

*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 Sciences Alimentaires*  
*Filière : Sciences Alimentaires*  
*Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire*



*Réf:.....*

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

**MASTER**

**Thème**

**Impact de la pasteurisation sur la qualité du jus d'orange  
« Tchina » et effet de son enrichissement par le pollen sur son  
activité antioxydante.**

**Présenté par :**

**ABIDI RIMANE & AMRANE SOUAD**

**Soutenu le : 04/07/2024**

Devant le jury composé de :

Mme TOUATI .N

MCA

Présidente

Mme TAFININE .Z

MCA

Encadreur

Mme KERNOU .O

MAB

Examinatrice

**Année universitaire : 2023 / 2024**

# *Remerciements*

*Avant tout, on tient à exprimer nos remerciements les plus sincères d'abord au « Bon Dieu » maître des cieux et terres, le tout puissant de nous avoir donné la patience et la volonté pour réaliser ce travail. Sans ALLAH en premier et les prières de nos parents, nous n'avons pas pu arriver là où nous sommes aujourd'hui.*

*Nous tenons à remercier très sincèrement notre enseignante et promotrice **Mme TAFININE Zina** pour son encadrement, son encouragement, ces précieux conseils clairs et sa disponibilité à tout moment pour répondre à toutes nos questions et de nous avoir guidé, nous lui exprimons nos profonds respects.*

*On remercie vivement **Mme TOUATI Naima** et **Mme KERNOU Ourdia** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury et d'évaluer le présent travail, on vous doit beaucoup de respect et de reconnaissance.*

*On tient aussi à remercier À la responsable du département de qualité **Mme OUATAH Siham**, ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire de qualité de **l'unité CEVITAL EL-KSEUR** pour leur accueil chaleureux et leurs conseils.*

*Nous tenons à remercier **Mme SAADI AHMED Lila** ingénieur en laboratoire physico-chimie des aliments d'avoir mis à notre disposition tous les moyens nécessaires pour la réalisation de ce travail.*

*Un grand merci à toutes personnes ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leurs soutiens et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*



Du profond de mon cœur, je dédie ce travail :

A mes parents, qui peuvent être fières et trouver ici le fruit de longues années de sacrifices et de privation pour m'aider à avancer dans la vie ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de vous ; Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le respect que j'ai pour vous, Qu'Allah vous garde pour moi.

A mon unique chère sœur Assia, à mes chers frères Abd El Hakim et Fayçal, qu'Allah vous protège.

A ma binôme Rimane, merci pour cette merveilleuse aventure et cette incroyable expérience, je te souhaite le meilleur et le succès que tu mérites.

A toute personne qui me soit chère à cœur.

*Mlle Souad.*

# Dédicace



Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude.  
A dieu de tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé et m'a accordé son  
soutien durant les périodes les plus difficiles.

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie mes chères  
parents :

A mon chère père Mr Abdelkrim, Rien au monde ne vaut les efforts fournis jours  
et nuits pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que  
tu t'es imposés.

A ma très chère mère Mme Nadia, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour,  
l'estime, et le respect que j'ai pour toi. Toi qui m'as apporté ton appui durant toutes  
mes années d'étude, pour ton soutien qui m'a donné confiance, courage et sécurité.  
Puisse ce travail être la récompense de tes soutiens moraux et sacrifices.

A mon unique sœur Zahra, qui était toujours là pour moi, puisse dieu te donne  
tout le bonheur, le courage et surtout la réussite.

A mes chères cousines, Mina, Wissem et Ikram, que je considère comme des  
sœurs pour moi.

A mes très chères amis, Abdelghani, Chiraz et Chaima, que dieu vous garde pour  
moi.

A Ma binôme Souad, qui a rendu la réalisation de ce travail tellement agréable.

A toute ma famille, grands et petits.

A mes collègues de promotion master II Qualité des Produits et Sécurité  
Alimentaire.

## Liste des abréviations

**Abs** : Absorbance.

**EAA** : Equivalent acide ascorbique.

**EAG** : Equivalent acide gallique.

**E $\beta$ -C** : Equivalent  $\beta$ -carotène.

**EQ**: Equivalent quercétine.

**°Brix** : Degré Brix

**DPPH** : Déphéryl picryl-hydrazyl.

**DCPIP** : 2,6-dichlorophénolindophénol.

**LDL** : lipoprotéines de faible densité.

**AGPI** : Acide gras polyinsaturé.

**BHA** : Butylhydroxyanisole.

**BHT** : Butylhydroxytoluène.

**PG** : Gallate propylée.

**TBHQ** : Tétrabutylhydroquinone.

**ROS** : Espèces réactives de l'oxygène.

**SOD**: Superoxyde dismutase.

**GSHPX** : Glutathion peroxydase et réductase.

**GPX** : Glutathion peroxydase.

**ROOH** : Hydroperoxyde organique.

**GSH** : Glutathion réduit.

**GSSG**: Glutathion disulfure.

**GR**: Glutathione reductase.

**NADPH/NADP+**: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

**RB** : Returnable bottle.

**LSD** : Least significant difference.

**UFC** : Unité formant colonie.

## Listes des tableaux

<b>Tableau I :</b> Composition chimique du jus d'orange pour 100g.....	4
<b>Tableau II:</b> Résultats d'analyses physicochimiques des échantillons.....	24
<b>Tableau III :</b> Résultats d'analyses microbiologique des échantillons.....	24

## Listes des figures

<b>Figure 01</b> : Différents granules du pollen.....	9
<b>Figure 02</b> : Composition général moyenne du pollen frais.....	10
<b>Figure 03</b> : La balance entre le système pro et antioxydants.....	13
<b>Figure 04</b> : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène.....	15
<b>Figure 05</b> : Réseau des antioxydants.....	16
<b>Figure 06</b> : Echantillons du jus et pollen.....	17
<b>Figure 07</b> : Enrichissement du jus avec le pollen.....	19
<b>Figure 08</b> : Teneur en polyphénols totaux des échantillons étudiés.....	25
<b>Figure 09</b> : Teneur en flavonoïdes des échantillons étudiés.....	36
<b>Figure 10</b> : Teneur en caroténoïdes des échantillons étudiés.....	27
<b>Figure 11</b> : Teneur en acide ascorbique des échantillons étudiés.....	28
<b>Figure 12</b> : Activité anti radicalaire des différents échantillons étudiés.....	29
<b>Figure 13</b> : Pouvoir réducteur des différents échantillons étudié.....	30

## Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction</b> .....	1

### Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le jus d'orange.	
I. Jus d'orange.....	3
I.1. Définition du jus .....	3
I.2. Différents types du jus .....	3
I.3. Composition du jus d'orange.....	4
I.4. Techniques de conservations.....	5
II. Technologie de fabrication du jus d'orange.....	6
II.1. Préparation de la pulpe .....	6
II.2. Transformation en jus d'orange .....	7
Chapitre II : Le pollen.	
I. Généralités sur le pollen.....	9
I.1. Définition du pollen.....	9
I.2. Composition du pollen.....	9
II. Effet nutritionnels et thérapeutique du pollen.....	11
Chapitre III : L'activité antioxydante.	
I. L'activité antioxydante .....	12
II. Le stress oxydatif et les radicaux libres .....	12
III. Les antioxydants.....	13
II.2. Les antioxydants endogènes .....	13
II.2.2. Les antioxydants exogènes .....	15

### Partie expérimentale

I. Echantillonnage.....	17
II. Analyses physicochimiques.....	18
II.1. Détermination du Brix .....	18
II.2. Détermination du potentiel d'hydrogène.....	18
II.3. Détermination de l'acidité titrable.....	18
III. Recherche et dénombrement des levures et moisissures .....	19

IV. Préparation des échantillons .....	19
IV.1. Enrichissement du jus .....	19
IV.2. L'extraction des antioxydants .....	20
IV.2.1. Extraction à partir du pollen.....	20
IV.2.2. Extraction à partir du jus .....	20
V. Dosage des antioxydants.....	20
V.1. Dosage des polyphénols totaux.....	20
V.2. Dosage des flavonoïdes.....	20
V.3. Dosage des caroténoïdes .....	21
V.4. Dosage de l'acide ascorbique.....	21
VI. Evaluation du potentiel antioxydant .....	22
VI.1. Activité anti-radicalaire DPPH.....	22
VI.2. Pouvoir réducteur.....	23
VII. Analyse statistique .....	23
I. Paramètres physico-chimiques.....	24
II. Analyses microbiologique.....	24
III. Dosage des antioxydants.....	25
III.1. Dosage de polyphénols.....	25
III.2. Dosage des flavonoïdes.....	26
III.3. Dosage des caroténoïdes.....	27
III.4. Dosage des l'acide ascorbique.....	28
IV. Evaluation de l'activité antioxydante.....	29
IV.1. Pouvoir anti-radicalaire DPPH.....	29
IV.2. Pouvoir réducteur.....	30
<b>Conclusion.....</b>	<b>31</b>

# **Introduction**

## **Introduction**

Le jus d'orange est le jus prédominant fabriqué par les industries de boissons dans le monde entier due à sa richesse en nutriments, et favorise la croissance des microorganismes, d'où la nécessité d'un traitement de pasteurisation afin d'éliminer les micro-organismes et de préserver ses qualités depuis sa production jusqu'à sa consommation. Il est bien établi que le traitement thermique peut prolonger la durée de conservation des jus et assurer leur sécurité.

Le traitement thermique des aliments est l'une des plus importantes méthodes de conservation. Parmi ces traitements, la pasteurisation qui sert à éliminer les agents pathogènes végétatifs (Ashurst et Hargitt, 2009). Elle implique le chauffage d'un produit pendant une période plus ou moins longue. La pasteurisation en emballage implique l'utilisation d'un tunnel de pasteurisation qui est une technique qui ne convient qu'aux bouteilles en verre, aux boîtes de conserve et aux canettes (Smelt et Brul, 2014). Cependant, il peut causer des pertes dans les paramètres nutritionnels, physicochimiques, rhéologiques et organoleptiques (Gómez *et al.*, 2011). Une étude a montré l'impact du traitement thermique sur les antioxydants des jus de fruits particulièrement celui des oranges. Cette étude a montré un effet négatif sur leur contenu phénolique en comparaison aux jus frais qui n'ont pas subi de traitement thermique (Renard *et al.*, 2014).

De nos jours, les produits apicoles (miel, gelée royale, propolis, cire ou pollen d'abeille) gagnent une grande importance en raison de la présence de composés bioactifs associés à des propriétés bénéfiques pour la santé. Le pollen d'abeille en particulier attire l'attention en tant qu'aliment fonctionnel pour la consommation humaine en raison de sa teneur élevée en composés ayant des effets bénéfiques pour la santé (Ares *et al.*, 2018), tels que les acides aminés essentiels, les composés phénoliques, les vitamines et les pigments qui peuvent agir comme des antioxydants puissants (Kieliszek *et al.*, 2017). En effet, le pollen constitue une source inestimable de molécules bioactives, de ce fait, il peut être considéré comme une alternative naturelle contre plusieurs maladies.

Dans le cadre de l'exploitation de la valeur alimentaire et thérapeutique du pollen, nous avons proposé d'enrichir le jus d'orange avec le pollen, c'est dans cette optique que s'inscrit notre présente étude, qui consiste à :

Étudier l'effet de la pasteurisation sur les propriétés physicochimiques et microbiologiques du jus d'orange TCHINA, ainsi que l'évaluation de la teneur en antioxydants et l'activité antioxydante des échantillons étudié (pollen, jus avant pasteurisation, après pasteurisation et le jus enrichi avec le pollen).

Ce travail, est subdivisé en trois grandes parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique répartie en trois chapitres : le jus d'orange, le pollen et l'activité antioxydante.
- La deuxième partie, englobe la présentation du matériel d'étude et de la méthodologie utilisée pour les analyses physico-chimiques et microbiologiques, dosage des antioxydants et l'évaluation de l'activité antioxydante.
- La troisième partie, présentera l'ensemble des résultats obtenus au cours de cette étude et leurs discussions pour en dégager une conclusion.

# **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I :**

## **Le jus d'orange**

## I. Le jus d'orange :

### I.1. Définition :

Le jus d'orange est un liquide non concentré, non dilué et non fermenté, obtenue par procédé du pressage des oranges saines et mures. Il est particulièrement apprécié pour sa saveur fraîche, et présente une haute valeur nutritionnelle pour sa teneur élevée en vitamine C et en antioxydants naturels (Cailhol et Grosselin, 2004 ; Galaverna *et al.*, 2008).

### I.2. Différents types du jus d'orange :

Les jus d'orange sont vendus sous différentes appellations en fonction de leur procédé de fabrication et de leur composition (Akusu *et al.*, 2016). Ces appellations sont encadrées par une réglementation stricte pour garantir une information de qualité pour les consommateurs.

- **Jus d'orange « 100 % pur jus »** : il s'agit d'une pression de fruits frais, possédant la couleur, l'arôme et le goût caractéristiques du fruit dont il provient. Les jus de fruits frais ne subissent pas de traitement thermique ni ajout d'additifs (Bodin *et al.*, 2005).
- **Jus d'orange obtenue à partir d'un concentré** : c'est le produit obtenu en remettant dans le jus de fruits concentré l'eau extraite du jus lors de la concentration, ainsi qu'en restituant les arômes et, le cas échéant, les pulpes et les cellules que le jus a perdues, mais qui ont été récupérées lors du processus de production du jus de fruits. L'eau ajoutée doit présenter des caractéristiques appropriées, notamment du point de vue chimique, microbiologique et organoleptique, de façon à garantir les qualités essentielles du jus (Codex stan 247-2005).
- **Jus d'orange concentré** : c'est le produit obtenu à partir de jus d'orange par l'élimination physique d'une partie déterminée de l'eau de constitution. Lorsque le produit est destiné à la consommation directe, cette élimination est au moins de 50 % (Codex stan 247-2005).
- **Jus d'orange déshydraté** : c'est le produit obtenu à partir de jus d'orange par élimination physique de la quasi-totalité de l'eau de constitution (Codex stan 247-2005).
- **Le nectar d'orange** : les nectars, également appelés jus pulpeux, sont préparés en mélangeant de la purée d'orange avec du sirop ou du sucre dans des proportions spécifiques. Pour l'amélioration du goût et de la couleur, on ajoute pour certains types de nectars les acides citrique et ascorbique. La teneur en purée d'orange dans

le nectar (en %) stipulé par les standards de différents pays est variable et elle n'est généralement pas inférieure à 50 % (Benamara et Agougou, 2003).

### I.3. Composition du jus d'orange :

Le jus d'orange est un produit complexe dont les propriétés physiques, chimiques et sensorielles subissent des changements tout au long du processus de fabrication. Il constitue un véritable aliment liquide, dont l'eau représente quantitativement la fraction la plus importante (86%) (Fredot, 2005).

Le jus d'orange contient environ 76% de la matière sèche hydrosoluble qui est constituée principalement par des glucides et 21% d'acide organiques, acides aminés, de sels minéraux, de vitamines et de lipides. Le 3% restant est constitué par un grand nombre de composés divers, dont les flavonoïdes, les composés volatiles, les caroténoïdes, etc ; qui ont une influence importante sur les propriétés sensorielles de ce produit (Hendrix et Red, 1995).

Le tableau suivant présente la composition chimique du jus d'orange pour 100g.

**Tableau I :** composition chimique de jus d'orange à base de concentré pour 100 g (Vierling, 2003).

Constituants	Valeurs
Extrait sec	13g
Protides	0,1g
Lipides	0g
Glucides	10g
Valeur énergétique	178kj
Minéraux	380mg
Na+	1,4mg
Ca+	170mg
Vitamines C	15mg
Carotènes	45mg
Acide folique	0,07mg
Vitamine E	0,035mg
Pectines	0,13mg

#### I.4. Technique de conservation :

Depuis toujours, l'homme a conservé les aliments dans le but de les maintenir comestibles le plus longtemps possible. Il existe de multiples méthodes de conservation des aliments, qui permettent de ralentir leur détérioration, d'éviter les intoxications et de prolonger leur durée de vie, on distingue :

- **Traitement par la chaleur :**

Le traitement des aliments par la chaleur est une technique utilisée pour la conservation de longue durée.

- La stérilisation : c'est un procédé qui consiste à soumettre un aliment à des températures élevées ( $>100^{\circ}\text{C}$ ) pendant une certaine durée, dans le but de détruire entièrement les éventuels micro-organismes, et confère une durée de vie plus longue. Du fait de l'application de très hautes températures, les propriétés de l'aliment peuvent être altérées et certains nutriments et vitamines peuvent être perdus (Piar *et al*, 2000).
- La pasteurisation : utilise des températures plus faibles, inférieures à  $100^{\circ}\text{C}$  pendant une durée déterminée et à les refroidir (Chillet, 2011), et ne permet pas l'élimination complète des micro-organismes et des spores. La pasteurisation est le processus grâce auquel les arômes ne sont pas excessivement volatilisés, et le goût et les propriétés nutritives ne sont pas altérés (Navellier, 1950). La pasteurisation en tunnel est employée après le remplissage et le bouchage des bouteilles et des canettes. Elle implique un délai de traitement thermique beaucoup plus long que la pasteurisation rapide, Plusieurs raisons justifient cette durée prolongée. Tout d'abord, la chaleur se propage lentement à travers la paroi du récipient puis à travers son contenu. Deuxièmement, une montée rapide de température peut causer un stress thermique dans le cas des bouteilles, risquant de les faire éclater. Troisièmement, un emballage fortement carbonaté peut générer une pression élevée lorsqu'il est chauffé, ce qui accroît le risque d'éclatement (Stewart et Priest, 2006).
- **Traitement par haute pression :** Elle consiste à soumettre un aliment à une pression hydrostatique élevée (HHP), affectant ses membranes cellulaires et la structure de certaines de ses protéines. De cette façon, les micro-organismes peuvent être inactivés sans altérer la qualité organoleptique ni les nutriments du produit (Silva *et al*, 2023).

- **Utilisation des conservateurs chimiques :** Ils évitent la dégradation biologique de l'aliment en détruisant les bactéries, les levures et les champignons, ou en empêchant ou réduisant leur activité. Ils sont utilisés en particulier dans les conserves de viande, les produits de boulangerie, les sauces, etc. Mais Certains conservateurs peuvent être toxiques ou mal tolérés par les personnes atteintes de certaines pathologies (Monique *et al*, 2013)
- **Traitement par irradiation :** Elle consiste à exposer le produit à l'action de radiations ionisantes ou électromagnétiques (rayons électromagnétiques), ou à des particules de haute énergie pendant une certaine durée. Il s'agit d'une méthode très utilisée dans l'industrie alimentaire. Tous les aliments ne peuvent pas être soumis à l'irradiation, mais seulement certaines viandes, fruits et légumes, crustacés, mollusques, épices et condiments (Desrosier *et al*, 2020).

## II. Technologie de fabrication du jus d'orange (Tchina) :

Le procédé de fabrication de jus d'orange Tchina en bouteille de verre (0,25 L) selon CEVITAL implique plusieurs étapes qui peuvent être regroupés en deux opérations principales : la préparation de la pulpe et la transformation en jus d'orange.

### II.1. La préparation de la pulpe :

La préparation de la pulpe est une étape cruciale dans la production du jus, ce processus comporte plusieurs étapes à partir de la matière première (les oranges fraîches).

- **Triage et lavage :** après un passage sous des rampes d'aspersion d'eau, les oranges sont triées, le plus souvent manuellement, et les fruits abîmés sont écartés (Berlinet, 2006).
- **Broyage :** ce mécanisme consiste à faire couper les oranges en fines particules, ensuite mixé formant ainsi la pulpe.
- **Désaération :** le but de cette étape est d'éliminer tous les gaz existants dans le produit broyé à l'aide d'une pompe à vide.
- **Tamissage :** l'opération assure la séparation des différentes parties et l'élimination des graines et les écorces, les deux tamis de porosité respective de 0,8 et 0,4mm, permettent d'obtenir un produit fini homogène.
- **Cuisson sous vide :** la pulpe est aspirée par des pompes des bacs de réceptions vers des boules de cuisson, l'ébullition se fait sous vide avec agitation.

- **Stérilisation** : le produit subit une stérilisation à température de 110°C pendant quelques secondes, puis refroidit jusqu'à température voisine de 30°C.
- **Remplissage aseptique et stockage** : le remplissage se fait dans des sacs stériles, pour minimiser les risques de contamination microbologique. Ensuite stockées à une température ambiante.

## II.2. Transformation en jus d'orange :

- **Aspiration de la pulpe d'orange** : aspiration de la pulpe d'orange dans un bac et addition du concentré d'orange.
- **Préparation du sirop** : le sirop est préparé à base de sucre liquide, d'eau additionnée d'acide citrique dans un bac de préparation.
- **Formulation du jus** : cette étape consiste à ajouter de l'eau mitigée et de la pulpe au sirop précédemment préparé.
- **Désaération** : ou dégazage, dont le but est d'éliminer les gaz existants dans le jus à l'aide d'une pompe à vide.
- **Lavage et rinçage des bouteilles** : en utilisant la soude pour désinfecter et éliminer toute sorte des résidus et contaminants.
- **Mirage à vide** : il s'agit de s'assurer qu'il n'y a pas de résidus de soude dans les bouteilles rincées en utilisant la phénolphtaléine.
- **Remplissage et capsulage** : les bouteilles sont positionnées sur une ligne de production où elles sont remplies avec le jus. Ensuite, elles sont scellées hermétiquement à l'aide des capsules.
- **Mirage à plein** : une inspectrice qui vérifie le volume et l'état de la bouteille.
- **Pasteurisation tunnel** : c'est un traitement thermique qui vise à inactiver les enzymes, abaisser la charge microbienne et garantir une meilleure conservation du produit, elle dure 45 minutes à 90°C.

La montée de température se fait de manière lente et homogène en trois étapes majeures :

- Le préchauffage : les bouteilles sont préchauffées pour atteindre une température voisine de 70°C pendant 10 minutes.
- La pasteurisation : les bouteilles sont ensuite exposées à une température élevée (92°C) pendant 20 minutes.

- Le refroidissement : après la pasteurisation, les bouteilles sont refroidies à une température voisine de 35°C-30°C pendant 15 minutes.
- **Étiquetage** : elle se fait automatiquement à l'aide d'une étiqueteuse qui applique les étiquettes sur les bouteilles de manière précise et uniforme.
- **Compostage des capsules** : permet de marquer les bouchons avec le numéro de lot, date et heure de fabrication.
- **Encaissage et palettisation** : mise en caisse automatique des bouteilles, ensuite réassemblage des caisses par palettisation pour assurer la stabilité de la charge.

# **Chapitre II :**

## **Le pollen**

## I. Généralités sur le pollen :

### I.1. Définition :

Le mot pollen dérive du mot grec : « Palê », ce terme désignait à la fois la farine et la poussière pollinique (Donadieu, 1983).

Selon Charpin, 2004, le pollen est l'élément reproducteur mâle des plantes à graines. Il représente une multitude de corpuscules microscopiques contenus dans les sacs polliniques de l'anthere des fleurs, constituant les éléments fécondants mâles de celles-ci. C'est un supplément nutritionnel très précieux pour les êtres humains en raison de la variété de ses principaux constituants. Très riche en composants chimiques (protéines, lipides, glucides, vitamines hydrosolubles et liposolubles...) (Campos *et al.*, 2008), il est considéré comme une source d'antioxydants qui sont des substances de protection pour l'organisme (Percie de sert, 2009).



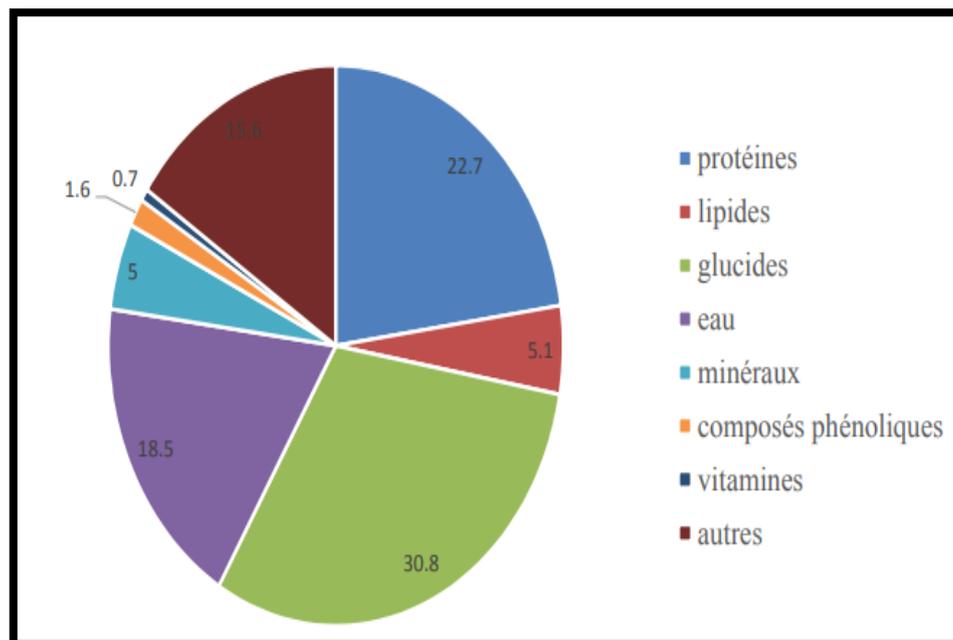
Figure 01 : Différentes granules du pollen (Jaroz, 2003).

### I.2. Composition du pollen :

La composition du pollen est très variable, principalement en fonction des plantes visitées par les abeilles mais également en fonction de l'origine géographique (Bogdanov, 2014).

- **Teneur en eau :** La teneur en eau est différente selon que l'analyse est pratiquée avant ou après séchage en vue de sa bonne conservation (Donadieu, 1983). On retrouve 4% d'eau dans le pollen asséché et 10 à 12% dans le pollen frais (Blanc M., 2010).
- **Les glucides :** les sucres les plus fréquents sont le fructose, le glucose et le saccharose issus du nectar qui entre dans la confection des pelotes (Cousin L. 2014).

- **Protides** : Le pollen est considéré comme un aliment protéinique avec un pourcentage moyen de 20%, il est principalement représenté par les acides aminés, les enzymes telles les transférases et certains nucléosides (Campos *et al.*, 2008).
- **Lipides** : Les lipides sont retrouvés essentiellement au niveau de l'exine parmi lesquels des phospholipides, des acides gras libres (acide linoléique, linoléique et arachidonique), des glycérides, des stérols, des terpènes, entrant dans la composition de certaines huiles essentielles, ou encore des hydrocarbures (Blanc M., 2010).
- **Antioxydants** : le pollen d'abeille est une source importante d'antioxydants y compris les polyphénols, les flavonoïdes et la beta carotène (Hurd, 2003).
- **Vitamines** : les principales vitamines sont celles du groupe B (B1, B2, B3, B5, B6, B7, B8, B9, B12), de la provitamine A ou de  $\beta$ -carotène Par ailleurs, des très faibles quantités de vitamine C, vitamine D et E sont retrouvées (Sauvager, 2012).
- **Substances minérales** : la concentration en minéraux est environ 5 %, elle varie en fonction de l'origine florale et de la saison (Amigou, 2016). Les éléments présents sont le calcium, le chlore, le cuivre, le fer, le magnésium, le manganèse, le phosphore, le potassium, le silicium, le soufre, ainsi que le sélénium, un antioxydant très rare (Dancy, 2015).



**Figure 02** : composition général moyenne du pollen frais (Katarzyna *et al.*, 2015).

### I.3. Effets nutritionnels et thérapeutiques du pollen :

- Le pollen est l'aliment naturel le plus riche en sélénium qui est un cofacteur pour le glutathion peroxydase, agit contre le vieillissement accéléré des cellules en éliminant les radicaux libres et le peroxyde d'hydrogène, causes de maladies cardio-vasculaires ou de cancers (Apimondia, 2001 ; Nagai *et al.*, 2005).
- Le pollen déclenche une forte sécrétion gastrique d'acide lors de son ingestion. Également, la microflore apportée par celui-ci aiderait à l'équilibre de la flore intestinale et assurerait le transit grâce à la présence d'amidon et de fibres alimentaires cellulosiques. De plus, il exercerait une action anti-inflammatoire selon une étude menée chez le rat (Bogdanov, 2014).
- Des études ont démontré l'effet bactériostatique et bactéricide des pollens quel que soit leur origine géobotanique. In-vitro, la croissance de certaines souches est inhibée ; *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Apimondia, 2001).
- Le pollen a été proposé comme complément alimentaire précieux, car il entraîne le gain du poids plus rapide qu'un régime normal grâce à sa composition en vitamines, acides aminés et biomolécules, il augmente le taux d'hémoglobine et le nombre des globules rouges (Campos *et al.*, 2010).
- L'effet antidépresseur du pollen repose en partie sur sa composition en tryptophane (précurseur de la sérotonine) ainsi que ses capacités antioxydantes. Le tryptophane est l'un des huit acides aminés essentiels et est le précurseur de la sérotonine et de la mélatonine. L'augmentation de sa concentration au niveau du cerveau augmente la libération de sérotonine qui a un rôle primordial dans la régulation de l'anxiété, de l'appétit, du sommeil et de l'humeur en général. Cette augmentation de sérotonine cérébrale se traduit donc par une diminution de l'excitation et de l'anxiété (Inserm, 2019).

# **Chapitre III :**

## **L'activité antioxydante**

## **I. L'activité antioxydante :**

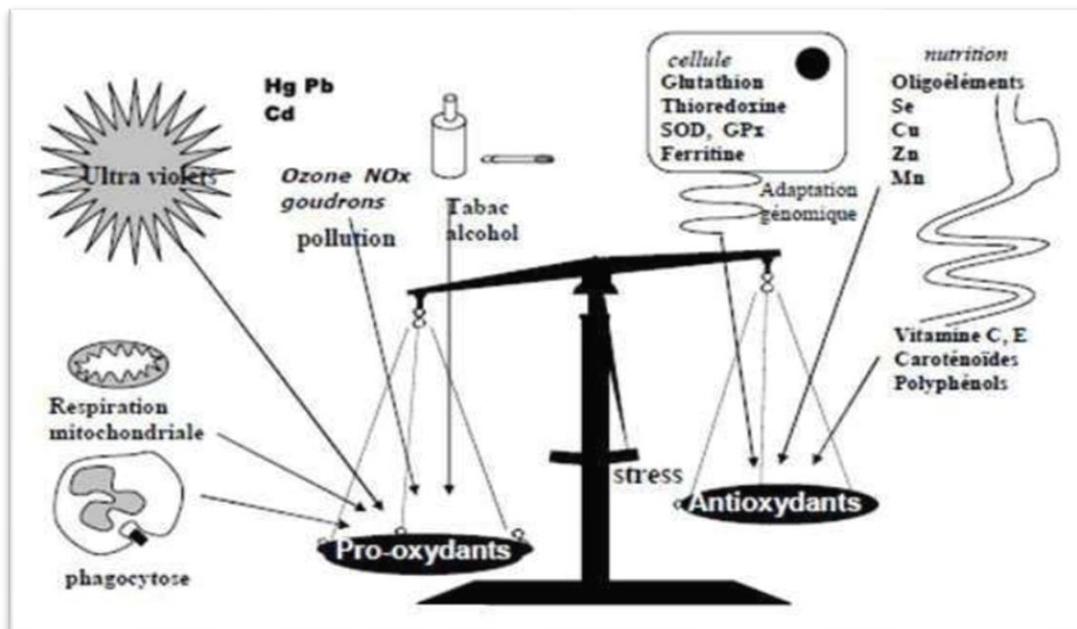
L'activité antioxydante est l'action qui consiste à l'inhibition des réactions en chaîne de production de radicaux libres et limitants ainsi leur action. Cette propriété est souvent exprimée par les nombreuses familles de polyphénols. Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi être destructrices (Popovici, 2009).

## **II. Le stress oxydant et les radicaux libres :**

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, (Tessier et Marconnet., 1995 ; Gaudable et Favier, 1997) contenant un électron ou plusieurs non apparié extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques. Par exemple, lors de la respiration cellulaire, l'oxygène moléculaire se transforme en diverses substances oxygénées, communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species : ROS) (Gutteridge, 1993). Certains radicaux libres sont bénéfiques et utilisés par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions cellulaires comme la prolifération et la mort cellulaire programmée (apoptose), impliquant des modifications des voies de signalisation intracellulaires associées à une modulation de l'expression génique (Hassaine, 2016).

Dans certaines situations, cette production augmente fortement, entraînant un stress oxydatif que l'on définit comme une circonstance anormale qui traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes (Favier, 2006) entraînant un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydante (Morena et al., 2002). Ce déséquilibre est à l'origine de nombreux facteurs, notamment les polluants présents dans l'air que nous respirons et l'eau et les aliments que nous consommons. Les rayons ultraviolets du soleil, d'autres radiations, la fumée de tabac et l'exercice excessif sont également des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système (Favier, 2003). Les espèces réactives de l'oxygène sont impliquées dans diverses pathologies aiguës et chroniques en raison de leur capacité à endommager les cellules, les tissus et les organes (Gutteridge, 1993).

La figure 03 explique les circonstances menant à un stress oxydatif. Ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires. (Haleng *et al.*, 2007).



**Figure 03 :** La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006)

### III. Les antioxydants :

Les antioxydants sont définis comme l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement à faibles doses la production de radicaux libres et limitants ainsi leur action (Favier, 2003). Ils sont des agents qui réagissent facilement avec les substances oxydantes pour les inactiver et les éliminer, et diminuent le stress oxydatif (Halliwell et Gutteridge, 1999).

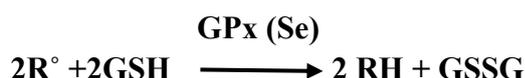
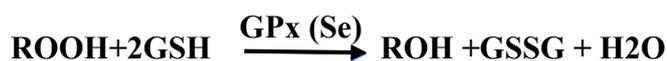
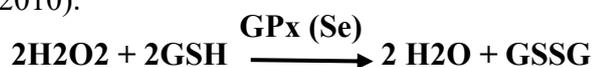
Pour se protéger des effets délétères des radicaux libres, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydants. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une exogène qui est apportée par l'alimentation, l'autre est endogène qui se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) (Haleng *et al.*, 2007).

#### III.1. Les antioxydants endogènes :

##### Les antioxydants endogènes enzymatiques :

Les antioxydants enzymatiques sont des composants synthétisés par l'organisme et constituent la première ligne de défense contre les espèces réactives de l'oxygène ROS, on distingue :

- **Les glutathions peroxydases :** Le (GPX) est une enzyme qui décompose aussi le peroxyde d'Hydrogène en utilisant le glutathion comme donneur d'hydrogène (Bédane, 2008). Elles catalysent la réduction par la glutathion réduit (GSH) du peroxyde d'hydrogène en eau et de divers hydroperoxydes lipidiques produits (ROOH) en alcools et des espèces radicalaires en espèce non radicalaire. Les réactions mise en jeu sont les suivantes (Reichel, 2010).

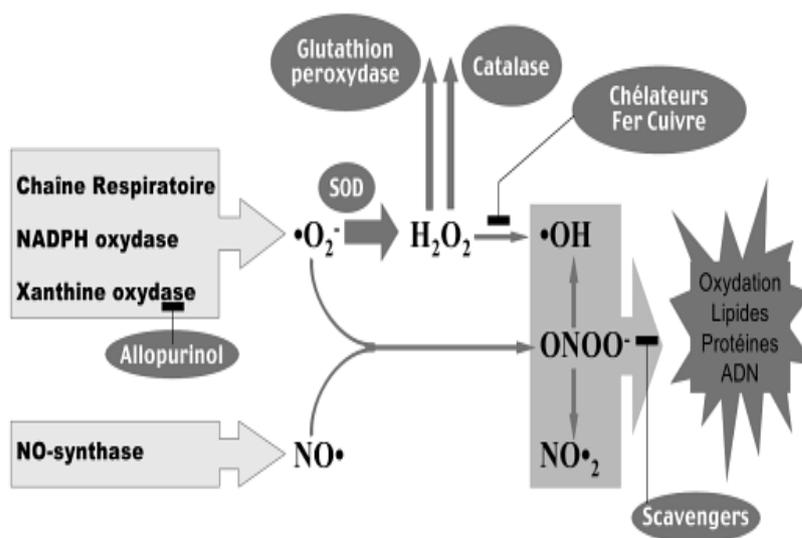


- **Les catalases :** Elles neutralisent le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$  en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important, notamment en présence d'ions ferreux (Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993).



- **Les superoxydes dismutases (SOD) :** La famille des superoxydes dismutases ; dont le rôle est d'éliminer des radicaux superoxydes par dismutation du radical en  $\text{H}_2\text{O}_2$  et en  $\text{OH}^+$  et  $\text{OH}^-$ . L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (Goudable & Favier, 1997).





**Figure 04 :** Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène.

### Les antioxydants endogènes non enzymatiques :

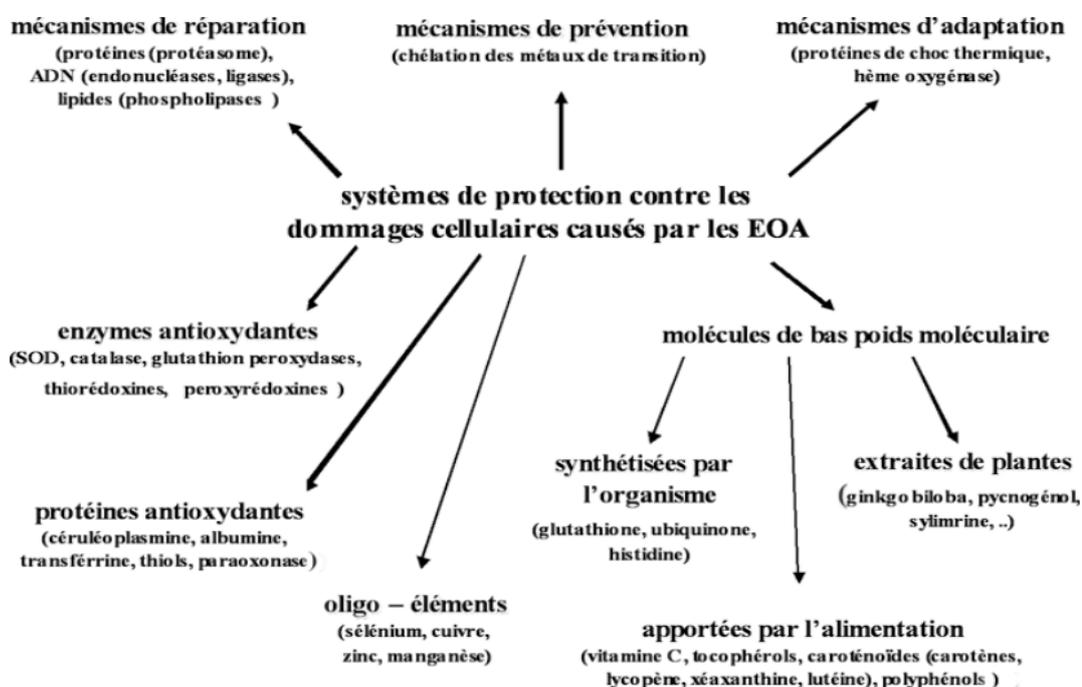
Ce type d'antioxydant possède un avantage considérable par rapport aux antioxydants enzymatiques. Du fait de leur petite taille, ils peuvent en effet pénétrer facilement au cœur des cellules et se localiser à proximité des cibles biologiques. Parmi ces molécules on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine et certaines protéines (transferrine, ferritine, céruléoplasmine) qui maintiennent les métaux de transition dans un état inactif pour la formation d'ROS (Pincemail *et al*, 2002).

### III.2. Les antioxydants exogènes :

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libre » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des radicaux, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire (Christelle, 2006).

- **La vitamine C :** ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. Apportée par l'alimentation, elle passe rapidement dans le sang puis diffuse de façon variable dans tous les tissus. La vitamine C est nécessaire pour de nombreuses fonctions physiologiques de la biologie humaine (Fain, 2004).

- **La vitamine E** : la vitamine E joue un rôle clé d'antioxydants à la fois dans l'organisme vivant et dans les conditions expérimentales, son mode d'action consiste à neutraliser les radicaux libres, en se transformant elle-même en un radical non toxique. La vitamine E oxydée est ensuite générée grâce à la vitamine C, D'où l'importance d'avoir des niveaux suffisants des deux pour la protection contre la peroxydation lipidique (Goudable & Favier, 1997).
- **Les composés phénoliques** : Les composés phénoliques constituent un groupe important et diversifié de métabolites secondaires synthétisés par les plantes durant leur développement (Ribéreau Gayon, 1968). L'activité antioxydante des composés phénoliques est attribuée à leur grande réactivité en perdant un proton pour donner un radical libre fortement stabilisé inhibant ainsi l'oxydation de façon indirecte en désactivant l'oxygène singulet ou chélater les métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (Benzie, 2003 ; Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).
- **Les caroténoïdes** : Ce sont des molécules qui forment une grande famille (famille des carotènes) et qui sont des pigments naturels liposolubles dont la couleur varie du jaune au rouge orangé, sont habituellement consommés dans l'alimentation humaine (Rao et Rao, 2007). Les caroténoïdes grâce à leur longue chaîne carbonée riche en doubles liaisons, agissent en stabilisant les radicaux libres (ROO•) en les neutralisant par transfert d'hydrogène (El-Agamey *et al.*, 2004).



**Figure 05** : Réseau des antioxydants (Defraigne et Pincemail, 2008)

# **Partie expérimentale**

# **Matériels et Méthodes**

Ce travail a été effectué au niveau des laboratoires physico-chimie et microbiologique de l'unité SPA CEVITAL El-Kseur et de laboratoire pédagogique de physico-chimie des aliments de la faculté de science de la nature et de la vie de l'université de Bejaia.

Notre étude est portée sur l'impact de la pasteurisation sur la qualité physicochimique et microbiologique du jus d'orange « Tchina » conditionné dans des bouteilles de verre RB (Returnable Bottle), l'effet de son enrichissement avec le pollen sur son activité antioxydante a été également évalué.

Pour cela, l'objectif de notre travail est l'étude des paramètres physicochimiques et microbiologiques du jus (avant et après pasteurisation), ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydantes, de nos échantillons (pollen, jus avant pasteurisation, après pasteurisation et jus enrichi avec le pollen)

## I. Échantillonnage :

Les échantillons de jus ont été collectés de manière aseptique, manipulé et stocké dans un environnement propre au sein du laboratoire d'analyse afin de prévenir toute détérioration, modification de la composition ou contamination de la part du manipulateur ou de l'environnement. L'échantillonnage a été effectué au niveau de la chaîne de production RB a la même heure, en prélevant 5 bouteilles de jus Tchina en verre (de 25cl de volume, après remplissage et bouchonnage) avant pasteurisation tunnel et après pasteurisation tunnel (figure 3). Les échantillons sont conservés à 4°C. L'échantillon de pollen étudié est le pollen commercialisé, il a été broyé (figure 5) et stocké dans un flacon propre à température ambiante.



**Figure 06 :** Echantillons du jus et pollen.

## II. Analyses physicochimiques :

Les analyses physicochimiques ont été réalisées pour évaluer les changements provoqués par la pasteurisation tunnel sur le produit. Ces analyses ont été réalisées sur le produit avant pasteurisation et après pasteurisation.

### II.1. Détermination du Brix :

Le degré Brix est une méthode de détermination du résidu sec soluble du jus de fruits. Autrement dit, il sert à mesurer la fraction du saccharose dans un liquide (Alavoine et al., 1986).

#### Mode opératoire :

Le °Brix est mesuré à l'aide d'un réfractomètre (ATAGO, Palette, PR-201α), sur lequel quelques gouttes de produit sont disposées sur le prisme permettant ainsi de lire la valeur directement sur réfractomètre.

### II.2. Détermination du potentiel d'hydrogène :

L'une des propriétés physico-chimiques les plus importantes d'une boisson est son pH (AFNOR, 1986), c'est une mesure d'acidité d'une solution.

#### Mode opératoire :

La mesure du pH a été réalisée avec un pH-mètre (WTW, ph 3110), tout en introduisant la sonde à l'intérieur du produit à analyser et lire la valeur du pH directement sur l'appareil à 20°C (Francis et Harmer, 1988).

### II.3. Détermination de l'acidité titrable :

L'acidité du jus correspond principalement à la présence d'acides organiques utilisés. L'acide citrique étant le principal acide organique des agrumes (Dias *et al.*, 2017).

Le principe de la méthode consiste en un titrage de l'acidité de 10 ml d'échantillon avec une solution d'hydroxyde de Sodium (NaOH) 0,1N en présence d'un indicateur coloré qui est la Phénolphtaléine. Le point d'équivalence est déterminé lors du virage de couleur de l'échantillon vers le rose clair (ISO 750).

L'acidité est déterminée selon la formule suivante :

$$A = V \cdot 0,64$$

Où :

A : acidité titrable (g/l).

V : volume de NaOH utilisé.

0,64 : coefficient d'acidité.

### III. Recherche et dénombrement des levures et moisissures :

Les levures et les moisissures sont des micro-organismes hétérotrophes. En fonction des genres et des espèces, ils peuvent être utilisés comme une flore technologique, ou bien comme un indicateur de contamination (Dupin, 1992).

#### Mode opératoire :

La recherche des levures et moisissures a été réalisée par ensemencement en masse sur milieu YGC (yeast glucose chloramphenicol), un volume de 1ml de jus est dispersé dans le fond d'une boîte de Pétri, et le milieu de culture est ensuite coulé par-dessus.

Deux boîtes pour chaque échantillon et une boîte témoin pour le milieu de culture ont été ensemencées, puis incubées à 25°C pendant 05 jours.

Ces micro-organismes apparaissent en masse à la surface et en profondeur de la gélose YGC sous forme des colonies blanchâtres et verdâtres. Pour le comptage des colonies, les boîtes qui contiennent entre 30 et 300 colonies sont prises en considération (Guiraud, 2003).

### IV. Préparation des échantillons :

#### IV.1. Enrichissement du jus :

Afin de préparer le jus enrichi (jus d'orange pasteurisé enrichi avec le pollen) (figure 4), 1g de poudre de pollen commercialisé est additionné à 50ml de mélanges d'échantillons de jus pasteurisé, après agitation pendant 10min, le mélange est versé dans une fiole de 100ml et complété avec le jus jusqu'au trait de jauge.



**Figure 07** : enrichissement du jus avec le pollen.

## **IV.2. L'extraction des antioxydants :**

### **IV.2.1. L'extraction à partir du pollen :**

La méthode d'extraction suivie est la macération, il s'agit d'un contact entre le support solide et le solvant. L'extrait de pollen a été préparé selon la méthode de Gabriel *et al.*, (2015).

Une prise d'essai de 0,5g de pollen est mélangée avec 50ml de solution d'hydro-éthanolique (50%). Le mélange est agité pendant 40min, puis centrifugé à 5000tr/min pendant 10min, après filtration, les solutions sont conservées à 4°C à l'obscurité.

### **IV.2.2. Extraction à partir du jus :**

Un volume de 50ml du mélange d'échantillons de jus (avant/après pasteurisation et enrichi) est mélangé avec 50ml de solution hydro-éthanolique (50%). Le mélange subit une agitation pendant 30min et centrifugation à 5000tr/min pendant 10min, puis conservé à 4°C à l'obscurité.

## **V. Dosage des antioxydants :**

### **V.1. Dosage des polyphénols totaux :**

La teneur en polyphénols est déterminée selon la méthode de Ribéreau-Gayon (1968). Cette dernière est basée sur la réduction du réactif de Folin Ciocalteu par les composés phénoliques contenus dans les extraits.

#### **Mode opératoire :**

1ml d'extrait (pollen, jus avant/après pasteurisation et enrichi) est mélangé avec 2ml du réactif de Folin–Ciocalteu dilués 1/10. Après 3 min, 2ml de carbonate de sodium (6%) sont additionnés. L'absorbance est mesurée à 760 nm après 20 min d'incubation. La teneur en composés phénoliques est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100g de pollen (mg EAG/100g de pollen) par référence à une courbe d'étalonnage (Annex I).

### **V.2. Dosage des flavonoïdes :**

La méthode est basée sur la formation de complexes jaunâtres par liaison des ions  $Al_3^+$  provenant de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) avec les groupements OH, La coloration ainsi formée est proportionnelle au taux de flavonoïdes dans les échantillons (Ribereau-Gayon, 1968). La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode colorimétrique de Lamaison et Carnat (1991).

**Mode opératoire :**

2 ml de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>, 2%) sont mélangés avec 2 ml de l'extrait (pollen, jus avant/après pasteurisation et enrichi). Après incubation pendant 20 minutes à température ambiante, les absorbances des échantillons sont lues au spectrophotomètre à 420 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par 100g de pollen (mg EQ/ 100g de pollen) en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions opératoire (Annex II).

**V.3. Dosage des caroténoïdes :**

La majorité des caroténoïdes sont lipophiles, solubles dans les solvants organiques mais insolubles dans l'eau. La classe des carotènes se solubilise facilement dans l'éther de pétrole, l'hexane et le toluène (RodriguezAmaya, 2001). La teneur en caroténoïdes est déterminée selon la méthode décrite par Soto-Zamora *et al.*, (2005).

**Mode opératoire :**

Un volume de 10 ml de solvant d'extraction (hexane/acétone/éthanol 5,5/2,5/2) est ajouté à 0,5g (pour le pollen) et 3ml (pour le jus avant/après pasteurisation et enrichi). Après agitation pendant 30 min, le mélange est centrifugé (5000T/ pendant 10 minutes). L'absorbance est mesurée à 450nm après la récupération du surnageant. Les résultats sont exprimés en mg équivalent  $\beta$ -carotène par 100g de pollen (mg E $\beta$ -carotène/100g de pollen) en se rapportant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions opératoire (Annex III).

**V.4. Dosage de l'acide ascorbique :**

Le dosage est basé sur la réaction d'oxydation de la vitamine C par une solution de DCPIP (2,6-dichlorophénolindophénol) en milieu acide, le produit de réduction de ce dernier est de couleur rose. Si la vitamine C est présente, la coloration bleue du DCPIP qui devient rose dans les conditions acides, va donner un composé incolore en oxydant l'acide ascorbique (Hughes, 1983). La teneur en vitamine C a été déterminée selon la méthode décrite par Mau *et al.* (2005).

**Mode opératoire :**

Une quantité de 0,1g est mélangé avec 10ml d'acide oxalique (pour le pollen) et 5ml (pour les jus avant/après pasteurisation et enrichi qui sont dilués 1/10) est mélangé avec 5ml d'acide oxalique. Après agitation pendant 5 min le mélange est centrifugé à 5000T/15 min. 1ml du surnageant est mélangé avec 1ml de DCPIP (2,6-dichlorophénolindophénol). Un témoin est

réalisé en parallèle en remplaçant le surnageant par l'acide oxalique. L'absorbance est mesurée à 515 nm.

Les résultats sont exprimés en pourcentages de réduction du DCPIP selon la formule ci-dessous, puis en équivalent d'acide ascorbique en mg pour 100g (mgEAA/100g) pour le pollen, et en équivalent d'acide ascorbique en mg pour 100ml (mgEAA/100ml) pour le jus en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide ascorbique (Annexe IV).

$$\%DCPIP \text{ réduit} = [(Abs \text{ témoin} - Abs \text{ Echantillon}) / Abs \text{ témoin}] \times 100.$$

Abs témoin : Absorbance du témoin.

Abs Echantillon : Absorbance de l'échantillon

## VI. Evaluation de l'activité antioxydante :

### VI.1. Activité anti-radicalaire DPPH :

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante. En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne un changement de couleur de la solution du violet au jaune (Molyneux, 2004). Le protocole utilisé dans cette méthode est celui décrit par Milardovié *et al.* (2006).

#### Mode opératoire :

1ml de la solution méthanolique de DPPH est mélangé avec 1ml de l'extrait de pollen ou d'extrait de jus (avant/après pasteurisation, enrichi). Un témoin est réalisé en parallèle en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction. La mesure de la réaction de réduction de DPPH a été faite à 517 nm après incubation de 20 min à température ambiante. Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction de DPPH comme suit :

$$\% \text{ de réduction du DPPH} = (Abs \text{ contr} - Abs \text{ éch} / Abs \text{ contr}) \times 100$$

Abs contr : Absorbance contrôle

Abs éch : Absorbance échantillon

## VI.2. Pouvoir réducteur :

Le pouvoir réducteur se base sur la réaction d'oxydoréduction, dont la réduction du chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) en chlorure ferreux ( $\text{FeCl}_2$ ) en présence d'un agent chromogène : le Ferricyanure de Potassium en milieu acidifié par l'acide trichloracétique (Ribeiro *et al.*, 2008). Le pouvoir réducteur a été déterminé selon la méthode décrite par Kumar *et al.* (2005).

### Mode opératoire :

Un volume de 1ml d'extrait (pollen, jus avant/après pasteurisation et enrichi) dilué à 1/10 est ajouté à 2,5 ml de tampon phosphate (pH 6,6 ; à 0,2 M), suivi de 2,5ml de Ferricyanure de Potassium à (1%). Après agitation, le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min. 2,5 ml d'acide trichloracétique à (10%) sont additionnés au mélange. Un volume de 1,25ml du surnagent est ajouté à 1,25 ml d'eau distillée, puis 0,25 ml de chlorure ferrique à (0,1%) est additionné au mélange. L'absorbance est lue à 700 nm.

## VII. Analyse statistique :

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais (au minimum). L'analyse descriptive des résultats est réalisée avec le logiciel Microsoft Office Excel 2019, pour déterminer les moyennes, les écarts types. Une analyse de la variance (ANOVA) suivi du test LSD (La plus petite différence significative) a été appliqué à l'aide du logiciel STATISTICA 5,5 afin de mettre en évidence les différences significatives au seuil  $p < 0.05$ .

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ( $p < 0,05$ ), quant à ceux qui portent la même lettre ne présentent pas de différence significative. Les résultats sont classés par ordre croissant :  $a < b < c < d$ . Et les barres verticales représentent les ectypes.

# **Résultats et discussions**

## I. Analyses physicochimiques :

Les résultats de la caractérisation physicochimique des échantillons de jus avant et après la pasteurisation tunnel sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau II** : Résultats des analyses physicochimiques des échantillons.

	Avant pasteurisation	Après pasteurisation
<b>pH</b>	3,22 ± 0,0109 <sup>a</sup>	3,23 ± 0,0054 <sup>a</sup>
<b>°Brix</b>	10,8 ± 0 <sup>a</sup>	10,8 ± 0 <sup>a</sup>
<b>Acidité (g/l)</b>	2,24 ± 0 <sup>a</sup>	2,23 ± 0 <sup>a</sup>

Les valeurs du pH mesuré pour les échantillons avant et après la pasteurisation tunnel est ne montre pas de différence significative. Par ailleurs, l'analyse statistique a révélé que la pasteurisation n'a pas d'effet significatif sur l'acidité et le Brix.

Nous pouvons donc conclure que la pasteurisation n'affecte pas les paramètres physicochimiques.

## II. Analyses microbiologiques :

Les résultats d'analyses microbiologiques avant et après pasteurisation tunnel, sont présentés dans le tableau ci-dessous :

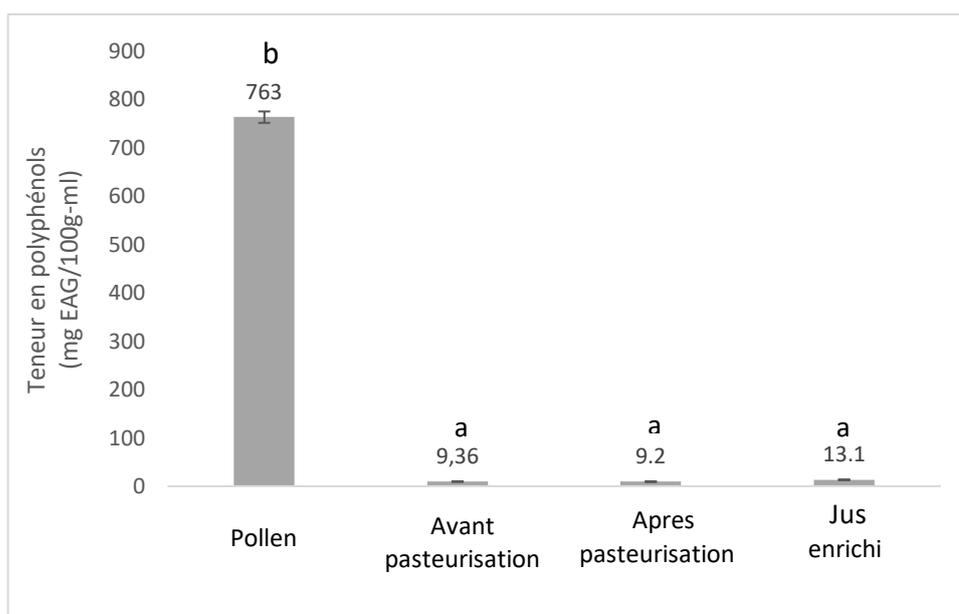
**Tableau III** : Résultats des analyses microbiologique des échantillons du jus avant et après la pasteurisation.

Les échantillons à analysés	Levures et moisissures				
	ECH1	ECH2	ECH3	ECH4	ECH5
<b>Échantillons avant pasteurisation</b>	190UFC/ml	>300	>300	>300	>300
<b>Échantillons après pasteurisation</b>	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS

Les résultats du dénombrement des levures et moisissures des échantillons avant traitement thermique (pasteurisation tunnel) montrent une présence importante qui est de 190UFC/ml pour le premier échantillon et indénombrable (>300 UFC/ml) pour les autres échantillons. Cependant, une absence totale des levures et moisissures est noté après traitement thermique. Cela démontre l'efficacité du traitement par pasteurisation tunnel pour éliminer ces micro-organismes d'altération dans le jus.

### III. Dosages des antioxydants :

#### III.1. Dosage des polyphénols totaux :



**Figure 08 :** Teneur en polyphénols totaux des échantillons étudiés.

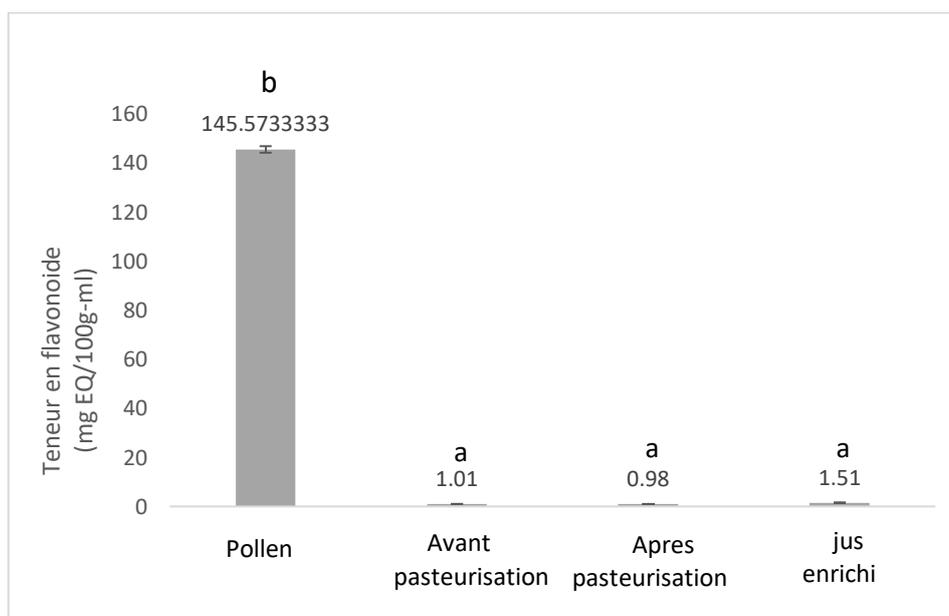
Selon la figure 5, nous pouvons constater que l'extrait de jus avant et après pasteurisation ne présente pas de différence significative concernant leur teneur en polyphénols, donc nous pouvons conclure que la pasteurisation n'a pas d'effet significatif sur cette teneur. Par ailleurs, l'enrichissement du jus avec le pollen n'a pas d'effet très significatif sur la teneur en polyphénols du jus. Concernant l'extrait du pollen, sa teneur en polyphénol (763mg EAG/100g du pollen) est significativement supérieure à celles des échantillons de jus.

La teneur en composés phénoliques totaux du pollen enregistré dans la présente étude est similaire à celle trouvée par Fatrcová-Šramková *et al.* (2016), dont la valeur est de 765mg EAG/100g de pollen et est largement supérieure aux valeurs enregistrées par Ulusoy et kolayli,

(2014) allant de 44,07 à 124,10mg EAG/100g MS. D'après Mărgăoan *et al*, (2021), la teneur en composés phénoliques du pollen dépend non seulement de leur origine botanique mais aussi d'autres facteurs, tels que l'activité apicole et les conditions climatiques.

La teneur en composés phénoliques totaux du jus enrichi avec le pollen obtenu dans la présente étude, est presque similaires à celle rapportée par Stan, (2018) qui a enregistré une teneur de 13,39mg EAG/100ml de jus. La différence entre l'échantillon du pollen et les échantillons du jus peut s'expliquer par la disponibilité des composés phénoliques en quantité élevée dans le pollen que dans le jus.

### III.2. Dosage des flavonoïdes :



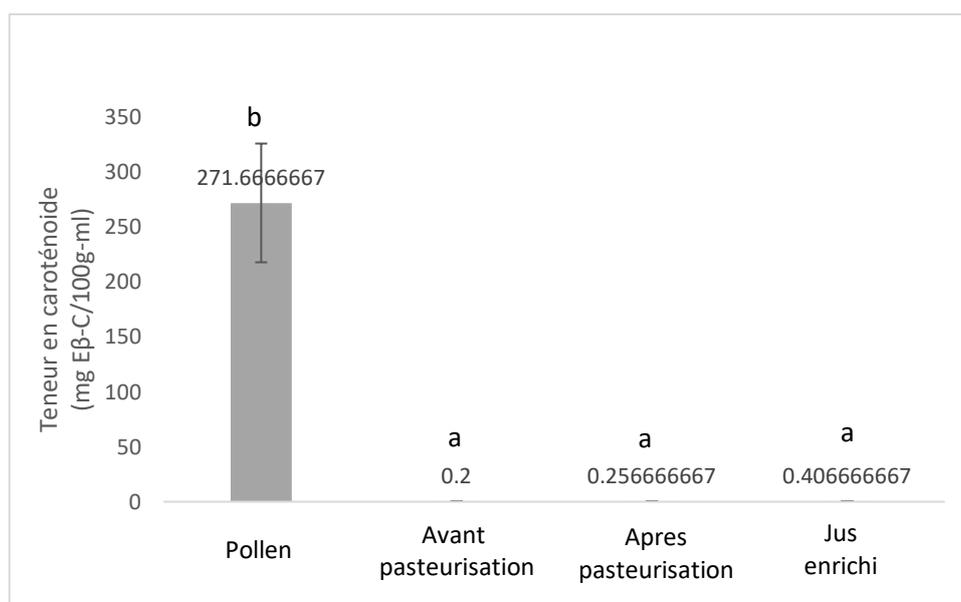
**Figure 09 :** Teneur en flavonoïdes des échantillons étudiés.

La teneur en flavonoïde du jus avant pasteurisation (1,01mg EQ/100ml de jus) ne présente pas de différence significative par rapport à celle du jus après pasteurisation (0,98mg EQ/100ml de jus) (figure 8), cela peut être expliqué par la stabilité des flavonoïdes lors du traitement thermique (Kenjric *et al*, 2007). La teneur de l'échantillon du jus enrichi avec le pollen (1,51mg EQ/100ml de jus) est supérieure par rapport aux échantillons du jus avant et après pasteurisation, toutefois, l'analyse statistique n'a mis en évidence aucune différence significative entre les trois derniers échantillons. Concernant le pollen, sa teneur en

flavonoïdes (145,57mg EQ/100g de pollen) est largement supérieure à celles des échantillons de jus (avant, après et enrichi).

Le pollen se distingue par la concentration la plus élevée, qui est supérieur aux résultats rapportés par Fatrcová-Šramková *et al.* (2016), qui a enregistré une valeur de 105,82mg EQ/100g de pollen, mais inférieur à ceux obtenus par Pascoal *et al.* (2013) (300 mg EQ/100g). Selon Xu *et al.* (2008), la diversité des teneurs en flavonoïdes peut être due aux conditions environnementales (la lumière, climat, saison, et le soleil) et le degré de maturation du fruit.

### III.3. Dosage des caroténoïdes :



**Figure 10 :** Teneur en caroténoïdes des échantillons étudiés.

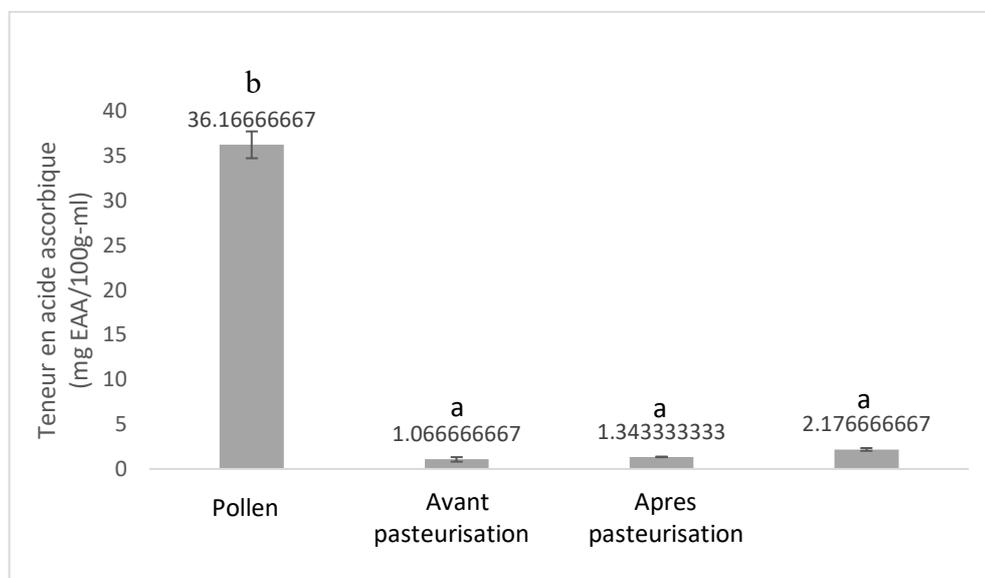
Tout comme la teneur en polyphénols et les flavonoïdes, la teneur en caroténoïdes du jus avant pasteurisation (0,2mg Eβ-C/100ml de jus) ne diffère pas d'une manière significative de celle du jus après pasteurisation (0,25mg Eβ-C/100ml de jus). La teneur en caroténoïdes du jus enrichi avec le pollen (0,40mg Eβ-C/100ml de jus) est légèrement supérieure à celle des deux échantillons précédents, même s'il n'y a toujours pas de différence significative entre les trois échantillons. En effet, les caroténoïdes sont relativement stables dans les milieux acides, ce qui est typique pour les jus de fruit, cette stabilité permet aux caroténoïdes du pollen ajouté de rester intacte et d'augmenter la teneur en caroténoïdes dans le jus (Barbieri *et al.*, 2020).

Concernant le pollen, il présente la valeur la plus élevée (271mg E $\beta$ -C/100g de pollen) par rapport aux autres échantillons, et l'étude statistique a révélé une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre l'échantillon de pollen et les échantillons du jus.

Le pollen étudié présente une forte teneur en caroténoïdes, qui est supérieur aux résultats rapportés par Fatrcová-Šramková *et al.* (2016), qui est de 261,33mg E $\beta$ -C/100g de pollen.

Selon Kato *et al.* (2004), la concentration en caroténoïdes varie non seulement avec les espèces mais aussi avec les variétés, les facteurs naturels (la lumière, le sol, le degré de maturation, le climat, l'origine géographique et les conditions de culture), ainsi que les conditions de conservation et de stockage.

#### III.4. Dosage d'acide ascorbique :



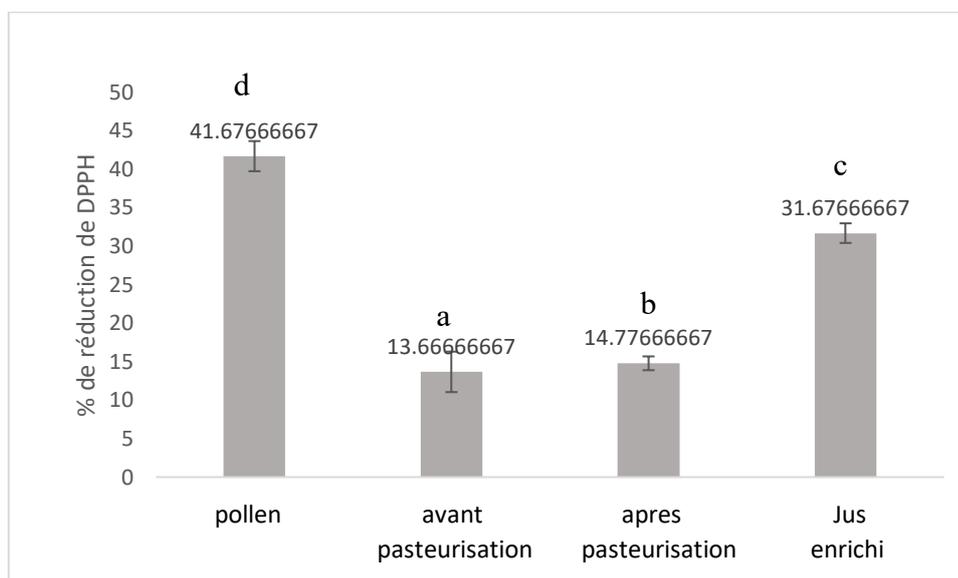
**Figure 11** : Teneur en vitamine C des échantillons étudiés.

La teneur en vitamine C dans le jus avant pasteurisation (1.06 mg EAA/100g) est légèrement faible par rapport à celle du jus après pasteurisation (1.34 mg EAA/100g), d'autre part, la teneur en vitamine C du jus enrichi avec le pollen (2.17mg EAA/100g) est supérieure aux teneurs de jus avant et après pasteurisation, mais il n'y a pas une différence significative entre les trois échantillons de jus. Le pollen contient une teneur en vitamine C (36.16 mg EAA/100g) est significativement supérieure à celles des échantillons de jus étudiés.

La teneur en vitamine C du pollen enregistré dans cette étude est de 36.16 mg EAA/100g, qui est largement supérieure à celle rapporté par (Philippe, 1988) qui démontre que le pollen contient 7000µg EAA/100g.

#### IV. Evaluation de l'activité antioxydante :

##### IV.1. Activité anti-radicalaire DPPH :



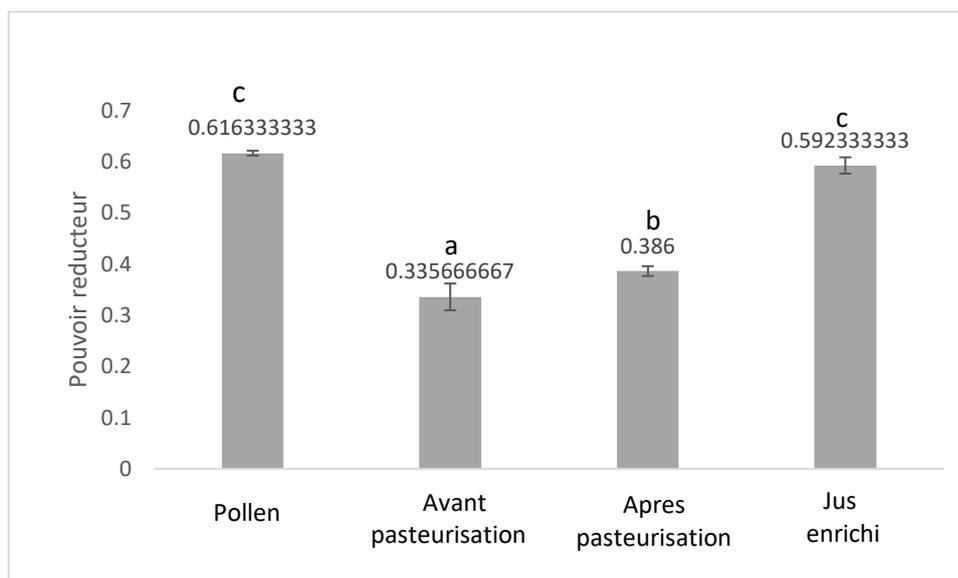
**Figure 12 :** Activité antiradicalaire DPPH des échantillons étudiés.

La figure 09 montre que l'activité anti-radicalaire du jus pasteurisé (14.77%) est significativement supérieure par rapport à celle du jus avant pasteurisation (13.66%), ceci peut être expliqué par la qualité des antioxydants. L'activité anti-radicalaire de jus enrichi (31.67%) est aussi significativement supérieure aux activités antiradicalaires des échantillons avant et après pasteurisation, L'addition du pollen a augmenté considérablement son pouvoir antiradicalaire. Concernant l'extrait de pollen, son activité antiradicalaire (41.67%) est largement supérieure à celles des échantillons de jus étudiés (avant, après pasteurisation et enrichi).

L'activité anti-radicalaire du pollen enregistrée dans la présente étude (41.67%) est inférieure aux résultats rapportés par Fatrcová-Šramková *et al.* (2016), qui varie entre 47.97% et 50.46%. Cette différence est probablement due à leur composition en différents composés

phénoliques. La réduction du DPPH n'est généralement pas due à l'action d'un seul composé mais aux interactions entre plusieurs composés.

#### IV.2. Pouvoir réducteur :



**Figure 13 :** Pouvoir réducteur des différents échantillons étudiés.

Le pouvoir réducteur du jus pasteurisé est de 0.39 qui est significativement supérieur par rapport à celui du jus avant pasteurisation (0.33), ces résultats indiquent que le chauffage provoque une augmentation du potentiel réducteur, ceci peut être expliqué par la libération des groupements hydroxylés des flavonoïdes (Mouhoubi, 2007). Concernant le pouvoir réducteur de jus enrichi qui est de 0.59 et celui de l'extrait de pollen (0.61), ils ne présentent aucune différence significative d'après l'étude statistique effectuée.

La valeur du pouvoir réducteur du jus enrichi est proche de celle du pollen, une valeur du pouvoir réducteur élevée signifie que le pollen a apporté des composés antioxydants qui augmentent la capacité du jus à réduire les substances oxydantes. Cela implique que le pollen est une source intéressante d'antioxydants naturels.

Selon Saha *et al.*, (1970) les propriétés réductrices sont généralement associées à la présence de réductones, dont l'action antioxydante est démontrée en brisant le radical libre en faisant don d'un atome d'hydrogène et selon Al-Mamary *et al.*, (2002), la diversité du pouvoir réducteur des extraits est probablement due à la diversité des composés phénoliques présents dans les extraits.

# **Conclusion**

## **Conclusion**

Dans notre étude, nous nous sommes intéressées à déterminer l'impact de la pasteurisation sur la qualité du jus d'orange Tchina et effet de l'enrichissement avec le pollen, en suivant les paramètres physico-chimiques (pH, acidité, Brix), microbiologiques, et les teneurs en antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes et vitamines C) ainsi que les propriétés antioxydantes (activité anti-radicalaire DPPH, et le pouvoir réducteur) du pollen, du jus (avant et après pasteurisation) et le jus enrichi avec le pollen.

Les résultats d'analyses physico-chimiques (pH, acidité, Brix), nous révèlent des valeurs qui ne diffèrent pas significativement, et qui sont inclus dans la norme de l'industrie CEVITAL. Ainsi donc, la pasteurisation du jus n'a pas d'effets sur les paramètres physicochimiques.

Les résultats des analyses microbiologiques des échantillons du jus avant et après pasteurisation ont montré l'efficacité du traitement qui est mis en œuvre dans l'usine vis-à-vis de la destruction des levures et moisissures et leur capacité d'empêcher toute altération microbienne de produit.

En effet, le pollen présente la meilleure teneur en antioxydants et une meilleure activité antioxydante qui est dû à sa richesse, ce qui justifie l'intérêt de sa consommation.

L'enrichissement du jus avec le pollen a donné de meilleurs rendements en pouvoir réducteur et en activité anti-radicalaire DPPH tandis que le rendement en polyphénols, flavonoïdes, caroténoïdes et vitamine C, n'est pas élevé mais qui est supérieur par rapport à ceux du jus avant et après pasteurisation. D'une manière générale l'addition du pollen au jus accroît son activité antioxydante.

Le dosage du jus avant et après pasteurisation n'a pas montré une différence importante, mais le rendement en activité anti-radicalaire DPPH et en pouvoir réducteur du jus pasteurisé est supérieur au rendement du jus non pasteurisé, qui est expliqué par la différence en teneur des polyphénols et la libération des groupements hydroxylés des flavonoïdes.

Au cours de cette étude, nous avons atteint un certain nombre d'objectifs qui ont été fixés au début de notre travail. Sur la base des données obtenues dans le présent travail, on peut conclure que l'addition du pollen au jus a amélioré ses propriétés nutritionnelles et son activité antioxydante.

Enfin, il serait souhaitable d'étudier l'enrichissement du jus avec le pollen en concentrations différentes, et d'utiliser plusieurs échantillons de pollen provenant de différentes origines botaniques, d'enrichir le jus avec la propolis.

# **Références bibliographiques**

## Références :

### A

**AFNOR (Association Française de Normalisation) (1986).** Jus de fruits et de légumes : spécification et méthodes d'analyse. 2<sup>ème</sup>éd, Tour Europe, Paris ;155.

**Akusu, O. M., Kiin-Kabari, D. B., & Ebere, C. O. (2016).** Quality Characteristics of Orange/Pineapple Fruit Juice Blends. *American Journal of Food Science and Technology*, 4(2), 43- 47.

**Alavoine F, Crochon M, Fady C, Favot J, Moras P, Pech JC (1988).** La qualité gustative des fruits. *Méthodes pratiques d'analyses*: 7-18.

**Al-Mamary, M., Al-Meeri, A., & Al-Habori, M, (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*. 22(9). 1041–1047.

**Amigou M., (2016).** Les résidus de médicaments vétérinaires et de pesticides dans les produits apicoles alimentaires (miel, pollen, gelée royale et propolis). Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, pp. 139, 27-41.

**Apimondia, (2001).** Standing commission of apitherapy *Traité d'Apithérapie, La médecine par les abeilles [cédérom]* v.1.01 PC-Mac Produit par Api-Ar International SA R Brussels. ISBN: 2- 9600270-0-0.

**Ares A M., Valverde S., Bernal JL., Nozal M J. et Bernal J., (2018).** Extraction and determination of bioactive compounds from bee pollen. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*: 147. 110–124.

**Ashurst, P. R. and Hargitt, R. (2009).** Ingredients in soft drinks and fruit juices. *Soft Drink and Fruit Juice Problems Solved*, 20–59.

**Atsalakis, E., Chinou, I., Makropoulou, M., Karabournioti, S., Graikou K. (2017).** Evaluation of phenolic compounds in *Cistus creticus* bee pollen from Greece. Antioxidant and antimicrobial properties. *Natural Product Communications*, 12(11),1813-1816.

### B

**Barbieri, D., Gabriele, M., Summa, M., Colosimo, R., Leonardi, D., Domenici, V., & Pucci, L. (2020).** Antioxidant, nutraceutical properties, and fluorescence spectral profiles of bee pollen samples from different botanical origins. *Antioxidants*, 9(10), 1001. bee pollen. *Journal of Food Biochemistry*, 38(1), 73-82.

**Benamara S et A gougou A. (2003).** Production des jus alimentaires Office des publications universitaires Eds (Alger),2003, pp : 11 – 92

**Blanc M. (2010).** Propriétés et usage médicinal des produits de la ruche. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Limoges, Faculté de Médecine et de Pharmacie ,27p.

**Bodin M., Abtroun A., Boudra A., Jolibert F., Tirard A. et Touaiba H. (2005).** Etude de la filière boissons, Euro développement pme Alger.

**Bogdanov S., (2014).** Pollen : production, nutrition and health: a review. Bee product science.

## C

**Cailhol M. et Grosselin B. (2004).** Pratique du bar et des cocktails : études sur les boissons, cocktails, technologie du bar, gestion. Editions BPI, pp: 248.

**Campos M. G. R., Bogdanov S., de Almeida-Muradian L. B., Szczesna T., Mancebo Y., Frigerio C. et Ferreira F., (2008).** Pollen composition and standardization of analytical methods. Journal of Apicultural Research and Bee World.47 (2). 156-163.

**Campos M.G.R., Frigerio C., Lopes J et Bogdanov S. (2010).** What is The future of Been pollen.journal of apiproduct and apimedical science,2(4):131-144.

**Carpes S T., Begnini R., Mtias de alencarS et Lucia Massen M. (2007).** Study of préparation of bee pollen extract,antioxidant and antibacterial activity.Ciênc.Agrotec.Lavras ,31:1816-1825.

**Carrera G. (1986).** Les besoins nutritionnels, In Toxicologie et sécurité des aliments Tee & Doc, Lavoisier et APRIA Eds (Paris) 1986, pp : 36 – 38.

**Charpin, (2004).** Les pollens, les pollinoses et autres maladies respiratoires allergiques, service pneumo-allergologie de l'hôpital Nord France, p10.

**Chillet, P. (2011).** La pasteurisation. *CRDP d'Aquitaine: Bordeaux-Paris.*

**Christelle K-R .2006.** Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases . Nutrition clinique et métabolisme. 20(2006) :165–177.

**CODEX STAN 247-2005 (2005).** « Codex alimentarius- Codex général standard for fruit juices and Nectars » [www.codexalimentarius.net](http://www.codexalimentarius.net).

**Cousin L. (2014).** L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Poitiers, Faculté de Médecine et de Pharmacie, p.32.

**Cuq JL(2007)**. Contrôle de qualité des aliments, Microbiologie alimentaire, Science et technologie des industries alimentaires Université Montpellier : 19 – 56.

## D

**Dancy A., (2015)**. Le Tao du Pollen & L'Art des aiguilles et du Feu. Centre Imhotep. pp 42.

**Defraigne J.O. Pincemail. J (2008)** STRESS OXYDANT ET ANTIOXYDANTS : mythes et réalités Revu Med Liège 2008; 63 : Synthèse 10 2008 : 10-19

**Denisowa Bozena and Denisow-Pietrzyk Marta, (2016)**. Biological and therapeutic properties of bee pollen. Society of Chemical Industry.

**Desrosier, N. W., & Singh, R. P. (2020)**. La conservation des aliments: définition, importance et méthodes. *Britannica*.

**Dias, D., Duarte, W. and Schwan, R. (2017)**. Methods of Evaluation of Fruit Wines. Science and Technology of Fruit Wine Production, 227-252.

**Didaras, N. A., Karatasou, K., Dimitriou, T. G., Amoutzias, G. D., Mossialos, D. (2020)**. Antimicrobial Activity of Bee-Collected Pollen and Beebread: State of the Art and Future Perspectives. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 9(11), 811.

**Diplok, A.T. (1991)**. Antioxydant nutriments and disease prevention: an Overview. *Am J Clin Nutr*: 53 (suppl): 189S-93S.

**Donadieu Y. (1983)**. Le pollen : thérapeutique naturelle. Edition : Maloine S. A.Paris. 97.µ

## E

**El-Agamey A., GordonM.,LoweH ., DavidJ.,McGarveyA-M., Denise M-P-T.,GeorgeT and Andrew J-Y. (2004)**. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 37-48.

## F

**Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Máriássyová, M., & Kačániová, M. (2016)**. Biologically active antimicrobial and antioxidant substances in the *Helianthus annuus* L. bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51(3), 176-181.

**Fain, O. (2004)**. Mise au point : Carences en vitamine C. *La revue de médecine interne* 25, 872–880.

**Favier A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques, l'actualité chimique, Grenoble, France.

**Favier. A. 2006.** Le stress oxydant, Stress oxydant et pathologies humaines. Ann Pharm Fr. 2006.108-115 pp.

**Feás, X.,Vázquez-Tato, M. ., Estevinho, L., Seijas, J. A.,Iglesias, A. (2012).**Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. Molecules, 17(7), 8359-8377.

**Francis Aj, Harmer Pw. Fruit Juices And Soft Drinks. Inranken, M.D (1988).** Food Industries Manuel. Pennsylvanie : Edition Blakies & Son Ltd: 249-284

**Fredot E. (2005).** Connaissance des aliments, bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Editions TEC & DOC, Lavoisier. Paris.

## G

**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: Effect on bioactive compounds and antioxidant activity. Food chemistry, 106(3), 1021-1030.

**Garait, B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université Joseph Fourier-Grenoble.

**Gomez P. L., Welti-Chanes J. et Alzamora S. M. (2011).** Hurdle technology in fruit processing. Annual review of food science and technology. Pp 447-465.

**Goudable.G.Favier.A. (1997).** Radicaux libres oxygen et antioxydant. Nutre clin metabol 1997;11:115-20.

**Guiraud Jp (2003).** Microbiologie Alimentaire. Paris : Edition Dunod : 42-63.

**Gulcin I., Huyut Z., Elmastas M., Hassan Y. et Aboul- een D. (2010).** Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. Arabian Journal of Chemistry.3(1):43-53.

**Gutteridge, J.M. (1993).** Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence, Free Radic Res Commun, 19:141-158.

## H

**Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C., Chapelle J. P. (2007).** Le stress oxydant. 62 (10) : 628-638.

**Halliwell, B; Gutteridge, J.M.C. (1999).** Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK.

**Henri Clément, Etienne Bruneau, Jean-Marie Barbançon, Paul Bonnaffe, Roch Domerengo, Gilles Fert, Yves Le Conte, Gilles Ratia, Catherine Reeb, Bernard Vaissiere, 2011.** Le Traité Rustica De L'apiculture. Editions Rustica.France.ISBN :978-2-84038-421-3, p365-368

**Hughes D.E. (1983).** Trimetric determination of ascorbic acid with 2,6-dichlorophenol indophenols in commercial liquid diets. *Journal of pharmaceutical sciences.* (72) :126-129.

**Human.H et Nicolson S.W, (2006).** Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of aloe greatheadii var. davyana. *Photochemistry.* v.67. p. 1486-1492.

**Hurd L. (2003).** Bee pollen : top rank antioxidant. *Total Health,* 24 :40-42. In les composés phénoliques des végétaux. Edition : Dunad 9. Paris, p. 1-27

## I

**INESRM,** « Institut national de la santé et de la recherche médicale ». <https://www.inserm.fr>

## J

**JarozN. (2003).** Etude de la dispersion atmosphérique du pollen du maïs : contribution à la maîtrise des risques de pollinisation croisée. *Biologie végétale.* INAPG (Agro Paris Tech), Français, P.19.

**Jarozn. (2003).** Etude de la dispersion atmosphérique du pollen du maïs : contribution à la maîtrise des risques de pollinisation croisée. *Biologie végétale.* INAPG (Agro Paris Tech), Français, P.19.

## K

**Kanoun, K. (2011).** Contribution À L'étude Phytochimique Et Activité Antioxydante Des Extraits De Myrtus Communis L. (rayhane) De La Région De Tlemcen (honaine) [Mémoire de Magister, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen].

**Katarzyna. K, Pawel O,Justyna K, Lukasz M, KrystynaOlczyk, (2015).** Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application.Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.vol. Article ID 297425, 6 pages.

**Kato, M., Ikoma, Y., Matsumoto, H., Sugiura, M., Hyodo, H., & Yano, M. (2004).** Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiology*, 134(2), 824-837.

**Kenjeric, D., Mandić, M. L., Primorac, L., Bubalo, D., & Perl, A. (2007).** Flavonoid profile of Robinia honeys produced in Croatia. *Food Chemistry*, 102(3), 683-690.

**Kieliszek M., Piwowarek K., Kot A.M., Błażej S., Chlebowska-Śmigiel A. et Wolska I., (2017).** Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review, Trends in Food Science & Technology, doi: 10.1016/j.tifs.2017.10.021.

**Lamaison J.L. et Carnat A. (1991).** Teneurs en principaux flavonoides des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* ( Poiret ) DC. en fonction de la végétation. *Pl. Med. Phytother*, (25): 12 - 16.

## L

**Leong L.P., and Shui G. (2002).** An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food chemistry*,76(1): 69-75.

**Lewicki, P., Walczak, W., & Goss, B. (1983).** Heat transfer in a tunnel pasteuriser. Part I. Factors affecting the rate of heating of liquid in a bottle. *Journal of food engineering*, 2(4), 309-322.

**Lindau-sehpard, B; Shaffer, J. (1993).** Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage, *Free rad boil Med* , 15:581-8.

## M

**Marfak, A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoides, etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : Formation de depsides. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges.

**Mărgăoan, R., Özkök, A., Keskin, Ş., Mayda, N., Urcan, A. C., & Cornea-Cipcigan, M. (2021).** Bee collected pollen as a value-added product rich in bioactive compounds and unsaturated fatty acids: A comparative study from Turkey and Romania. *Lwt*, 149, 111925.

**Marie-France H. (1965).** Composition et propriétés du pollen : Revue de travaux récents. Les annales de l'abeille, INRA Editions, 8(4) : 299-307.

**Mau J.L., Tsai S.Y., Tseny Y.H. et Huang J.S. (2005).** Antioxidant properties of méthanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. Food Chemistry, 93(4):641-649.

**Mercante M. Z., Steck A., and Pfander H. (1999).** Carotenoids from Guava (*Psidium guajava* L.): Isolation and Structure Elucidation. Journal Agricol. Food Chemistry, 47, 145-151.

**Meyer A, Deiana J, Bernard A (2004).** Cours De Microbiologie Général : Avec Problèmes Et Exercices Corrigés. Paris : Editions Doin : 102 – 152.

**Milardović S., Iveković D. et Grabarić B.S. (2006).** A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. Bioelectrochemistry, (68): 175-180.

**Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*. 26 (2): 211-219.

**Monique, Z., & Souad, C. (2013).** *Flores protectrices pour la conservation des aliments*. Editions Quae.

**Morena M., M. Martin-Mateo, J.-P. Cristol et B. Canaud. (2002).** Stress oxydant, hémocompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie* Vol. 23 n° 5 2002

**MOUHOUBI, Z. (2007).** *Influence de la température de conservation sur la qualité du miel; effet sur le pouvoir auto-oxydant* (Doctoral dissertation, Université de Béjaia-Abderrahmane Mira).

## N

**Navellier, E. (1950).** L'embouteillage des jus de fruits: pasteurisation [Suite du vol. 5: n° 2, 1950, p. 51-57]. *Fruits*, 5(3), 93-98.

## P

**Pascoal A., Rodrigues S., Teixeira A., Feas X et Estevinho M L. (2014).** Biological activities of commercial bee pollen: Antimicrobial, Antimutagenic, Antioxidant and Anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63:233-239.

**Pavel Jonás. (2009).** Modelling and Control of Tunnel Pasteurizers (THESIS).

**Pérez-Pérez, E. M., Vit, P., Rivas, E., Sciortino, R., Sosa, A., Tejada, D., & Rodríguez-Malaver, A. J. (2012).** Antioxidant activity of four color fractions of bee pollen from Mérida, Venezuela. *Archivos latinoamericanos de nutricion*, 62(4), 376-380.

**Philippe J. M., 1988.** Le guide de l'apiculture. Edisud. Paris. P: 154-272.

**Pincemail .J. Bonjean .K. Cayeux .K. Olivier Defraigne .J. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme* 16 (2002) 233–239.

**Pincemail, J ; Defraigne, J.D. (2004).** Les antioxydants un vaste réseau de defenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Service de Chirurgie Cardio-vasculaire, Pro biox SA. Sart Tilman 4000 Liège, Belgique.s

**PIAR, G., & LANOISELLÉ, J. L. (2000).** Appertisation des denrées alimentaires. In *Colloque annuel-SFT* (pp. 3-33).

**Popovici, C. (2009).** Journal revue de génie industriel, 4, 25-39.

## R

**Rao A.V. et Rao L.G. (2007).** Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*. (55): 207-216.

**Renard C.M.G.C., Caris-Veyrat C., Dufour C. et Le Bourvellec C. (2014).** Le devenir des polyphénols et caroténoïdes dans les fruits et légumes traités thermiquement. *Innovations Agronomiques* 42 : 125-137.

**Retsky K.L., Chen K., Zeind J. and Frei B. (1999).** Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxohistidine formation. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(1-2):90-98.

**Ribereau-Gayon P. (1968).** Notion générale sur les composés phénoliques. In : Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod. pp : 1-40.

**Riberau-Gayon P. (1968).** Propriétés chimiques des phenols. Application aux produits naturels. In: Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod. 28-157.

**Rodriguez-Amaya B. D. (2001).** A guide to carotenoid analysis in foods. Ed. International life Institue. pp 1-60.

## S

**Saha, M., Hasan, S., Akter, R., Hossain, M., Alam, M., Alam, M. et Mazumder, M. (1970).** Activité in vitro de piégeage des radicaux libres de l'extrait au méthanol des feuilles de *Mimusops elengi* Linn. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*. 6 (2). 197-202.

**Sauvager F. (2012).** Les produits de la ruche et la santé humaine. Montpellier.

**Shahidi, F. (Ed.). (2014).** *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. John Wiley & Sons.

**Shismizu H., Kiyohara Y., Kato I., Kitazono T., Tanizaki Y., Kubo M., Ueno H., Ibayashi S., Fujishima M., Iida M. (2004).** Relationship Between Plasma Glutathione Levels and Cardiovascular Disease in a Defined Population: The Hisayama Study. *Stroke*, 35 (9), 2072-2077.

**Silva, F. V. M. (2023).** Pasteurization of food and beverages by high pressure processing (HPP) at room temperature: inactivation of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, and other microbial pathogens. *Applied Sciences*, 13(2), 1193.

**Smelt, J. P. P. M. and Brul, S. (2014).** Thermal Inactivation of Microorganisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(10), 1371-1385.

**Soto-Zamora G., Yahia E.M., Brecht J.K. et Gardea A. (2005).** Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. *Food Science and Technology*, (38) : 657-663.

**Stahl W., Sies H. (1997).** Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*, 46, S14-S18.

**Stahl, W., & Sies, H. (2003).** Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects Of Medicine*, 24(6), 345-351. [https://doi.org/10.1016/s0098-2997\(03\)00030-x](https://doi.org/10.1016/s0098-2997(03)00030-x)

**Stan, L. (2018).** Bee pollen as antioxidant ingredient in ready-to-serve citrus juice. *Scientific Papers. Series D. Animal Science*, 61.

**Stewart, G. G. and Priest, F. G. (2006).** *Handbook of Brewing, Second Edition (Food Science and Technology)* (2e éd.). CRC Press.

**Stoyanovsky D.A., Goldmana R., Darrow R.M., Organisciakb D.T., Kagana V.E. (1995).** Endogenous ascorbate regenerates vitamin E in the retina directly and in combination with exogenous dihydrolipoic acid. *Current Eye Research*, 14(3):181-189.

**Szczena T. (2007).** Concentration of selected elements in honey-bee collected pollen. *Journal of Apiculture Science*, 51. N01.

## **T**

**Tessier F, P Marconnet. (1995).** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science & Sports Elsevier, Paris (1995) 10.1-130

## **U**

**Ulusoy, E., & Kolayli, S. (2014).** Phenolic composition and antioxidant properties of Anzer.

## **V**

**Vergely C., et Rochette L. (2003).** Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. Médecine thérapeutique Cardiologie.1(3) :131-139.

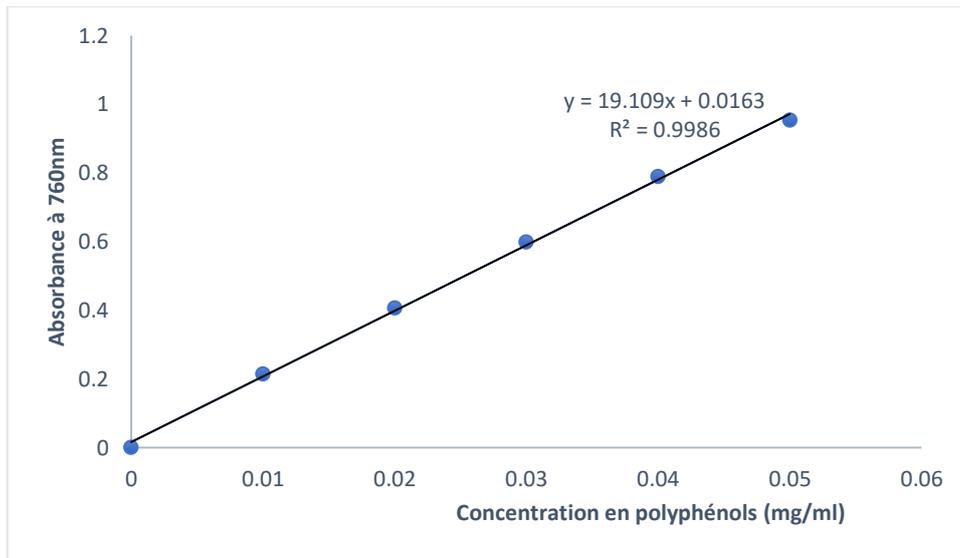
**Vierling E. (2003).** Aliments et boissons. Tome II. Filière et produits. 2ème Ed Dion éditeurs, p : 232-236.

## **X**

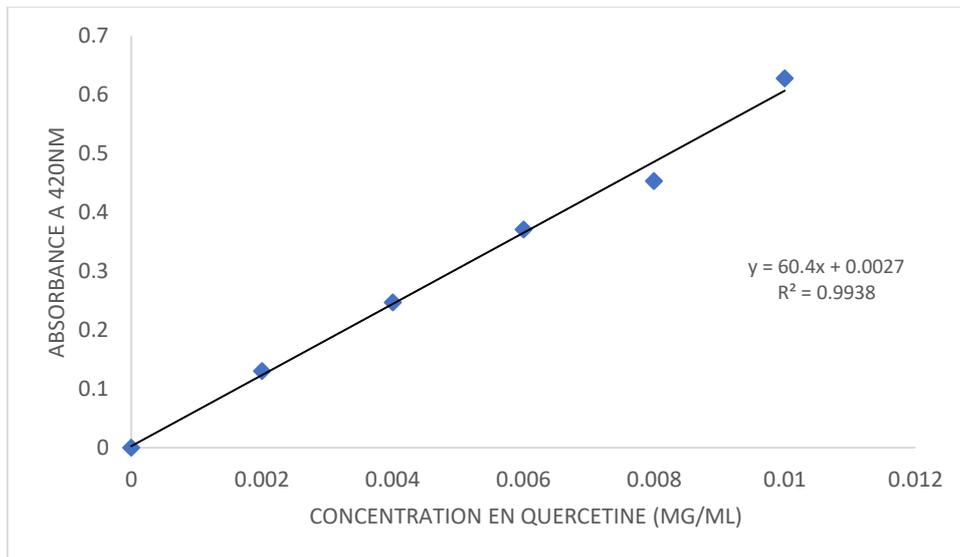
**Xu G., Liu D., Chen J., Ye X., Ma Y. et Shi J. (2008).** Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. Food Chemistry, 106 (2): 545-551.

# **Annexes**

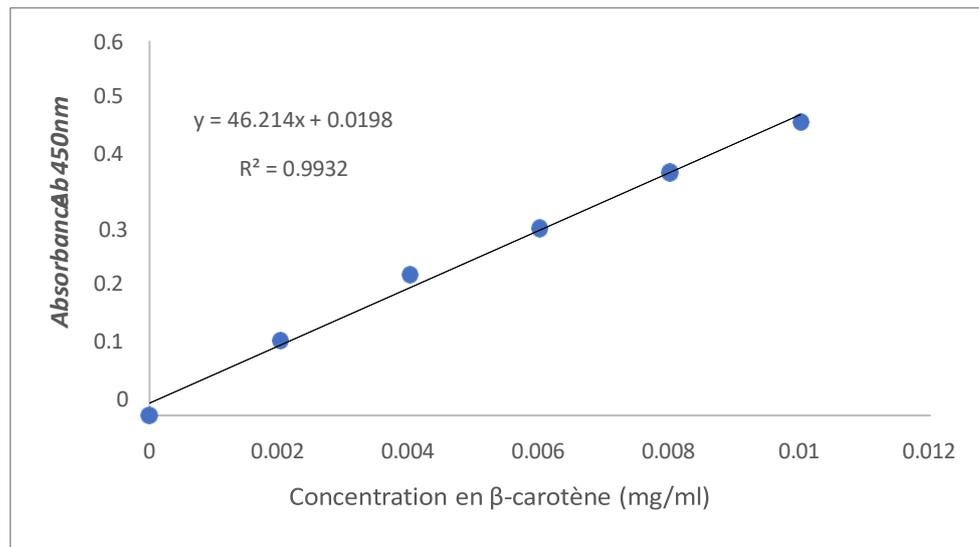
**Annexes :**



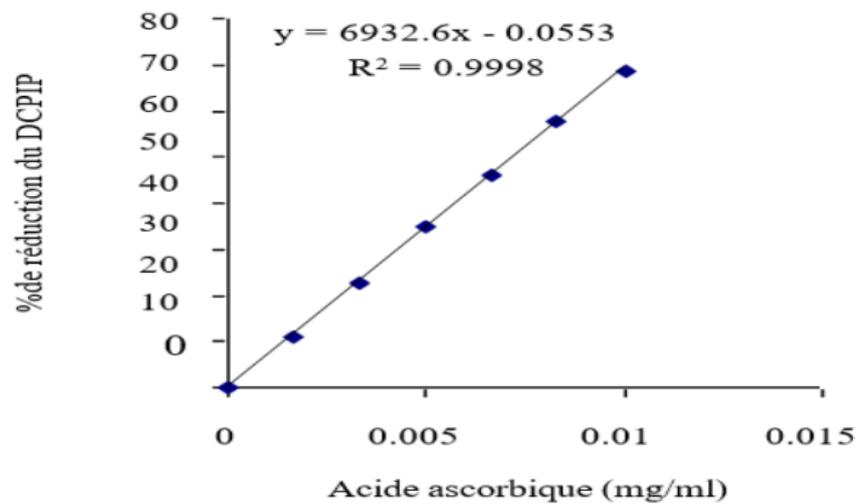
**Annexe I :** Courbe d'étalonnage des polyphénols.



**Annexe II :** Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.



**Annexe III :** Courbe d'étalonnage des caroténoïdes.



**Annexe IV :** Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.

## **Résumé :**

La présente étude porte sur l'impact de la pasteurisation sur les paramètres physicochimique et microbiologique du jus Tchina, et effet de son enrichissement avec le pollen en évaluant les teneurs en antioxydants ainsi que l'activité antioxydante contenue dans le jus, le pollen et le jus enrichi avec le pollen.

Les résultats montrent que la pasteurisation n'a pas affecté les paramètres physicochimique et antioxydants du jus, mais qui a montré son efficacité à la destruction des microorganismes. L'étude a révélé l'amélioration du jus enrichi en antioxydants qui est expliqué par la richesse du pollen.

**Mots clés :** jus, pollen, qualité, pasteurisation, enrichissement, activité antioxydante, antioxydants.

## **Abstract:**

This study focuses on the impact of pasteurization on the physicochemical and microbiological parameters of Tchina juice, and the effect of its enrichment with pollen by evaluating the antioxidant contents and antioxidant activity in the juice, pollen, and pollen-enriched juice.

The results indicate that pasteurization did not affect the physicochemical and antioxidant parameters of the juice but effectively destroyed microorganisms. The study revealed the enhancement of antioxidant-rich juice when enriched with pollen, attributed to the richness of the pollen.

**Keywords:** juice, pollen, quality, pasteurization, enrichment, antioxidant activity, antioxidants.