans de saines conditions par des moyens adaptés et/ou par des traitements de surface post-récolte. Il est obtenu par des procédés adaptés qui conservent les caractéristiques physiques, chimiques, organoleptiques et nutritionnelles essentielles des jus du fruit dont il provient, il peut être trouble ou clair et peut contenir des substances aromatiques et des composés volatils restitués, à condition qu'ils proviennent des mêmes espèces de fruits et soient obtenus par des moyens physiques adaptés ». (JORA, 2022).

#### I.2. Production industrielle d'un jus d'orange

L'industrie de jus d'orange comporte un grand nombre d'opérations. La figure 01 présente les différentes étapes de fabrication d'un pur jus d'orange et d'un concentré (Berlinet, 2006).

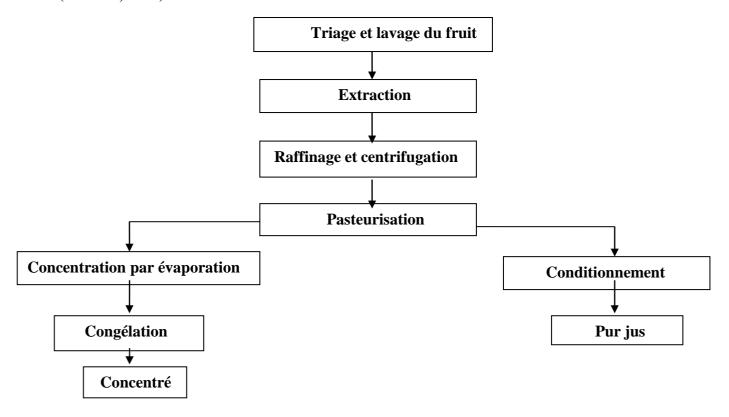


Figure 01. Procédé de fabrication du pur jus et du concentré d'orange (Berlinet, 2006)

#### I.2.1. Triage et lavage des oranges

Les fruits destinés à la production de boisson sont frais et pas trop mûrs. Le pourcentage de jus que l'on peut extraire varie entre 60% et 80%, ce qui peut varier selon la variété de fruits, mais surtout en fonction de leur degré de maturité. Si les fruits sont trop mûrs, le rendement est considérablement réduit. Les étapes de broyage et de pressage sont effectuées rapidement pour minimiser l'oxydation des fruits broyés (**Anonyme, 2000**).

#### I.2.2. Extraction du jus

Deux technologies d'extraction de jus sont le plus souvent utilisées : l'extracteur Brown et le procédé FMC (Food Machinery Corporation). Le procédé Brown consiste à diviser les oranges en deux avant de les presser à l'aide de deux hémisphères perforées, l'une étant concave et l'autre convexe. L'extracteur Brown effectue un « fraisage » de chaque partie du fruit (figure 02). Quant au procédé FMC (figure 03), une coupelle supérieure descend et pousse le fruit sur le couteau circulaire inférieur. Les coupelles maintiennent le fruit en place tandis que les composants internes sont aspirés dans le tube tamis par le mouvement descendant du piston. Les particules de grande taille, telles que les pépins, sont éliminées par le centre creux du piston. Le procédé FMC est le plus couramment utilisé car il permet de récupérer les huiles essentielles pendant l'extraction du jus (Berlinet, 2006).



**Figure 02.** Photographie d'un extracteur Brown (<u>www.directindustry.fr</u>).

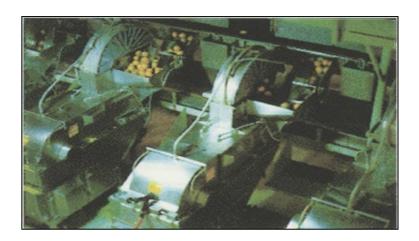


Figure 03. Extracteur FMC (Ultimate citrus, 2002) cité par (Clotteau, 2002).

#### I.2.3. Raffinage et centrifugation

Après avoir été extrait, que ce soit par la méthode FMC ou par l'extracteur Brown, le jus d'orange est très riche en pulpe et contient des fragments de pépins ainsi que d'autres impuretés. Il subit ensuite une phase de purification, appelée "finishing" en anglais, avant d'être soumis à un traitement thermique. Le jus est chauffé à 50°C dans des échangeurs de chaleur tubulaires, puis est dégazé dans des cuves sous vide. Cette étape est avantageuse pour le fabricant car elle empêche la formation de mousse et l'oxydation du produit. Après avoir été dégazé, le jus ne doit pas être conservé plus d'une heure avant d'être pasteurisé (**Berlinet**, **2006**).

#### I.2.4. Pasteurisation

C'est une étape essentielle pour assurer la stabilité microbiologique du produit sur le site de production, et elle doit être effectuée rapidement après l'extraction. Sauf pour une petite quantité de jus consommé frais (sans traitement thermique), la pasteurisation est le traitement thermique le plus couramment utilisé pour la conservation des jus de fruits. Ce processus vise à éliminer les micro-organismes et à désactiver les enzymes qui pourraient altérer le produit ou le rendre inapproprié à la consommation humaine. Il est réalisé selon un temps-température spécifique qui peut varier mais qui dure généralement de 30 à 60 secondes. Pour le jus pur, la température est rapidement portée à 90-96°C dans des échangeurs de chaleur tubulaires, puis elle est abaissée en une trentaine de secondes jusqu'à une température de quelques degrés, ce qui est appelé "flash pasteurisation" (Chen et al., 1993).

Les consommateurs devraient percevoir que les jus non pasteurisés ou ceux légèrement chauffés ont de meilleurs arome et saveur que les jus ayant subi un traitement thermique plus poussé (Claveau, 2009).

#### I.2.5. Conditionnement

Le mode de conditionnement aseptique est de plus en plus adopté par les fabricants. Afin de prolonger la durée de conservation des produits finis et de minimiser les pertes; les jus de fruits peuvent êtres empaquetés de manière aseptique ou stockés et distribués dans des conditions réfrigérées proches du point de congélation jusqu'à leur vente au détail. Les jus de fruits sont emballés dans divers types de contenants : des récipients en verre (souple), des bouteilles en plastique ou une combinaison de plastique, de papier et d'aluminium. Les

matériaux utilisés pour le conditionnement sont conçus pour garantir la stabilité et la protection des aliments (Claveau, 2009).

#### I.3. Agents d'amélioration de la qualité de jus d'orange

#### I.3.1. Additifs

Les additifs sont des substances ajoutées en petite quantité, permettent notamment d'aider à la conservation en empêchant la présence et le développement de microorganismes indésirables. Ils permettent de (Anonyme, 2011):

- Prévenir ou diminuer l'oxydation qui peut causer la détérioration des graisses ou le brunissement des fruits et légumes coupés, on utilise des produits anti-oxygène ou antioxydants.
- Améliorer l'apparence ou la consistance, on utilise des agents de texture tels que des émulsifiants, des stabilisants, des épaississants ou des gélifiants.
- Donner ou renforcer la couleur des aliments, on utilise des colorants.

#### Vitamines

L'ajout des vitamines dans les boissons aux fruits peut avoir plusieurs objectifs (Anonyme, 2011):

- Rétablissement de la qualité originale de la boisson qui a été altérée pendant la production.
- Renforcement de la teneur en vitamine de la boisson et communication sur cette valeur ajoutée auprès du consommateur.
- Ajout en tant que colorant.
- Ajout en tant qu'antioxydants pour garantir une conservation optimale de la boisson au cours de son vieillissement.

#### • Conservateurs chimiques

Il existe divers types de conservateurs chimiques qui peuvent être ajoutés aux jus de fruits. Par exemple, l'acide sulfurique (0,005-0,2 %) empêche la prolifération de levures, de moisissures et de bactéries. Le dioxyde de soufre (SO<sub>2</sub>) est souvent utilisé pour préserver la

couleur des fruits lors du séchage. L'acide ascorbique et le sorbate de potassium sont souvent utilisés pour inhiber la croissance de moisissures et de levures. L'acide benzoïque (0,03-0,2 %), sous la forme de benzoate de sodium, est un conservateur couramment utilisé et convient bien pour les aliments acides. Il est souvent utilisé en combinaison avec de l'acide ascorbique, à des taux de 0,05-0,1 % du poids. L'acide citrique est largement utilisé dans les boissons gazeuses, mais également comme agent acidifiant dans les aliments. Il est considéré comme l'un des agents antimicrobiens les moins efficaces parmi les autres acides (Azam-Ali, 2008) cité par (Khaldi, 2022).

#### Colorants

Parmi les colorants utilisés on a les caroténoïdes (E160a), il s'agit de pigments de couleur jaune, orange et rouge précurseurs de la vitamine A, rencontrés dans les végétaux : fruits (orange), légumes (carottes), ou chez certains animaux (**Anonyme, 2011**).

#### I.4. Caractéristiques physico-chimiques du jus d'orange

Les caractéristiques physico-chimiques générales du jus d'orange naturel sont rassemblées dans le tableau I.

**Tableau I.** Caractéristiques physico-chimiques du jus d'orange naturel (**Espiard**, **2002**)

Paramètres	Valeurs
Indice réfractométrique	12% à 14%
Densité	1050 à 1060
Teneur en sucres	10 à 120 g/L
Acidité (en acide citrique)	13 à 15 g/L
Rapport sucres-	6,5 à 9,5
acidespH	3,2 à 3,5
Teneur en acide ascorbique (Vitamine C)	50 mg/100 mL
Huiles essentielles dans le jus	0,3-0,5 mL

L'union européenne (UE) a établi des normes pour les jus de fruits, y compris le jus d'orange, par la Directive 2012/12/UE du parlement européenne et du conseil 19 avril 2012 modifiant la directive 2001/112/CE du Conseil relative aux jus de fruits et à certains produits similaires destinés à l'alimentation humaine. Selon ces normes, le jus d'orange doit contenir 100 % de jus d'orange naturel sans aucun ajout d'autres substances. Il doit également répondre à des critères spécifiques pour le taux d'acidité, °Brix, la teneur en sucre, la teneur en vitamine C et d'autres caractéristiques organoleptiques (JOUE, 2012) :

- o **Acidité** : Le taux d'acidité du jus d'orange ne doit pas dépasser 1,0 % d'acide citrique.
- o "**Brix**: Pour le jus d'orange, le "Brix doit être d'au moins 11,0.
- o **Teneur en sucre** : La teneur en sucre du jus d'orange ne doit pas être inférieure à 8,5 g pour 100 mL de jus.
- Vitamine C : Le jus d'orange doit contenir une quantité minimale de vitamine C, qui est fixéeà 20 mg pour 100 mL de jus.
- Caractéristiques organoleptiques : Le jus d'orange doit également répondre à des critères spécifiques en termes de goût, d'odeur, de couleur et de consistance, afin de garantir une qualité organoleptique acceptable.

#### I.5. Intérêt nutritionnel du jus d'orange

Les agrumes constituent d'importantes sources de nutriments, qui peuvent diminuer le risque de mortalité liée à certaines pathologies, notamment le cancer. L'orange, qui fait partie de ces agrumes, est très bénéfique pour la santé (Gil-Izquierdo, 2002).

L'orange, disponible tout au long de plusieurs mois (en particulier durant la saison hivernale), peut être considéré comme l'élément de base pour garantir un apport optimal en vitamine C. Une orange de taille moyenne permet de couvrir pratiquement l'apport quotidien recommandé. Elle contient également des quantités intéressantes de minéraux variés, notamment du calcium facilement assimilable par l'organisme, du potassium et du magnésium, ainsi que des fibres bien tolérées (**Dhuique-Mayer**, 2007). La saveur amère et aromatique de la pulpe d'orange stimule l'appétit et facilite la digestion (**Ozturk et Yilmaz** 

(2017). L'orange possède des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydants et anticancéreuses. Elle réduit la pression artérielle et traite l'obésité (M'Hiri, 2015).

#### I.6. Flore naturelle du jus d'orange

La flore naturelle du jus d'orange est composée d'une variété de micro-organismes, y compris des bactéries, des levures et des moisissures. Ces micro-organismes peuvent être présents dans le fruit lui-même, dans l'eau utilisée pour la production du jus, ou encore dans l'environnement où le jus est manipulé. Les micro-organismes les plus courants dans le jus d'orange sont les bactéries acétiques, les levures du genre *Candida* et les moisissures du genre *Penicillium* et *Aspergillus* (**Kim et al., 2013 ; Sivamaruthi et al., 2018**).

Cette flore microbienne peut varier en fonction des conditions de production et de conservation du jus d'orange (**Sivamaruthi et** *al.*, **2018**).

#### I.7. Différents traitements thermiques du jus

Les procédés de chauffage ou traitements thermiques sont couramment employés dans l'industrie alimentaire pour garantir la préservation et la salubrité des produits. Néanmoins, on peut les qualifier de « pasteurisation » lorsque leur fonction se limite à éradiquer les formes végétatives des micro-organismes pathogènes, ou de « stérilisation » lorsque le traitement élimine toute présence de vie. Les méthodes thermiques sont également utilisées dans certaines situations pour optimiser la présence de nutriments, telles que l'amélioration de la digestibilité d'une protéine. De plus, une température supérieure à 85°C permet d'activer les propriétés de la pectine, qui peut être un agent gélifiant, épaississant ou stabilisant (Bazinet et Castaigne, 2019). On en distingue :

#### I.7.1. Stérilisation

La stérilisation est définie comme un processus de suppression ou d'éradication totale de toutes les formes de vie microbienne (y compris les formes végétatives et les spores), qui est réalisé par différents procédés physiques et chimique Généralement, le barème (température / temps) appliqué pour la stérilisation du jus est de 140 à 150°C/ quelques secondes (Mohapatra, 2017).

#### I.7.2. Appertisation

L'appertisation est un traitement thermique qui implique le chauffage des denrées périssables dans des contenants étanches aux liquides, gaz et micro-organismes (comme des boîtes métalliques ou des bocaux) afin de les stériliser par la chaleur. Les aliments sont chauffés à une température comprise entre 110 et 120°C, ce qui élimine tous les micro-organismes et enzymes capables de les altérer ou de les rendre impropres à la consommation pendant plusieurs mois. Bien que cette technique ait un effet négatif sur les qualités gustatives des aliments, elle offre l'avantage de préserver en grande partie leurs qualités nutritionnelles. Pour réaliser cette méthode, un autoclavage est effectué (Capellas et al., 2006).

L'appertisation est une méthode de conservation largement utilisée pour le jus d'orange. Elle consiste à chauffer le jus à une température élevée pour tuer les microorganismes, puis à le sceller hermétiquement dans des récipients stériles pour prévenir toute contamination ultérieure. Cette méthode permet de prolonger la durée de conservation du jus d'orange (**Reineccius**, 2005).

#### I.7.3. Pasteurisation

La pasteurisation est un traitement thermique qui implique de chauffer un produit à des températures comprises entre 60 et 100°C dans le but de détruire tous les microorganismes pathogènes non sporulés et de réduire considérablement la flore végétative. C'est une méthode de conservation limitée, qui nécessite une mise en conditionnement hermétique qui signifie un conditionnement qui prévient l'entré d'aire, d'humidité ou d'autres contaminants extérieurs, afin de maintenir la qualité et la sécurité des aliments et une réfrigération (le produit pasteurisé peut être conservé à +4°C pendant quelques jours à quelques semaines) (Chillet, 2011).

Les différentes techniques de pasteurisations appliquées pour les jus ainsi que leurs barèmes correspondants sont illustrées dans le tableau II ci-dessous.

**Tableau II.** Différentes techniques de pasteurisation du jus (Chillet, 2011).

Nom de la technique de la pasteurisation	Température appliquée	Durée de traitement
Pasteurisation haute	70-75°C	Quelques minutes
Flash pasteurisation	+95°C	Quelques secondes

#### I.8. Effet de la conservation sur la qualité du jus d'orange

La conservation du jus d'orange peut altérer ses propriétés sensorielles (couleur, saveur, consistance...).

#### I.8.1. Effet sur la couleur du jus

L'oxydation est l'un des principaux mécanismes qui peut affecter la couleur du jus d'orange. Lorsque le jus d'orange est exposé à l'air, l'oxygène réagit avec les composants du jus, tels que les caroténoïdes, les flavonoïdes et les acides aminés, entrainant une décoloration et une altération de la qualité du jus. Les caroténoïdes, en particulier le bêta-carotène, sont particulièrement sensibles à l'oxydation et peuvent être transformés en composés incolores ou bruns. La formation de composés d'oxydation peut également entraîner la production de composés volatils qui peuvent affecter l'arôme du jus. La dégradation des pigments est un autre facteur qui peut influencer la couleur du jus d'orange. Les pigments, tels que les caroténoïdes et les flavonoïdes, sont des composants importants du jus d'orange qui contribuent à sa couleur caractéristique. Cependant, ces pigments sont sensibles à la lumière, à la chaleur et à l'oxygène, et peuvent se dégrader au fil du temps, entraînant une altération de la couleur du jus (Nayak et al., 2014; Gies et al., 2019).

Si le jus est stocké dans des conditions appropriées, comme dans un récipient opaque et à une température basse, il sera moins exposé à l'air et à la lumière, ce qui réduira les réactions chimiques qui entraînent un changement de couleur. En revanche, si le jus est stocké dans des conditions inappropriées, comme à température ambiante et exposé à la lumière, les

réactions chimiques auront tendance à se produire plus rapidement, entraînant une altération plus rapide de la couleur (Corrêa et al., 2019).

#### I.8.2. Effet sur la saveur du jus

La conservation peut influencer le goût d'un jus d'orange. Voici quelques points clés sur l'effet de la conservation sur la saveur :

- Oxydation: L'oxydation du jus d'orange peut causer une altération des composés aromatiques et une réduction de la saveur agréable. Les réactions d'oxydation, telles que l'oxydation des acides aminés et des acides gras insaturés, peuvent produire des composés volatils indésirables, comme les aldéhydes et les cétones, qui contribuent à un goût rance et désagréable. De plus, les antioxydants naturels présents dans le jus d'orange, tels que la vitamine C, peuvent également se détériorer lors de l'oxydation, ce qui peut altérer la saveur (Phisut et Jangchud, 2012).
- Dégradation des composés volatils : Les composés volatils sont une contribution importante à la saveur distinctive du jus d'orange. Toutefois, ils sont sensibles aux conditions de stockage inappropriées. L'exposition à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène peut provoquer la détérioration de ces éléments volatils, ce qui se traduit par une perte de saveur et un goût moins frais (**Tian et** *al.*, **2019**).
- Fermentation: Si la conservation du jus d'orange n'est pas adéquate, des micro-organismes tels que des levures et des bactéries peuvent se multiplier. Ces micro-organismes ont la capacité de transformer les sucres naturels du jus en acides organiques et autres composés métaboliques qui modifient son goût. Cela peut donner au jus d'orange une saveur acidulée, vinaigrée ou même légèrement alcoolisée (Selani et al., 2008).

#### I.8.3. Effet sur la consistance du jus

La conservation du jus d'orange peut affecter sa consistance en raison de processus tels que la séparation, la dégradation des composants et la perte d'humidité (**Faria et** *al.*, **2015**).

- **Séparation**: Au fil du temps, le jus d'orange peut se séparer en deux phases distinctes, une phase liquide et une phase solide. Cela est dû à la sédimentation des particules insolubles, telles que les pulpes et les fibres, vers le bas du récipient. Pour éviter cela, il est recommandé de bien agiter le jus avant de le consomme (**Mankowski et O'Bryan, 2020**).

- Dégradation des composants: Les composants du jus d'orange, tels que les sucres, les acides et les composés aromatiques, peuvent subir des modifications chimiques au fil du temps. Par exemple, l'oxydation des acides peut entraîner une baisse de l'acidité et un goût altéré. La détérioration des pigments naturels, comme la vitamine C et les caroténoïdes, peut altérer la couleur du jus et réduire sa valeur nutritionnelle (Park et Kim, 2015).
- **Perte d'humidité**: Le jus d'orange peut perdre de l'eau au cours de stockage, ce qui peut causer une augmentation de la concentration des substances dissoutes. Cela peut se manifester par une texture plus dense ou visqueuse de la boisson (**Casquete et al., 2019**).

#### I.8.4. Effet sur la salubrité du jus

La conservation joue un rôle essentiel dans la salubrité du jus d'orange. Plusieurs facteurs peuvent affecter la salubrité, tels que la contamination microbienne, l'oxydation et la dégradation des nutriments. Voici quelques effets de la conservation sur la salubrité du jus d'orange :

- Contamination microbienne : La sécurité des jus de d'orange est une préoccupation de premier ordre. Les jus d'orange peuvent être contaminés par des micro-organismes pathogènes tels que *Salmonella*, *Escherichia* coli et *Listeria monocytogenes*, ce qui peut causer des problèmes de santé s'ils sont consommés. Des méthodes de conservation telles que la pasteurisation, qui consiste à chauffer le jus à une température élevée pendant une courte période, sont couramment utilisées pour éliminer les micro-organismes pathogènes et assurer la sécurité du produit (Bevilacqua et al., 2020).
- Dégradation des nutriments: Le jus d'orange est une source importante de vitamine C et d'autres nutriments bénéfiques pour la santé. Cependant, ces nutriments peuvent se détériorer avec le temps à cause de divers facteurs tels que la lumière, la chaleur et l'exposition à l'oxygène. La conservation adéquate, notamment la réfrigération à des températures basses, peut aider à préserver les nutriments sensibles à la chaleur. De plus, l'utilisation de contenants opaques ou de matériaux d'emballage qui bloquent la lumière peut également contribuer à maintenir la teneur en nutriments du jus d'orange (Paster et al., 2021).

#### II. Jus probiotique

#### II.1. Définition d'un probiotique

Le terme probiotique est composé de deux mots grecs « pros » et « bio » qui littéralement « pour la vie ». Selon la définition actuelle de la FAO et OMS; « les probiotique sont des micro-organismes vivants, qui une fois administrés en quantités adéquates ont des effets bénéfiques pour la santé de l'hôte » (Fijan, 2014). Ces micro-organismes sont habituellement des cultures simples ou mixtes qui augmentent les caractéristiques de la flore microbienne endogène, jouent un rôle clé dans la digestion et ont un impact sur le système immunitaire. Il est important de noter que la définition actuelle pourrait encore être modifiée à l'avenir, étant donné que les domaines de recherche sont vastes et qu'une meilleure compréhension des effets de ces probiotique est en cours (Lebeer et al., 2018).

De multiples études scientifiques démontrent que les probiotiques ont une influence significative sur les mécanismes immunitaires, digestifs et respiratoires et qu'ils peuvent contribuer à la prévention des pathologies infectieuses (Garcia-Gonzalez et al., 2021).

#### II.2. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine

Plusieurs avantages pour la santé sont attribués à l'ingestion des probiotique dont certains ont été prouvés scientifiquement et d'autres nécessitent encore des études plus approfondies chez l'homme (**Bouguerra**, **2021**).

#### II.2.1. Elimination ou diminution de l'intolérance au lactose

Les probiotiques inhibent la croissance, l'activité métabolique et l'adhésion aux cellules intestinales des bactéries entéropathogènes telles que *Salmonella*, *Shigella* ou *E. coli* (Alard, 2017).

#### II.2.2. Diminution du taux de cholestérol dans le sang

La capacité des lactobacilles à métaboliser les acides biliaires impliqués dans la production de cholestérol met en évidence l'impact bénéfique de ces bactéries dans la régulation du métabolisme humain (Chemlal-Kheraz, 2013).

#### II.2.3. Amélioration de la santé digestive

#### **Équilibre de la flore intestinale**

Les probiotiques peuvent coloniser l'intestin et maintenir un équilibre sain de la flore intestinale. Une flore intestinale équilibrée favorise une digestion efficace avec une meilleure absorption des nutriments et une réduction des troubles digestifs (Hill et al., 2014).

#### Prévention de la constipation

Certains probiotiques ont démontré leur capacité à améliorer la régularité des selles et à prévenir la constipation. Ils agissent en augmentant la fréquence des contractions intestinales et en favorisant le passage des nutriments à travers le système digestif (**Dimidi et al., 2017**).

#### ➤ Réduction des problèmes gastro-intestinaux

Les probiotiques peuvent être avantageux dans le traitement de divers troubles gastrointestinaux, tels que le syndrome du côlon irritable, la maladie inflammatoire de l'intestin et la diarrhée associée aux antibiotiques. Ils aident à rétablir l'équilibre de la flore intestinale altérée et à diminuer l'inflammation dans l'intestin (Quigley, 2017).

#### > Renforcement de la barrière intestinale

Les micro-organismes probiotiques augmentent la résistance de la muqueuse intestinale en favorisant la solidité des cellules épithéliales qui la constituent. Cela peut aider à prévenir les fuites intestinales et à limiter la pénétration de substances indésirables dans l'organisme, et qui est fréquemment lié à des troubles digestifs (**Resta-Lenert et Barrett, 2003**).

#### II.2.4. Renforcement du système immunitaire

#### > Modulation de la réponse inflammatoire

Les probiotiques ont la capacité de réguler la production de cytokines, qui sont des substances impliquées dans l'inflammation, afin de moduler la réponse inflammatoire de l'organisme. Un dérèglement de cette réaction peut favoriser l'apparition de maladies autoimmunes et accroître la vulnérabilité face aux infections. Les probiotiques contribuent ainsi à maintenir une réponse inflammatoire équilibrée (**Plaza-Díaz et al., 2020**).

#### > Activation des cellules immunitaires

Les probiotiques peuvent stimuler l'activité des cellules immunitaires, telles que les cellules tueuses naturelles (*natural killer cells*) et les lymphocytes T, qui sont des éléments clés dans la lutte contre les infections. Ils renforcent également la production d'anticorps, ce qui contribue à une réponse immunitaire plus efficace (**Proença et al., 2021**).

#### II.2.5. Amélioration de la santé mentale

Il existe une relation étroite entre l'intestin et le cerveau, connue sous le nom d'axe intestin-cerveau. Les probiotiques peuvent influencer positivement cet axe, ce qui peut avoir des effets bénéfiques sur la santé mentale. Ils peuvent réduire les symptômes de l'anxiété et de la dépression, améliorer l'humeur et le bien-être mental (Slyepchenko et al., 2014). La consommation de probiotiques a des effets positifs sur la santé mentale et la qualité de vie chez les adultes en bonne santé (Allen et al., 2021).

#### II.2.6. Réduction des risques de maladies et régulation du poids

La consommation régulière de jus probiotiques peut aider à prévenir certaines maladies, notamment les infections respiratoires, les maladies cardiovasculaires et le diabète de type 2 (**Sun et al., 2018**). Certains probiotiques présents dans les jus probiotiques peuvent influencer le métabolisme et la régulation du poids (**Sanchez et al., 2014**). La consommation régulière de probiotiques peut favoriser la perte de poids chez les personnes en surpoids (**Borgeraas et al., 2018**).

#### II.3. Aliments probiotiques

Un aliment probiotique est un aliment contenant des micro-organismes vivants bénéfiques pour la santé humaine lorsqu'il est consommé en quantités suffisante. Ces micro-organismes, habituellement des bactéries ou des levures, ont la capacité de s'établir et de se multiplier dans le tube digestif, où ils ont des effets positifs sur l'équilibre de la flore intestinale et la santé globale. Les probiotiques peuvent être trouvés naturellement dans certains aliments fermentés, tels que le yaourt, le kéfir, la choucroute, le kimchi et le miso. Cependant, de nos jours, les probiotiques sont également ajoutés à divers produits alimentaires, notamment des boissons, des céréales, des barres énergétiques et des compléments alimentaires (Hill et al., 2014).

#### II.4. Jus de fruits probiotiques

Le jus de fruit contenant des probiotiques est une boisson fonctionnelle qui contribue à améliorer la santé et la nutrition, et qui procure des avantages physiologiques à ceux qui la consomment. Cette boisson est élaborée à partir de micro-organismes vivants lors du processus de fermentation (Nagpal et al., 2012).

Une boisson probiotique contient des micro-organismes vivants ajoutés dans un but fonctionnel et bénéfique pour la santé, en particulier pour réguler le microbiote intestinal de l'individu après leur consommation. Elle peut également avoir des propriétés préventives contre diverses maladies (Kandylis, 2016).

#### II.4.1. Activité métabolique des probiotiques dans le jus

Les probiotiques peuvent fermenter certains sucres présents dans le jus, ce qui consiste en un processus métabolique qui permet aux probiotiques de se multiplier et de produire des métabolites bénéfiques en utilisant les sucres comme source d'énergie (Plaza-Díaz et al., 2019).

Lorsqu'on incorpore des bactéries probiotiques à un jus, elles entament la dégradation des sucres contenus dans celui-ci, tels que le saccharose, le fructose et le glucose, à l'aide d'enzymes spécifiques appelées glycosidases. Ces enzymes scindent les liaisons des sucres complexes pour les transformer en sucres simples plus facilement fermentescibles. Les bactéries lactiques, en particulier, peuvent métaboliser ces sucres simples pour produire de l'acide lactique (Xiong et Guan, 2018).

La synthèse d'acide lactique résulte de la fermentation métabolique des probiotiques. Cette réaction diminue le pH du jus, produisant ainsi un milieu acide favorable à la croissance des probiotiques, tout en inhibant la prolifération de micro-organismes nuisibles. En outre, l'acide lactique confère un goût acidulé caractéristique aux produits fermentés (**Ouwehand et al., 2012**).

#### II.4.2. Différence entre un jus industriel classique et un jus probiotique

Un jus artificiel industriel et un jus probiotique diffèrent à la fois dans leur composition et leurs effets sur la santé (Sanders et al., 2014). Voici une comparaison concise entre les deux.

#### - Composition

La composition d'un jus artificiel industriel t d'un jus probiotique est donnée dans le tableau III.

**Tableau III.** Comparaison entre la composition d'un jus industriel classique (**FDA**, 2020) etd'un jus probiotique (**Gibson et** *al.*, 2017).

Jus industriel classique	Jus probiotique
<ul> <li>Fabriqué à partir de concentrés de fruits;</li> <li>Eau;</li> <li>Peut contenir des additifs alimentaires pour améliorer la saveur et prolonger la durée de conservation :</li> <li>Aromes artificiels;</li> <li>Colorants;</li> <li>Conservateurs;</li> <li>Parfois édulcorants;</li> </ul>	<ul> <li>Généralement extrait à partir des fruits ou/et légumes frais ou fabrique à partir de concentrés de jus;</li> <li>Contient des souches spécifiques de bactéries probiotiques tels que : L. acidophilus, Bifidobacterium lactis, Lactiplantibacillus plantarum, et d'autres espèces qui doivent être en quantités suffisantes;</li> <li>Peut contenir des: <ul> <li>Sucres naturels provenant du jus de fruits ou de légumes;</li> <li>Edulcorants pour améliorer la saveur et l'acceptabilité du produit.</li> </ul> </li> </ul>

#### - Effets sur la santé

Les jus artificiels industriels peuvent contenir une quantité élevée de sucre ajouté, ce qui peut avoir un impact négatif sur la santé, en particulier lorsqu'ils sont consommés en excès. Ils peuvent également manquer de certains nutriments naturellement présents dans les fruits frais, tels que les fibres alimentaires et certains antioxydants. Une association entre la consommation régulière de jus de fruits industriels et un risque accru d'obésité, de diabète de type 2 et de maladies cardiovasculaires a été démontée (Malik et al., 2013).

Les jus probiotiques sont des boissons fermentées contenant des bactéries bénéfiques pour la santé, telles que les lactobacilles et les bifidobactéries. Ces jus sont souvent riches en nutriments et peuvent avoir plusieurs effets positifs sur la santé (Marco et al., 2021).

Certains jus probiotiques aident à maintenir l'équilibre hormonal dans l'organisme. Cela peut être particulièrement bénéfique pour les femmes souffrant de déséquilibres hormonaux, tels que le syndrome prémenstruel (SPM) ou la ménopause (Chiang & Ismail, 2019).

Certains jus probiotiques peuvent contribuer à rétablir l'équilibre de la flore intestinale en augmentant la présence de bactéries bénéfiques. Cela peut favoriser la digestion et empêcher l'apparition de problèmes gastro-intestinaux tels que la constipation, la diarrhée et le syndrome de l'intestin irritable (**McFarland, 2010**).

Certains jus probiotiques pourraient aider à atténuer les symptômes allergiques, notamment l'eczéma et les allergies alimentaires. Les probiotiques peuvent moduler la réponse immunitaire et réduire l'inflammation associée aux allergies (Cuello-Garcia et *al.*, 2017).

# Partie pratique

Matériel & méthodes

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche en Microbiologie Appliquée de l'université Abderrahmane Mira- Bejaia en collaboration avec l'entreprise Cevital.

#### I.1. Matériel biologique

#### I.1.1. Souche bactérienne

Il s'agit d'une souche de *Lactiplantibacillus plantarum* F2, isolée de figues fraiches, identifiée par séquençage du gène ADNr 16S et caractérisée quant à son potentiel probiotique (Barache et *al.*, 2020).

#### I.1.2. Matrice d'origine végétale

La matrice d'origine végétale incluse dans ce travail est le jus d'orange brute utilisé pour la fabrication du jus d'orange industriel « TCHINA » élaboré et fourni gracieusement par l'unité Tchina d'El Kseur » (CEVITAL, Bejaia).

#### I.2. Matériel non biologique

Le matériel utilisé pour la préparation du jus probiotique et la réalisation des analyses physicochimiques et microbiologiques est cité simultanément à la description des protocoles expérimentaux.

#### I.3. Préparation du jus d'orange probiotique

Le jus d'orange probiotique a été préparé comme suit :

#### I.3.1. Préparation du jus d'orange

Le jus a été préparé, en suivant la formulation du jus d'orange « TCHINA » commercial, au niveau de l'unité Tchina-El Kseur, sans toutefois l'addition de conservateurs chimiques et d'acide citrique. Une fois que le jus a été réparti dans des flacons de 200 mL, à raison de 90 mL pour le jus destiné à la fermentation et de 100 mL pour le jus témoin, un traitement thermique de 95°C/20 min a été appliqué. Les paramètres physico-chimiques et microbiologiques du jus ont été vérifiés après traitement. Il s'agit du pH, acidité, sucres totaux et °Brix ainsi que la charge en flore totale et en levures et moisissures.

# I.3. 2. Revivification de la souche probiotique et standardisation de l'inoculum

La souche de *L. plantarum* F2, conservée dans un bouillon MRS (de Man Rogosa et Sharpe, CONDA Pronadisa, Espagne, annexe) additionné de 20 % (v/v) de glycérol (Sigma, Allemagne) a été revivifiée par un repiquage dans 9 mL de bouillon MRS. Après incubation (37°C/24 h), un ensemencement en striés sur une gélose MRS (CONDA Pronadisa, Espagne, annexe) a été réalisé à partir de la culture en bouillon et les boites ont été incubées à 37°C/48 h dans une jarre d'anaérobiose (Becton Dickinson Gaspak<sup>TM</sup> EZ, USA). Par la suite, 5 colonies identiques ont été ensemencées dans 10 mL de bouillon MRS pour obtenir une charge de 10° UFC/mL après une incubation de 18 h à 37°C (**Barache et al., 2020**) (figure 04).

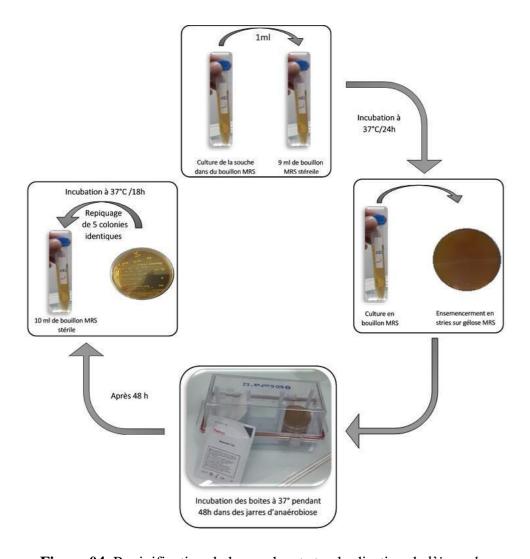


Figure 04. Revivification de la souche et standardisation de l'inoculum

#### I.3.2. Préparation de la pré-culture

Les cultures de 18 h ont été centrifugées à 8000g/10 min à 4°C. Le surnageant a été éliminé et le culot a été lavé deux fois avec une solution de TSE (Tryptone Sel Eau, Equiprolab, Bejaia, Algérie, annexe). Le culot a, par la suite, été ré-suspendu dans du jus d'orange préparé au préalable comme décrit dans le paragraphe I.3.1.

#### I.3.3. Inoculation du jus d'orange

Des flacons de jus d'orange ont été inoculés avec la pré-culture préparée tel que décrit dans le paragraphe I.3.3. Le jus, ainsi inoculé, a été incubé à 37 °C/6 h. Au terme de la période d'incubation, le jus fermenté a été stocké à 6°C/56 jours. Un jus témoin, non fermenté, a été conservé dans les mêmes conditions.

#### I.4. Dénombrement de la souche probiotique après 6 h de fermentation

A partir de chaque flacon de jus fermenté, considéré comme solution mère, 1 mL de jus a été prélevé stérilement et homogénéisé dans 9 mL de solution de TSE stérile. Cette suspension homogénéisée au vortex, correspond à la dilution  $10^{-1}$ . Des dilutions décimales successives ont été ensuite réalisées jusqu'à la dilution  $10^{-9}$ . A partir de cette dernière dilution et des dilutions  $10^{-8}$  et  $10^{-7}$ , un ensemencement en masse a été réalisé dans de la gélose MRS. Les boites ont été incubées à  $37^{\circ}$ C/ 48 h.

#### I.5. Suivi de la stabilité du jus probiotique au cours du stockage réfrigéré

Afin de suivre la qualité microbiologique et physicochimique du jus d'orange fermenté, des analyses physicochimiques et microbiologiques ont été réalisées.

#### I.5.1. Analyses physicochimiques

L'analyse physico-chimique a consisté en le suivi de l'évolution du pH après 6 h de fermentation, puis à des intervalles de 7 jours : J1, J7, J15, J21, J28, J35, J42, J49 et J56. Une détermination de l'acidité, du <sup>o</sup>Brix et un dosage de la vitamine C du jus ont été effectuées au terme du stockage.

### • Mesure de pH

La mesure du potentiel d'hydrogène (pH) a été effectuée conformément à la norme **AFNOR (NF V05-108, 1970)**. Le principe de la méthode consiste en la mesure de l'acidité ou la basicité (concentration en ions H+) d'une solution à l'aide d'un pH mètre. Le pH varie de 0 à 14. La méthode a consisté en l'immersion de la sonde du pH- mètre dans environ 10 mL d'échantillon à mesurer. Le résultat est lu directement sur l'écran de l'appareil (figure 05).



Figure 05. pH- mètre (Hanna® HI2210, Hanna Intruments) utilisé pour la mesure du pH.

### • Détermination de l'acidité

L'acidité correspond à la concentration des acides dans les aliments, tels que les acides citrique, lactique etc., la méthode utilisée est celle décrite par la norme **NF V05-101(1974)** dont le principe est le suivant : Un titrage de 10 mL de produit avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1 N en présence d'un indicateur coloré qui est la phénolphtaléine à 1% (w/v). Le point d'équivalence est déterminé lors du virage de la couleur de l'échantillon vers le rose clair.

Dans le cas des agrumes (orange) de l'acide citrique (acide majoritaire) est généralement dosé. Toutefois, dans le cas du jus probiotique, l'acide lactique devient majoritaire après fermentation et lors du stockage. De ce fait, un dosage de l'acide lactique a été effectué au terme de la période de stockage dans le jus fermenté.

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

V : volume de NAOH utilisé pour le titrage (chute de burette).

Coefficient d'acidité de l'acide lactique= 0,90 et coefficient d'acidité de l'acide citrique= 0,64.

### • Détermination du <sup>o</sup>Brix

L'indice de réfraction ou degré Brix détermine le pourcentage de matières sèches solubles dans le jus. Il correspond au poids en gramme de matière sèche contenue dans 100 g de jus. Cet indice est mesuré à l'aide d'un refractomètre, les résultats sont exprimés en degré Brix (AFNOR, 1986).

Pour mesurer cet indice, une goutte de jus a été mise sur la plaque du refractomètre (ATAGO pocket refractometer, ATAGO Co., Ltd, Japon) préalablement nettoyée avec l'eau distillée et séchée à l'aide d'un papier absorbant. L'appuie sur un bouton permet le démarrage de la mesure et la valeur est indiquée sur le refractomètre (figure 06).



**Figure 06.** Refractomètre (ATAGO, ATAGO Co., Ltd, Japon) utilisé pour la détermination du <sup>o</sup>Brix.

### • Dosage de la vitamine C

Le principe de la méthode consiste en une réduction du 2-6 dichlorophénolindophénol (2-6 DPI), selon la réaction suivante :

Vitamine 
$$C + 2-6$$
 DPI (Bleu)  $\rightarrow$  Vitamine  $C$  réduite + leucodérivé (rouge).

Le 2-6 DPI est bleu en milieu neutre ou alcalin et rouge en milieu acide, c'est sur cette propriété qu'est basé ce dosage volumétrique.

Pour cela, dans un erlen ont été introduits 10,0 mL de jus, 10 mL d'eau distillée et 10 mL d'acide phosphorique à 20 g/L. Dans une burette, une solution de 2-6 DPI à 0,02 g/L a été introduite et ajustée au zéro. La solution de DPI a été coulée doucement dans l'erlen, en agitant constamment, jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante. Le volume  $V_{DPI}$  correspondant à la chute de burette a été noté. La mesure a été répétée trois fois. Pour chaque chute de burette  $V_{DPI}$ , la concentration massique en vitamine C ( $C'_{vitC}$ ) a été calculée selon la formule suivante :

$$\mathbf{C'}_{\text{vitC}} = (\mathbf{C'}_{\text{DPI}} \mathbf{x} \mathbf{V}_{\text{DPI}} \mathbf{x} \mathbf{M}_{\text{vitC}}) / (\mathbf{M}_{\text{DPI}} \mathbf{x} \mathbf{V}_{\text{jus}})$$

Avec:

- $\mathbf{C'}_{DPI} = 0.02 \text{ g/L},$
- $\mathbf{M}_{vitC} = 176 \text{ g/mol},$
- $\mathbf{M}_{DPI} = 259 \text{ g/mol},$
- $V_{DPI}$  = Volume de chute de burette de DPI en L.
- $V_{jus} = Volume$  de prise d'essai du jus en litre =  $10.10^{-3}$ .

Sachant que 1 unité internationale de vitamine C '(U.I.) correspond à 0,05 mg d'acide ascorbique cristallisé. On en déduit le titre UI de 1 litre de jus :

$$T = C'_{vitC} / 0.05$$
 en UI/L de jus.

### I.5.2. Analyses microbiologiques

Cette analyse vise le dénombrement des différents micro-organismes qui peuvent se développer dans le jus d'orange et qui peuvent induire son altération. Tout comme pour l'analyse physico-chimique, le suivi microbiologique a été effectué après 6 h de fermentation, puis à des intervalles de 7 jours (J1-J56).

La qualité microbiologique du jus d'orange a été appréciée à travers la détermination de la charge en flore totale aérobie mésophile (FTAM) dans le cas du jus non fermenté, en bactéries lactiques dans le jus fermenté, et en levures et moisissures dans les deux types de jus. Chaque analyse a été répétée au moins 3 fois.

### • Préparation des dilutions décimales

A partir de chaque flacon de jus préparé (fermenté ou non fermenté) considéré comme solution mère, 1 mL de jus a été prélevé stérilement et homogénéisé dans 9 mL de solution de TSE stérile. Cette suspension homogénéisée au vortex, correspond à la dilution 10<sup>-1</sup>. Des dilutions décimales successives ont été ensuite réalisées jusqu'au niveau de dilution recherché et utilisées pour l'ensemencement des boites de Petri.

### Dénombrement de la FTAM

Un volume de 1 mL des dilutions 10<sup>-5</sup> et 10<sup>-6</sup> a été inoculé dans une boite de Petri stérile, de la gélose PCA (Plate Count Agar, CONDA Pronadisa, Espagne, annexe), en surfusion, a été ajoutée et la boite a été homogénéisée. Après solidification, les boites ont été incubées à 30°C/72 h. Après incubation, les colonies ont été comptées et le nombre de cellules a été exprimé suivant la formule (**Guiraud, 2003**) :

$$\mathbf{N} = \frac{\sum \text{ de colonies}}{v \times (n1 + 0.1n2) \times d}$$

- **N**: nombre d'UFC par mL de produit initial.
- $\Sigma$  colonies : sommes des colonies des boites dénombrables.
- V mL: volume de la suspension (1 mL).
- **n1**: nombre de boites considérées à la première dilution retenue.
- **n2**: nombre de boites considérées à la seconde dilution retenue.
- **d** : facteur de la première dilution retenue (dilution à partir de laquelle le premier dénombrement a été obtenu).

### • Dénombrement des levures et moisissures

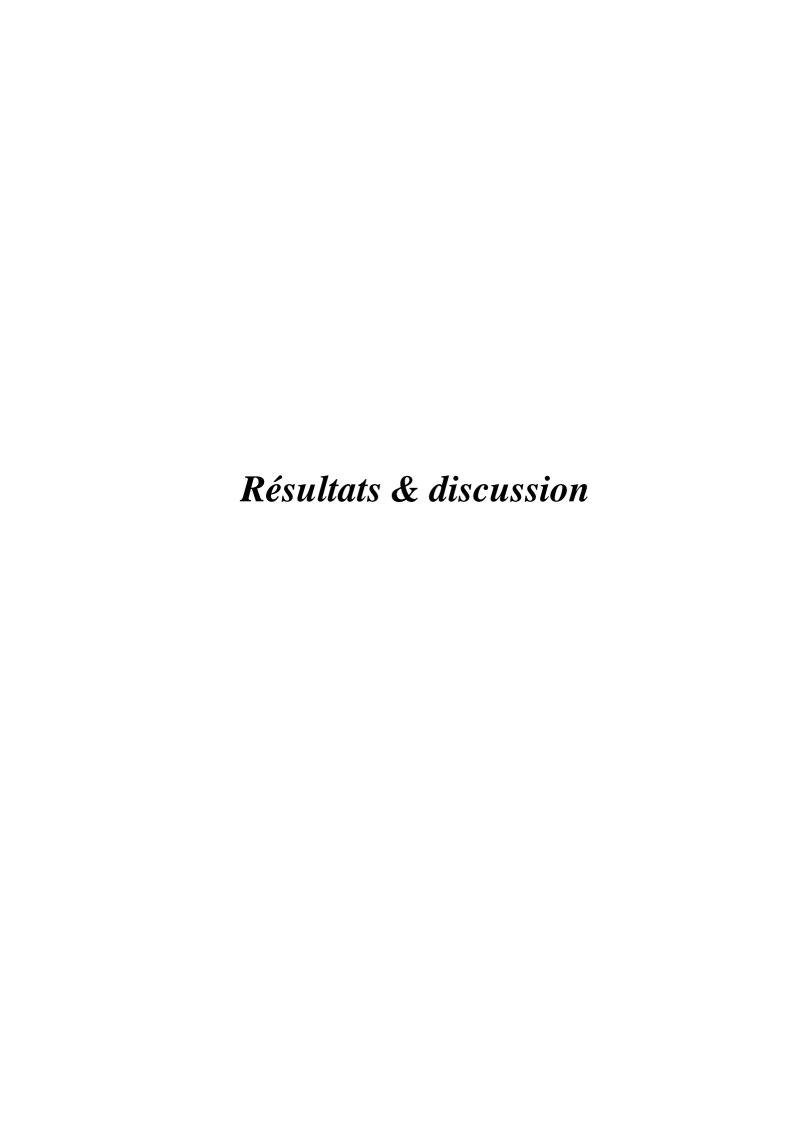
Le dénombrement, des levures et moisissures, a été réalisé dans la gélose DG18 (DICHLORAN GLYCEROL AGAR, CONDA Pronadisa, Espagne, annexe). Pour cela, un volume de 1 mL du jus ou de la dilution  $10^{-1}$  a été déposé dans une boite de Petri stérileauquel de la gélose DG18, en surfusion, a été ajoutée. La boite a été bien mélangée et laissée se solidifier. Par la suite, les boites ont été incubées à  $28^{\circ}$ C/5 jours. La détermination du nombre de cellules a été réalisée comme décrit pour la FTAM.

### • Dénombrement de la souche lactique

Un volume de 1 mL des dilutions 10<sup>-7</sup> et 10<sup>-8</sup> a été transféré dans des boites de Petri stériles. De la gélose MRS, en surfusion, a été versée par la suite dans les boites. Ces dernières ont été homogénéisées et laissées se solidifier puis incubées à 37°C/48 h. La détermination du nombre de cellules a été réalisée comme décrit pour les deux autres flores.

## I.5.3. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique par le calcul des moyennes et des écarts types en utilisant le logiciel XLSTAT version 2021.2.2.



## II.1. Aspect du jus probiotique préparé

Le jus d'orange est connu pour sa couleur jaune- orange, son odeur ayant une fragrance douce et florale de l'orange et sa saveur acide (présence de l'acide citrique). Le jus issu de la fermentation (37°C/6 h) par la souche probiotique de *L. plantarum* avait une couleur jaune orange similaire au jus non fermenté. Toutefois et comparativement au jus non fermenté, le jus fermenté (probiotique) avait une odeur agréable spécifique et une saveur acidulée, plus douce et caractéristique (présence de l'acide lactique).

L'arôme d'un jus peut être corrélé à sa teneur en acide organique (**Adjou et al.**, **2013 ;. Hansson et al.**, **2001**) ont observé que la libération d'un composé volatil, tel que le limonène ou de certains esters comme l'ethyl hexanoate, à partir d'une solution aqueuse vers la phase vapeur, est modifiée par les variations de la concentration d'acide citrique (≥0,2 g/L) dans cette solution. Ces observations justifient alors l'accentuation de l'arôme du jus fermenté (probiotique) qui a une forte acidité tel que montré en bas.

De même, les sels minéraux contribuent à la flaveur des jus de fruit. Selon (**Leland**, **1997**) les sels de potassium facilitent le relargage des composés volatils de la phase aqueuse vers la phase vapeur.

Tout au long de la conservation à 6°C, un suivi de la couleur et de l'odeur du jus a été effectué et aucune anomalie n'a été détectée jusqu'au 35<sup>ème</sup> jour de conservation. Au delà de cette période, une odeur de forte acidité a été sentie. Ces résultats sont corrélés aux résultats du suivi de l'évolution du pH présentés ci-dessous.

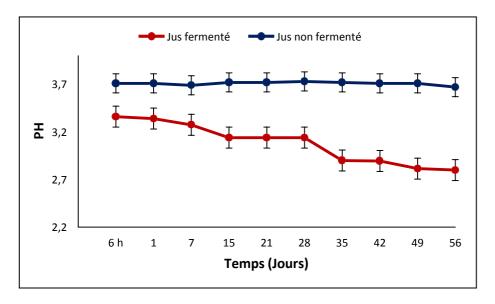
## II.2. Résultats de l'analyse physico-chimique

## II. 2.1. Potentiel d'hydrogène (pH)

La valeur du pH du jus enregistrée juste après pasteurisation a été de 3,7. C'est la valeur normale d'un jus d'orange naturel qui varie entre 3,2 et 3,5 (**Espiard, 2002**). Cette valeur est conforme aux recommandations du *Codex alimentarius* qui stipule des valeurs comprises entre 3 et 4,5 pour les jus destinés à la conservation (**Adjou et** *al.*, **2013**).

Au cours de la conservation à 6°C (figure 06), les résultats de suivi du pH du jus témoin montrent une stabilité de celui-ci (pH allant de 3,71 à 3,67). Ces valeurs sont proches de celle du jus d'orange non fermenté (Nawaz et al., 2021). Cette stabilité du pH nous renseigne sur la qualité microbiologique du jus. En effet, le changement de pH est un indicateur d'une prolifération microbienne (Ratzke et al., 2018).

Par contre pour le jus fermenté (probiotique) (figure 07), une diminution des valeurs du pH au cours de la conservation a été notée. En effet, la valeur initiale était de 3,36 (6 h de fermentation) et finie par chuter à 2,80 (au 56<sup>ème</sup> jour). Du premier jour au 28<sup>ème</sup> jour de conservation, le pH est presque resté stable avec des valeurs allant de 3,36 à 3,14. Au 35<sup>ème</sup>, la valeur a baissé à 2,90 et a continué de baisser jusqu'au 56<sup>ème</sup> de stockage pour atteindre une valeur de 2,80.



**Figure 07.** Evolution du pH du jus fermenté (probiotique) et du jus non fermenté conservés à6°C pendant 56 jours.

Cette diminution importante de pH serait probablement due à l'incorporation de la souche *Lactiplantibacillus plantarum* F2 qui continue à fermenter les sucres présents dans le jus d'orange et le transforme en acides organiques.

Il est bien connu que les souches probiotiques ont la capacité de métaboliser les sucres simples présents dans le jus tout en produisent des acides organiques, ce qui entraine la diminution du pH (Adjou et al., 2013).

## II.2. 2. Acidité

L'acidité du jus a été déterminée juste après pasteurisation, sa valeur était en moyenne de 1,35 g/L. L'acidité est en relation étroite avec le pH, elle pourrait être essentiellement due à la présence de l'acide citrique et ascorbique (**Able et al., 2018**). Un jus d'orange naturel contient entre 1,3 à 1,5 g/L d'acide citrique et 0,5 g/L d'acide ascorbique (**Espiard, 2002**).

Après 56 jours de conservation, l'acidité a augmenté aussi bien dans le jus fermenté (probiotique) que dans le jus non fermenté (tableau IV).

**Tableau IV.** Acidité (g/L) du jus fermenté (probiotique) et du jus non fermenté après 56 jours de conservation à 6°C

Jus non fermenté	Jus probiotique
2,49	8,19

Les résultats obtenus montrent que la valeur de l'acidité du jus probiotique est plus élevée (8,19 g/L) que le jus non fermenté (2,49 g/L). L'augmentation de l'acidité du jus probiotique après 56 jours de conservation pourrait être justifiée par la production de l'acide lactique par *Lactiplantibacillus plantarum* F2 lors de la fermentation et post-acidification lors de la conservation en métabolisant le sucre présent dans le jus.

Dans les produits fermentes, la concentration d'acides organiques augmente en raison de la fermentation et de la décomposition des sucres. Lorsque les micro-organismes utilisent les sucres comme source de carbone, ils produisent des acides organiques ce qui entraîne une augmentation du taux d'acidité (Mousavi et al., 2013).

Par contre l'augmentation de l'acidité dans le jus témoin pourrait être la conséquence d'une prolifération microbienne. Une flore lésée lors de la pasteurisation pourrait refaire surface après un certain temps de récupération (**Everis, 2021**). En plus, certaines bactéries sont thermorésistantes et psychrotrophes et de ce fait peuvent survivre à la pasteurisation et proliférer durant le stockage réfrigéré (**Mendonca et al., 2020**).

### II.2.3. °Brix

Juste après pasteurisation, le degré Brix du jus d'orange a été en moyenne de 11,7. Selon **Espiard** (2002), le °Brix de jus d'orange varie de 12 à 14 %. Les résultats de la détermination du degré Brix des deux jus fermenté (probiotique) et non fermenté, après 56 jours de conservation à 6°C, sont présentés dans le tableau V.

**Tableau V.** Degré Brix (%) du jus fermenté (probiotique) et du jus non fermenté après 56 jours de conservation à 6°C

Jus non fermenté	Jus probiotique
11,8	11,6

Le degré Brix détermine le pourcentage de matières sèches solubles dans le jus. Il correspond au poids en gramme de matière sèche contenue dans 100 g de jus (AFNOR, 1986). L'extrait sec soluble de jus mesure la fraction de matière sèche soluble majoritairement composée des sucres solubles présents dans le jus (Wibow et al., 2015).

Les résultats obtenus sont de 11,6 % pour le jus fermenté (probiotique) et 11,8 % pour le jus non fermenté. Ces valeurs montrent que le degré Brix dans le jus fermenté par *Lactiplantibacillus plantarum* après 56 jours de conservation est similaire à celui du jus non fermenté.

La stabilité de °Brix est probablement due à la réduction du taux de sucres dans le jus probiotique et leur transformation en acide lactique. (**Usaga et** *al.*,**2022**) ont rapporté des valeurs de °Brix proches à nos résultats.

On peut déduire que la souche bactérienne n'as pas d'influence sur le °Brix et que sa stabilité pourrait être justifiée par la consommation et la transformation des sucres par la bactérie en acide lactique et autres métabolites solubles (**Pimentel-Filho et** *al.*, **2019**).

## II.2.4. Dosage de la vitamine C

Les résultats du dosage de la vitamine C sont regroupés dans le tableau VI.

**Tableau VI.** Taux de vitamine C (en % et en UI) dans les deux jus fermenté (probiotique) etnon fermenté après 56 jours de conservation à 6°C.

Taux	Jus non fermenté	Jus probiotique
% (mg/mL)	0,39	0,38
UI	0,78	0,76

Les résultats obtenus sur les taux de vitamine C dans les jus non fermenté et probiotique après 56 jours de conservation à 6°C montrent des teneurs comparables (0,39 g/L et 0,38 g/L respectivement).

Cette valeur est conforme au seuil minimum requis par la norme AFNOR, qui est de 0,2 g/L. La teneur en vitamine C enregistrée serait la somme du taux de vitamine C naturellement présente dans le concentré de jus d'orange utilisé pour la fabrication du jus frais et de l'acide ascorbique ajouté lors de la fabrication du jus.

Par comparaison au jus non fermenté, les résultats obtenus mettent évidence le maintien d'une quantité adéquate de vitamine C dans le jus probiotique même après fermentation, ce qui démontre sa non dégradation par la souche probiotique utilisée. De plus, la conservation au frais n'a pas d'effet sur la teneur en vitamine C, même après 56 jours de conservation.

La vitamine C, également connue sous le nom d'acide ascorbique, est un nutriment essentiel pour le corps humain. Elle joue un rôle crucial dans le maintien de la santé des tissus, la formation du collagène et le fonctionnement du système immunitaire. Elle est également un antioxydant puissant qui aide à neutraliser les radicaux libres dans le corps (Lee et Kader, 2000).

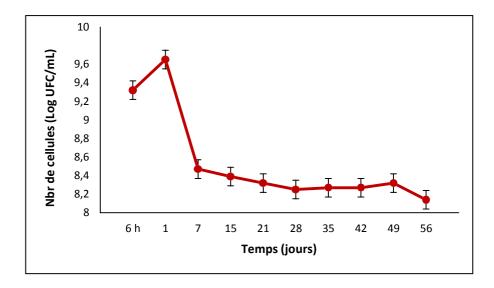
## II. Résultats des analyses microbiologiques

Le contrôle microbiologique a deux objectifs (Tachango, 1996):

- ➤ Le premier est d'assurer une bonne sécurité hygiénique et une bonne qualité marchande du produit fabriqué dans la mesure où elles dépendent des microorganismes présent dans le produit.
- ➤ Le second est de favoriser un bon rendement en permettant de minimiser les pertes des produits et d'avoir le moins possible de produits non conformes.

## II.1. Dénombrement de la flore lactique

Les résultats du suivi de la survie de la souche probiotique *L. plantarum* dans le jus d'orange, pendant 56 jours de conservation à 6°C, sont illustrés sur la figure 08.



**Figure 08.** Suivi de la survie et de la croissance de la souche probiotique *L. plantarum* F2 dans le jus d'orange conservés à 6°C pendant 56 jours.

Les résultats obtenus lors du dénombrement de la souche L. plantarum F2 dans le jus d'orange fermenté (probiotique) montrent une survie de cette dernière pendant 56 jours de conservation à une charge de  $1,4 \times 10^8$  UFC/mL sachant que la charge initiale était de  $2,1 \times 10^9$  UFC/mL.

Cette diminution de la charge bactérienne pourrait être attribuée à plusieurs facteurs. Tout d'abord, la conservation à 6°C peut entraîner une réduction de la croissance bactérienne en ralentissant le métabolisme des bactéries lactiques, ce qui peut entraîner une diminution du nombre de cellules viables au fil du temps (**Doulgeraki et** *al.*, **2012**).

Le jus d'orange fermenté est un environnement complexe contenant différents nutriments, acides organiques et composés antimicrobiens naturels. Ces facteurs peuvent influencer la survie et la croissance de la souche *L. plantarum* F2. Certains acides organiques présents dans le jus d'orange, tels que l'acide citrique, peuvent avoir un effet inhibiteur sur la croissance des bactéries lactiques (**Ferreira et al., 2011**).

La survie de la souche lactique dans des conditions acides et de stockage à froid (6°C) dépend de plusieurs facteurs. Parmi eux, la méthode de préparation de la culture et l'état des

cellules inoculées jouent un rôle crucial. La façon dont la souche lactique est préparée avant d'être introduite dans l'environnement acide et d'être stockée à basse température est importante pour assurer sa survie. De plus, la santé et la vitalité des cellules lactiques inoculées sont également déterminantes. Un autre facteur important est la température de stockage. Un stockage à basse température, comme 6°C, peut influencer la viabilité de la souche lactique. Le taux d'oxygène présent dans l'environnement peut également avoir un impact sur la survie de la souche lactique. Un environnement faible en oxygène peut favoriser sa survie, tandis qu'une exposition à l'oxygène peut lui être préjudiciable. La présence de fibres peut influencer la viabilité de la souche lactique. Les fibres peuvent agir comme un support ou un nutriment pour la souche lactique, favorisant ainsi sa survie dans des conditions difficiles. En résumé, la survie de la souche lactique dans des conditions acides et de stockage à froid dépend de la méthode de préparation de la culture, de l'état des cellules inoculées, de la température de stockage, du taux d'oxygène et de la présence de fibres. Tous ces facteurs doivent être pris en compte pour assurer une viabilité optimale de la souche lactique (**Ying et al., 2013**).

Yoon et al. (2004) et Gamage et al. (2016) ont rapporté qu'il y a plusieurs facteurs tels que le niveau d'inoculum, la température d'incubation, les inhibiteurs, la présence de peroxyde d'hydrogène et la concentration en oxygène qui peut influencer le métabolisme des microorganismes, le pouvoir tampon du milieu, la température de stockage et la disponibilité des nutriments peuvent affecter la survie de la souche bactérienne lactique. On conclut donc que le jus d'orange utilisé est un bon milieu qui permet l'évolution des bactéries lactique pendent 56 jours de stockage à 6°C.

# I.2. Dénombrement de la flore d'altération (FTAM et levures et moisissures)

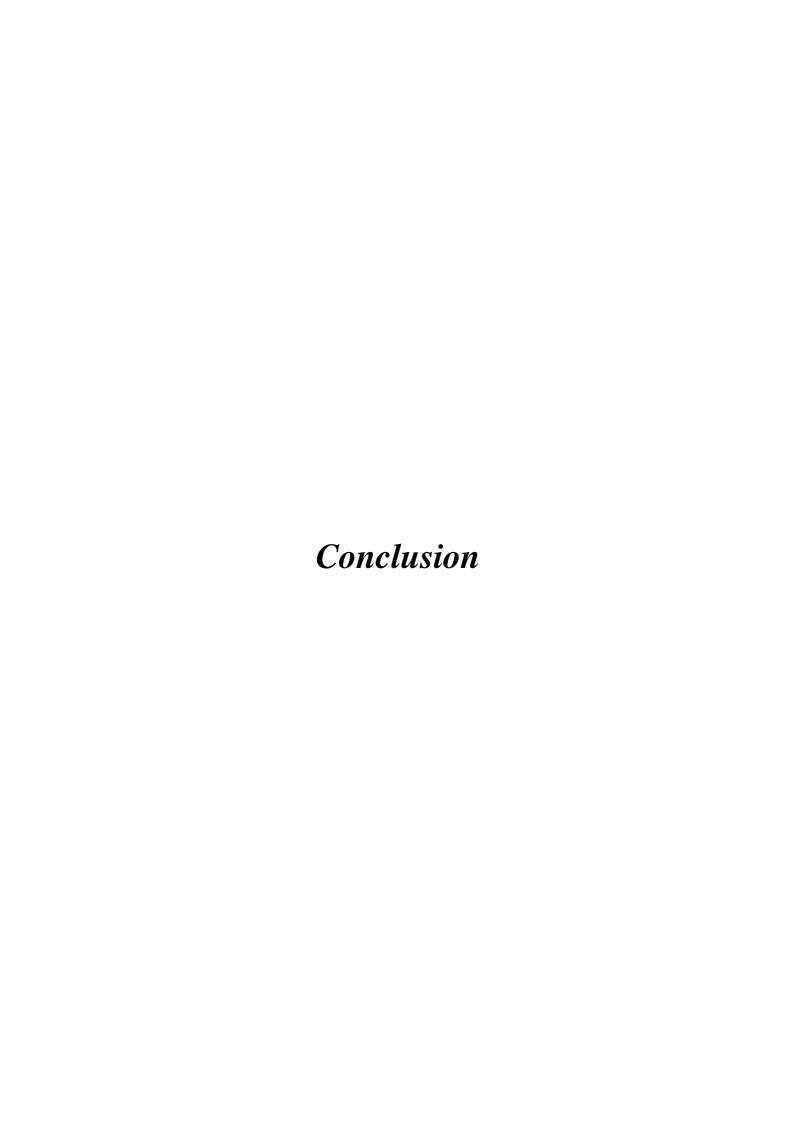
Les résultats de dénombrement de la flore totale (jus non fermenté) et des levures et moisissures dans le jus non fermenté et le jus fermenté (probiotique) au cours de 56 jours de conservation à 6°C, montrent l'absence de la flore totale aérobie mésophile et des leveurs et moisissures. Ceci pourrait être justifié par l'efficacité du traitement thermique appliqué (pasteurisation à 95°C/20 min). **Moreira et al. (2017)** ont obtenu des résultats presque similaires à nos résultats lors de la fabrication d'un jus fermenté (probiotique) à base de mangue.

L'absence de la FTAM ainsi que des levures et moisissures dans le jus favorise le développement de la souche probiotique lors de la fermentation du jus d'orange (**Dahal et** *al.*, **2020**).

Les levures et moisissures sont des champignons microscopiques dont la présence dans les boissons n'est pas souhaitée, ils provoquent des changements organoleptiques tels que l'altération du gout, diminution de la durée de conservation des produits etc. (Guiraud et Galzy, 1980).

Les lactobacilles ont une activité antifongique importante, parmi les souches de *Lactobacillus*, *L. plantarum* se distingue par son efficacité en tant qu'agent bio-conservateur, ralentissant ainsi la croissance des microorganismes altérant les aliments (**Abouloifa et** *al.*, **2021**).

Grâce à ses propriétés antifongiques et antibactériennes, il est probable que la souche *Lactiplantibacillus plantarum* F2 ait agi comme un agent de conservation naturel, rendant le jus d'orange défavorable à la croissance de la flore d'altération (**Corrieu et Luquet, 2008**).



### Conclusion

Cette étude avait pour objectif d'évaluer un jus d'orange probiotique, afin d'examiner la viabilité de la souche probiotique (*Lactiplantibacillus plantarum* F2) utilisée dans sa fermentation et son impact sur sa qualité. Les résultats des analyses physicochimiques et microbiologiques de cette étude ont confirmé que la souche probiotique est capable de survivre au froid à 6°C à des taux de 10<sup>8</sup> UFC/mL dans la matrice végétale utilisée, à savoir le jus d'orange avec un pH bas de 2,80 et une acidité de 8,19 g/L après 56 jours de conservation.

Une acidité de 8,19 g/L et un pH de 2,80 sont signes s'une acidité élevée du jus d'orange. Cette forte acidité est directement liée au taux de survie élevé de la souche probiotique (10<sup>8</sup>UFC/mL). Ceci peut nous orienter vers la réduction du taux d'inoculation à utiliser au début de la fermentation ou à la réduction du temps de stockage réfrigéré.

L'absence de la flore aérobie mésophile (FTAM), de levures et moisissures affirme l'efficacité de la pasteurisation à éliminer la flore d'altération.

L'ensemble des résultats montre que les jus de fruits sont un milieu propice aux bactéries probiotiques. Cependant, leur production à grande échelle peut être limitée par des inconvénients tels que la survie des souches probiotiques au cours du stockage réfrigéré et leur impact potentiel sur les caractéristiques sensorielles et l'acceptation globale du produit.

Quoique, les résultats obtenus au cours de cette étude sont préliminaires et des études plus approfondies sont nécessaires pour tirer des conclusions définitives, ils restent très prometteurs et ouvrent de nombreuses perspectives dont à court terme la détermination de certains paramètres pour une longue durée de conservation à savoir :

- ➤ Le taux d'inoculation optimal
- ➤ La durée de fermentation optimale
- La date limite de consommation (DLC) du jus fermenté.
- L'effet d'addition d'agents adoucissants sur l'acidité du jus comme les sucres, le miel, les édulcorants, les fruits mûrs et les substances alcalines.

## Références bibliographiques

Able NC, Atheba GP, Amin NC, Brou GA & Kpaibe AS. (2018). Contrôle de la teneur en saccharose et de l'acidité des boissons sucrées commercialisées à A bidjan Côte d'Ivoire. J of Food Science and Technology 55(4): 1234-1245.

Abouloifa H, Gaamouche S, Rokni Y, Hasnaoui I, Bellaouchi R, Ghabbour N &. (2021). Antifungal activity of probiotic Lactobacillus strains isolated from natural fermented green olives and their application as food bio-preservative. R Biological Control 152: 104-450.

Adjou E, Amamion H, Tchobo FP, Aissi VM & Soumanou MM. (2013). "Extraction assistée par enzyme du jus de la pulpe fraîche du rônier (Borassus aethiopumMart) acclimaté au Benin : caractérisation physico-chimique et microbiologique. J International Journal of Biological and Chemical Sciences 7(3): 1135-1146.

AFNOR, Association Française de Normalisation AFNOR. (1986). Produits dérivés des fruits et légumes. Jus de fruit.

Alard J. (2017). Sélection in vitro et in vivo de souches probiotiques ayant des propriétés bénéfique contre l'inflammation, les infections et obésité. Université de Lille France.201.

Allen AP, Hutch W, BorreYE, Kennedy PJ, Temko A, Boylan G & Dinan TG. (2021). *Bifidobacterium longum* 1714 as a translational psychobiotic: modulation of stress, electrophysiology and neurocognition in healthy volunteers. R Nutritional Neuroscience 24(1):29-39.

Anonyme (2000). Guide pour l'élaboration et la pasteurisation des jus de fruits. Ed : crp :

Anonyme. (2011). Guide de bonne pratique d'hygiène, Industrie algérienne des jus de fruits, nectars et produits dérives. Association des producteurs algériens des boissons. <a href="https://www.yumpu.com/fr/document/view/17355854/guide-des-bonnes-pratiques-dhygiene-apab">https://www.yumpu.com/fr/document/view/17355854/guide-des-bonnes-pratiques-dhygiene-apab</a>.

Barache N, Ladjouzi R, Belguesmia Y, Bendali F & Drider D. (2020). Abundance of Lactobacillus plantarum strains with beneficial attributes in blackberries (Rubus sp.), fresh figs (Ficus carica), and prickly pears (Opuntia ficus-indica) grown. Probiotics and antimicrobial proteins. 12(4): 1514-1523.

Bazinet, L & Castaigne, F. (2019). Concepts de Génie Alimentaire In : Bernier M, Damen D & Fliss H (2ed. Procédés Associés et applications à la conservation et transformation des aliments) (2019) Concepts de Génie Alimentaire: Procédés Associés et applications à la conservation et transformation des aliments. Canada : Presses Polytechniques. 673.

Berlinet C (2006). Etude de l'influence de l'emballage et de la matrice sur la qualité du jus d'orange. Institut des sciences et technologies (Paris Tech).

Bogue J, & Sorenson D. (2009). Managing customer knowledge during the concept development stage of the new food product development process. J of International Food & Agribusiness Marketing 21: 149–165.

Borgeraas H, Johnson LK, Skattebu J, Hertel JK & Hjelmesaeth J. (2018). Effects of probiotics on body weight, body mass index, fat mass and fat percentage in subjects with overweight or obesity: R Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials 19(2): 219-232.

Bouguerra A. (2021). Evaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle. Université Ferhat Abbas.141.

Capellas M, Palà-Paul J, & Barroeta AC. (2006). Effect of thermal treatments on the quality of canned vegetables. J Food Research International 39(4): 384-392.

Casquete R, Castro, SM & Saraiva JA. (2019). Impact of different packaging conditions on the quality of orange juice during storage. J Food and Dairy Science 4(3): 77 – 86.

Centre Romand de pasteurisation. <a href="https://www.jus-de-pomme.org/docs/guide/guide.pdf">https://www.jus-de-pomme.org/docs/guide/guide.pdf</a>.

Chemlal-Kheraz D. (2013). Isolement et identification phénotypique des bactéries lactiques isolées du Tilapia du Nil (Oreochromis niloticus) et mise en évidence de leur potentiel probiotique. Université d'Oran. 217.

Chen, CS, Shaw, PE & Parish, ME. (1993) Orange and tangerine juices In: Nagy S, Chen CS, Shaw PZ, (Eds. Aubumdale) (1993) *Fruit Juice Processing Technology Florida* USA: Ag science. 119-124.

Chiang CM & Ismail AA. (2019). Impact of probiotics, Prebiotics, and symbiotics on hormonal disorders in women. R Critical Reviews in Food Science and Nutrition 59(20):3304-3316.

Chiang CM & Ismail AA. (2019). Impact of probiotics, prebiotics, and symbiotics on hormonal disorders in women. R Critical Reviews in Food Science and Nutrition 59(20):3304-3316.

Chillet, P. (2011). *Opérations unitaires en génie biologique : Tome 2, La pasteurisation.*Bordeaux paris : CRDP d'Aquitaine. 112.

Claveau D. (2009). Activités microbiennes de différentes préparations de ZnO, CaO et MgO et leur potentiel comme agents de conservation dans les jus de fruits. Science de l'agriculture et de l'alimentation. Laval Québec.

Clotteau M (2002). Production d'un jus d'orange par Couplage traitement enzymatique et Microfiltration tangentielle. L'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires.

Corrêa RC, Santos PH & Walter EH. (2019). Color stability of orange juice during storage. J of Food Science 84(6): 1428-1437.

Corrieu G & Luquet FM. (2008). Bactéries lactiques (Ed.) (2008) *De la génétique aux ferments* .France :Lavoisier.271-411.

Cuello-Garcia CA, Fiocchi A & Pawankar R. (2017). Prebiotics for the prevention of allergies. R systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials 47(11):1468-1477.

Dahal S, Ojh P & Karki TB. (2020). Functional quality evaluation and shelf life study of synbiotic yacon juice. Food Science Nutral 8:1546–1553.

Dainty RH, Edwards RA, Hibbard, C. M., & Hibbard, E. D. (1978). Antimicrobial effect of weak organic acids on spoilage organisms in fruit juices. Applied and Environmental Microbiology, 35(5), 832-834.

Dhuique-Mayer C. (2007). Evaluation de la qualité nutritionnelle des jus d'agrumes : estimation in vitro de la biodisponibilité des carotenoïdes. Université Montpellier 2.

Dimidi M, Cox SR, Scott SM & Whelan K. (2017). The effect of probiotics on functional constipation in adults R systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. The American Journal of Clinical Nutrition 105(4): 757-764.

Doulgeraki AI, Ercolini D, Villani F, & Nychas GJ. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. J International Journal of Food Microbiology 157(2): 130-141.

Eliza k, Kornelia K & Małgorzata G. (2023). Effect of fermentation on the nutritional quality of the selected vegetables and legumes and their health effects. J of Nutritional Science 23(4): 123-135.

Espiard, E (2002) Introduction à la transformation industrielle des fruits. paris : Tec & Doc Lavoisier,p. 261.

Everis L. (2021). Injured bacteria in foods. J Nutral Food Science 31(2): 84-88.

Ewais AA, Saber R & Sharaf A. (2021). Evaluation of chitosan as new natural persevative in orange juice. J Product Dev 26(4): 737-754.

Faria JAF, Oliveira JC, Gonçalves EM & Moldão-Martins M. (2015). Effect of storage temperature and time on quality attributes of pasteurized orange juice. J Food Control 57:112-118.

Ferreira R, Borošić V, Magalhães R, Abreu M & Oliveira R. (2011). Influence of citric acid on the growth kinetics and metabolite production of *Lactobacillus plantarum*. R Food Research International 44(1): 244-251.

Fijan S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic propertie. J International Journal of Environmental Research and Public Health 11:4745-4767.

FOA/OMS (Food and Agriculture Organization/ World Health Organization). (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint FOA/OMS Working Group on Drafling Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada.

Galaverna G, Di Silvestro G, Cassano A, Sforza S, Dossena A, Drioli E & Marchelli R. (2008). A new integrated membrane process for the production of concentrated blood orange juice. J Food chemistry 106(3): 1021-1030.

Gamage SM, Mihirani MK, Perera OD & Weerahewa HD. (2016). Development of synbiotic beverage from beetroot juice using beneficial probiotic *Lactobacillus Casei* 431. J Ruhuna Journal of Science 7: 64-69.

Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ & Guarner F. (2017). Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. R Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 14(8): 491-502.

Gies M, Descalzo AM, Servent A & Dhuique-Mayer C. (2019). Incorporation and stability of carotenoids in a functional fermented maize yogurt-like product containing phytosterols. J Food Science and Technology 111: 105-110.

Gil-Izquierdo A (2002). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products . J of Agricultural and Food Chemistry: 1370.

Granato D, Branco GF, Cruz AG, Faria J & Shah NP. (2010). Probiotic dairy products as functional foods. R Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 9: 455-470.

Guirad J & Glazy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. University. Collection génie alimentaire.

Guiraud, J-P, (2003). Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris.

Hansson A, Andersson J, Leufven A & Penrson K. (2001). Effect of changes in pH on the release of flavour compounds from a soft drink-related model system. J Food Chemstry 74(4): 429-435.

Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Gorbach RO, Røder SH & Sanders ME, (2014). Expert consensus document. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. R Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 11(8):506-514.

J.O.R.A. (2022). Arrête interministériel du 18 Chaâbane 1443 correspondant au 21 mars 2022 portant adoption du règlement technique relatif aux jus et nectars de fruits, jus de légumes et boissons aux jus de fruits et/ou de légumes. Journal Officiel de La République Algérien N°40. P27.

J.O.U.E. (2001).Directive 2001/112/CE du Conseil du 20 décembre 2001 relative aux jus de fruits et à certains produits similaires destinés à l'alimentation humaine. Journal officiel de l'Union européenne N°L010. p 55.

J.O.U.E. (2012). Directive 2012/12/UE du parlement européenne et du conseil du 19 avril 2012modifiant la directive 2001/112/CE du Conseil relative aux jus de fruits et à certains produits similaires destinés à l'alimentation humaine. Journal Officiel de L'union européenne N°L 115/1. P11.

Kandylis P, Pissaridi K, Bekatorou A, Kanellaki M & Koutinas AA. (2016). Dairy and non-dairy probiotic bevrages. J Current Opinion in Food science 7: 58-63.

Khaje-Laeini M, Mousavi SM, & Hosseini H. (2020). Shelf life extension of pomegranate juice by ultra sound technology and addition of probiotics. J of Food Science and Technology 57(2): 491-499.

Khaldi R. (2022). Etude de qualité de jus d'orange comercial (Rouiba/ Tchina). Université 8 Mai 1945 Guelma.

Kim JH, Kim SH, & Ruy JH. (2013). Microbiological diversity in fresh and pasteurized orange juice. J Food Cotrol 31(2): 476-483.

Lebeer S, Bro PA, Marco ML, Van Pijkeren JP, O'Connell Motherway M & Hill C. (2018). Identification of probiotic effector molecules: present state and future perspectives. R Current Opinion in Biotechnology 49: 217–223.

Lee SK & Kader AA. (2000). Precharvest factors influecing vitamin c content of horticultural crops. R Postharvest biology and technology 20(3): 207-220.

Leland JV. (1997). Flavor interactions: the great whole. J Food Technology 51(1): 75-80. Malik VS, Pan A, Willett WC, & Hu FB. (2013). Sugar-sweetened beverages and weight gain in children and adults: R systematic review and Meta-Analysis. The American Journal of Clinical Nutrition 98(4):1084-1102.

Mankowski DJ, & O'Bryan CA. (2020). Separation of particulates in orange juice during shelf-life. J of Food Science 85(2):382-391.

Marco M L, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligné B & Hill C. (2021). Health benefits of fermented foods. J Current Opinion in Biotechnology 70: 1-8.

Mcfarland LV. (2010). Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients. R World Journal Gastroenterology 16(18): 2202-2222.

Mendonca A, Thomas-Popo E, Gordon A. (2020). Microbiological considerations in food safety and quality systems implementation. In: Gordon A. Ed. (2020). *Food Safety and Quality Systems in Developing Countries. Volume III: Technocal and Market Considerations*. Academic Press: 185-260.

M'Hiri N. (2015). Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces del'orange «Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone. Université de Lorraine.

Mohapatra S. (2017). Sterilization and Disinfection. National Center of Biotechnology information: 929-944.

Monnet V, et al. Métabolisme et ingénierie métabolique. [Auteur du livre] Georges Corrieu et François-Marie Luquet. Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments. Cachan : Lavoisier, 2008, pp. 271-411.

Moreira RM, Martins ML, Leite Júnior BR, Martins EM, Ramos AM & Cristianini M. (2017). Development of a juçara and Ubá mango juice mixture with added *Lactobacillus rhamnosus* GG processed by high pressure. Journal of Food Science and Technology 77: 259–268.

Mousavi ZE, Mousavi SM & Razavi SH. (2013). Effect of fermentation of pomegranate juice by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* on the antioxidant activity and metabolism of sugars, organic acids and phenolic compounds. R Food Biotechnology 27 (1): 113.

Murat, M (2009). Nutrition humain et sécurité alimentaire (Lavoisier) (2009) *Nutrition humaine et sécurité alimentaire*. France : Tec & Doc Lavoisier. 678.

Nagpal R, Kumar A & Kumar M. (2012). Fortification and fermentation of fruit juices with probiotic lactobacilli. R Annals of Microbiology 62:1573–1578.

Nawaz A, Sameer M, Akram F, Tahir SF, Arshad Y & Haq IU. (2021). Kinetic and thermodynamic insight of a polygalacturonase: A biocatalyst for industrial fruit juice clarification. R Revista Mexicana de Ingeniería Química 20:1029-1045.

Nayak B & Dash S. (2014). Effect of storage temperature on the quality of orange juice. J of Science and Technology 84(6): 1428-1437.

NORMES FRANÇAISES HOMOLOGUEES NF : V 05-101, (1974). Jus de fruits et jus de légumes, Détermination des cendres. Détermination de l'acidité.

NORMES FRANÇAISES HOMOLOGUEES. NF: V 05-108, (1970). Jus de fruits et jus de légumes, Détermination des cendres. Détermination de pH.

Ouwehand AC, Salminen S, & von Wright A. (2012). Lactic acid bacteria (ed. 4th Edition) (2012) microbiological and functional aspects. Boca Raton: CRC Press. 798.

Ozturk M & Yilmaz AM. (2017). Health benefits of citrus fruits against digestive and metabolic diseases. J Current Research in Nutrition and Food Science Journal 5(2): 94-102.

Park YS, & Kim SJ. (2015). Changes in color and flavonoid content of orange juice during storage. J Preventive Nutrition and Food Science 20(2): 99-104.

Paster N, Wainstein J, Chaikin Y & (2021). The effects of storage conditions on the nutritional quality and sensory attributes of freshly squeezed orange juice. R Food Chemistry 342: 128-258.

Pedrigo G, Fuller R, & Raya R. (2001). Lactic acid bacteria and their effect on immune system. J Curent Issuses In Intestinal Microbiology 2: 27-42.

Phisut, N., & Jangchud, K. (2012). Stability of bioactive compounds and antioxidant activity of longan juice during storage. J of Food Science 77(3): 277-283.

Pimentel-Filho NJ, Sousa MP, Corrêa LF, Araújo LD Oliveira JL, Pinheiro AC, Monteiro KM, Araújo AM, Frota-Braga EF, Bernardes PC & Oliveira RS. (2019). Influence of lactic acid bacteria on sugarcane juice fermentation: identification of dominant species and metabolic pathway. J of Food Science and Technology 56(7): 3431-3440.

Plaza-Díaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, & Gil Á. (2019). Mechanisms of action of probiotics. R Advances in Nutrition 10:49-66.

Plaza-Díaz J, Ruiz-Ojeda MJ, Gil-Campos C, Gil-Campos FJ & Fontana L. (2020). Evidence of the anti-inflammatory effects of probiotics and symbiotics in intestinal chronic diseases. J Nutrients 12(6): 1-29.

Proença M, Neves AL, Costa E, Moreira-Pais I, Calhau A & Calhau C. (2021). Probiotic supplementation modulates immune responses in elderly adults. R Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials 13(2): 576.

Quigley EM. (2017). Gut microbiome as a clinical tool in gastrointestinal disease management. R Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 14(6): 315-320.

Ratzke C & Gore J. (2018). Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions. PLoS Biology 16: 200-4248.

Reineccius GA. (2005). Fruit flavors: processing, analysis, and consumer perception. R Critical Reviews in Food Science and Nutrition 45(7-8):671-702.

Resta-Lenert S & Barrett KE. (2003). Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive *Escherichia coli (EIEC)* 52(7): 988-997.

Sanchez M, Darimont C, Drapeau V, Emady-Azar S, Lepage M, Rezzonico E, Ngom-Bru C, Berger B, Philippe L, Ammon-Zufferey C, Leone p, Chevrier G, St-Amand J, Marette A, Doré J & Tremblay A. (2014). Effect of *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC1.3724 supplementation on weight loss and maintenance in obese men and women. J British Journal of Nutrition 111(8):1507-1519.

Sanders ME, Merenstein DJ, Ouwehand AC, Reid G, Salminen S, Cabana MD & Gibson GR. (2016). Probiotic use in at-risk populations. J of the American Pharmacists Association 56(6): 680-686.

Sanders ME, Merenstein DJ, Ouwehand AC, Reid G, Salminen S, Cabana MD & Gibson GR. (2014). Probiotics and prebiotics: prospects for public health and nutritional recommendations. R Annals of the New York Academy of Sciences 1309(1): 19-29.

Selani MM, Shirai MA, Gallo CR & Tessaro IC. (2008). Changes in flavor and volatile compounds of orange juice during storage. J Ciência e Tecnologia de Alimentos 28(4):811-818.

Sivamaruthi BS, Kesika p, & Walter EH. (2018). Microbiological and nutritional aspects of freshly squeezed orange juice sold in street vending outlets. J of Food Science 83(10): 2618-2626.

Slyepchenko A, Carvalho AF, Cha DS, Kasper S, McIntyre RS & Berk M. (2014). Gut emotions - mechanisms of action of probiotics as novel therapeutic targets for depression and anxiety disorders. R CNS & Neurological Disorders-Drug Targets 13(10): 1770-1786.

Sun J, Buys NJ, & Hills AP. (2018). Effects of probiotics consumption on lowering lipids and CVD risk factors. R Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials 50(6):512-531.

Tachango J. (1986). *Qualité microbiologique des jus et nectars de fruits exotiques croissance et thermorésistance des levures d'altération*. Université des sciences et technologies, Lille.

Takiishi T & Fenero CI. (2020). Recent advances in understanding the role of gut microbiota human health and disease. J Annals of Gastroenterology 33(3): 195-204.

Talwalkar A, Miller CW, Kailasapathy K & Nguyen MH. (2004). Effect of packaging materials and dissolved oxygene on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. J International Journal of food Science and Technology 39(6): 605-611.

Tian Y, Gao L, & Shi J. (2019). Quality degradation of orange juice during storage. R Trends in Food Science & Technology 89: 70-81.

U.S. Food and Drug Administration. (2020). Juice HACCP Hazards and Controls Guidance - First Edition. Disponible à l'adresse : https://www.fda.gov/media/130884/download

Usaga J, Barahona D, Arroyo L & Esquivel P. (2022). Probiotics survival and betalains stability in purple pitaya (*Hylocereus sp.*) juice. J NFS Journal 27: 47-53.

Wibowo S, Grauwet T, Santiago JS, Tomic J, Vervoort L & Hendrickx M. (2015). Quality changes of pasteurised orange juice during storage: A kinetic study of specific parameters and their relation to colour instability. J Food Chemistry 187: 140-151.

Xiong T & Guan Q. (2018). Changes in the content of free monosaccharides and oligosaccharides during fermentation of yogurt by different starter cultures. J Food Science and Technology 38(1):142-147.

Ying D, Schwander S, Weerakkody R, Sanguansri L, Gantenbein-Demarchi C, & Augustin MA. (2013). Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein and resistant starch matrices: Probiotic survival in fruit juice. J of Functional Foods 5: 98-105.

Yoon KY, Woodams EE & Hang YD. (2004). Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. J of microbiology 42(4): 315-318.

### **Sites Internet**

www.directindustry.fr

## Annexe

# Composition des milieux de culture (CONDA Pronadisa, Espagne)

## PCA:

### Pour 1 litre de milieu

-	Tryptone	5,00g
-	Extrait de levure	20, 00g
-	Glucose	1, 00g
-	Agar agar bactériologique	15,00g

pH du milieu  $7.0 \pm 0.2$  à 25°C

## **DG18:**

### Pour 1 litre de milieu

-	Tryptone	5,00g
-	Glucose	10,00g
-	Sulfate de magnésium 7 <i>H</i> <sub>2</sub> O	0,50g
-	Phosphate monopotassique	1,00g
-	Dichloran (dichloran-2.6-nitro-aniline)	0,002g
-	Chloramphénicol	0,10g
-	Agar	15,00g

pH du milieu  $5.6 \pm 0.2$  à 25°C

# Bouillon et gélose MRS :

## Pour 1 litre de milieu

-	Polypeptone	10,00g
-	Extrait de viande	10,00g
-	Extrait autolytique de levure	5,00g
-	Glucose	20,00g
-	Tween 80	1,08g
-	Phosphate dipotassique	2,00g
-	Acétate de sodium	5,00g
-	Citrate d'ammonium	2,00g
-	Sulfate de magnésium	0,20g
-	Sulfate de manganèse	0,05g
-	Agar agar bactériologique (pour gélose)	15,00g
"T	I du milion 5.7 ± 0.1 à 2590	

pH du milieu  $5.7 \pm 0.1$  à 25°C.

## **Solution TSE:**

## Pour 1 litre de milieu :

-	Tryptone	00g
-	Chlorure de sodium8	,5g

pH du milieu  $7.0 \pm 0.2$  à 25°C.

### Résumé

Le but de cette étude était de suivre la stabilité d'un jus d'orange probiotique fermenté par une souche de Lactiplantibacillus plantarum F2, nouvellement mis au point en collaboration avec l'unité Tchina-El Kseur (Cevital, Bejaia) et destiné aux personnes ne pouvant pas consommer de produits laitiers probiotiques en raison de préférences alimentaires ou de problèmes de santé. Le travail a consisté en le suivi de la qualité physico-chimique (pH) et microbiologique (FTAM, flore lactique, levures et moisissures), durant 56 jours de stockage réfrigéré (6°C), du jus probiotique et d'un jus non fermenté mis au point dans les mêmes conditions. Au terme des 56 jours de stockage, l'acidité, le °Brix, le taux de sucres totaux et la teneur en vitamine C ont également été déterminés. Les résultats ont montré la survie de la souche probiotique durant les 56 jours de conservation à 6°C à un taux de 10<sup>8</sup> UFC/mL et l'absence de la FTAM et des levures et moisissures. Comparativement au jus non fermenté, un pH très bas (2,80 vs. 3,67) et une forte acidité (8,19 g/L vs. 2,49g/L) ont été enregistrés dans le jus probiotique au terme du stockage réfrigéré. Le pH est resté à des valeurs acceptables du 1<sup>er</sup> au 28<sup>ème</sup> jour (3,6 et 3,14 respectivement); mais à partir du 35<sup>ème</sup> jour, des valeurs inférieures à 3,00 ont été enregistrées. Par contre, une stabilité du °Brix (11,6 vs. 11,8) et du taux des sucres totaux (9,3 vs. 9,8) et de la vitamine C (0,38 % vs. 0,39 %) a été notée. Quoique l'acidité soit très élevée, le jus probiotique reste appréciable sur le plan organoleptique (couleur et saveur). Ces résultats suggèrent que le taux d'inoculation par la souche probiotique ne permet qu'une stabilité d'environ 30 jours. Au delà de cette période, l'acidification au cours de la réfrigération induit une forte acidité dans le produit. Il est donc recommandé de réduire le taux d'inoculation ou d'ajouter des stabilisateurs de pH dans le jus probiotique.

**Mots clés :** jus probiotique, jus d'orange, *Lactiplantibacillus plantarum*, stockage réfrigéré, stabilité physico-chimique, stabilité microbiologique.

### **Abstract**

The aim of this study was the monitoring of the stability of a probiotic orange juice, fermented with the probiotic strain Lactiplantibacillus plantarum F2, newly elaborated with the collaboration of Tchina-El Kseur Unit (Cevital, Bejaia) for persons unable to consume probiotic dairy products because of diet preferences or health problems. The work consisted on monitoring of the physico-chemical (pH) and microbiological (total and lactic flora, yeasts and moulds), during 56 days of refrigerated storage (6°C), of the probiotic juice and the none- fermented juice, elaborated in the same conditions. At the end of the 56 days of storage, acidity, °Brix, total sugars and vitamin C rates were also determined. The results showed the viability of the probiotic strain during the 56 days of storage at 6°C at a rate of 10<sup>8</sup> UFC/mL and absence of total flora, yeasts and moulds. Comparatively to none- fermented juice, a lower pH (2.80 vs. 3.67) and a higher acidity (8.19 g/L vs. 2.49g/L) were registered in the probiotic juice at the end of the refrigerated storage. The pH was maintained at acceptable values from the 1<sup>st</sup> to the 28<sup>th</sup> day (3.6 and 3.14 respectively); but since the 35<sup>th</sup> day, lesser values (<3.00) were recorded. In contrary, a stability of °Brix (11.6 vs. 11.8), total sugars (9.3 vs. 9.8) and vitamin C (0.38 % vs. 0.39 %) rates was noticed. Despite the high acidity, probiotic juice stays appreciable regarding the sensory traits (color and taste). These results suggest that the inoculation rate by the probiotic strain allowed only a stability of about 30 days. At a prorogated period, acidification during refrigeration induced a high acidity in the product. So, it's recommended to reduce the inoculation rate or to add pH stabilizers in the probiotic juice.

**Key words:** probiotic juice, orange juice, *Lactiplantibacillus plantarum*, refrigerated storage, physico-chemical stability, microbiological stability.