

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

Université Abderrahmane MIRA de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires

Mémoire de fin de cycle

En vue d'obtention du diplôme de Master en Industrie Laitière.

Thème

Etude de l'effet de la température de conservation sur l'évolution de quelques substances bioactives et de l'activité antioxydante d'une boisson au lait

Présenté par :

M^{elle} DJOUADI Lila

M^r CHEKROUNE Sofiane

Devant le jury:

Présidente: M^{me} SOUFI / O.

M.A.A.

Promotrice: M^{elle} LOUAILECHE / H.

Professeur

Examinatrices: M^{me} YAHIAOUI / H.

M.A.A

M^{elle} ZEMOURI / S.

M.A.B

Année universitaire : 2012-2013

Remerciements

Avant tout : Louange à ce lui qui nous a créé, protégé, aidé et nous a donné la patience et le courage pour pouvoir accomplir entre autre ce mémoire de fin d'étude dans les meilleures conditions, « Dieu Merci ».

Notre profonde reconnaissance et nos remerciements les plus sincères vont en tout premier lieu, à notre promotrice, le Professeur LOUAÏLECHE H., pour nous avoir accueillis dans son laboratoire et pour le temps et l'intention qu'elle a bien voulu consacré au bon déroulement de ce travail.

Qu'il nous soit permit de remercier également :

M^{me} SOUFI.O pour avoir accepté de présider le jury et d'évaluer ce travail.

M^{me} YAHIAOUI.H et M^{lle} ZEMOURI.S, pour avoir accepté de donner de leur temps pour évaluer ce travail.

Nos remerciements vont aussi à La direction de la Sarl ifri, pour nous avoir ouvert les portes et mis à notre disposition les moyens nécessaires, ainsi qu'à l'ensemble du Personnel du Laboratoire et du service de contrôle de qualité, pour leur entière disponibilité et coopération lors de la réalisation de ce travail.

Le soutien, l'encouragement et l'aide de tous les membres du laboratoire de biochimie alimentaire ont été très importants pour la réalisation de ce travail, en particulier M^r BENCHIKK, M^r TOUATI, M^{lle} MEZIANI, M^{lle} SACI, M^{lle} BOUKHANOUF et M^{me} BESSATI Qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde affection.

Nous remercions aussi, tous ceux et toutes celles qui ont contribué, à quelque titre ou degré que ce soit à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Avec l'aide de Dieu le tout puissant et en guise de reconnaissance, Je dédie ce travail :

*A ceux qui ont donné un sens à mon existence,
Qui m'ont indiqué la bonne voie et attendues avec patience les fruits de ma bonne éducation,
A ceux qui m'ont soutenu nuits et jours, et durant tout mon parcours
A vous très chers parents je vous dis merci.*

*A mes frères Idris, Rachid et Mohamed,
Merci d'être toujours là pour moi.
A mon adorable neveu sylas,
A mes belles sœurs Lila et Doudah.*

*A mon mari,
Avec toute mon affection et mon éternelle reconnaissance,
Je ne te remercierai jamais assez pour ton soutien indéfectible,
Et ton incroyable efficacité dans les moments difficile.*

A mes beaux parents, mes beaux frères, ma belle sœur et leurs enfants

A toute ma famille.

A mon binôme

*A mes copines Ouarda, Lyly, Kaïssa et Kahina
Ainsi qu'à toutes mes amies.*

Lila



Dédicace

*En guise de reconnaissance
Je dédie ce modeste travail à
Mes très chers parents pour leur aide, leur soutien, leur
amour et
Surtout leur patience
Mon seul et unique frère Braham
Mon adorable sœur rima et son mari
Mes oncles, exceptionnellement Hocine
Mes cousins et cousines
Toute ma famille
Mes amis en particulier Amine, mouloud, Facine
Ma binôme Lila, au quelle je serais reconnaissent pour
toujours*

*Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.
-M.E.R.C.I.-*

Sofiane



Sommaire

Liste des figures et des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

I- Généralités sur la boisson lactée.....	2
I-1.Définition	2
I-2. Composition d'une boisson lactée	2
I-2.1. Concentré de jus de fruit	2
I-2.2. Le lait en poudre.....	2
I-2.3. L'eau	2
II-2.4. Le sucre	3
I-2.5. Les additifs	3
I-2.5.1. L'acide citrique.....	3
I-2.5.2. Les pectines	3
I-2.5.3. La vitamine C	3
I-2.5.4. Les substances aromatiques.....	3
I-2.5.5. Les colorants.....	4
I-3. Valeur nutritionnelle	4
I-4. Intérêt de l'addition du lait au jus de fruits	4
I-4.1. Intérêts nutritionnelles et thérapeutiques.....	5
II- Les antioxydants des boissons lactées.....	5
II-1. L'acide ascorbique.....	5
II-1.1. Propriétés antioxydantes de l'acide ascorbique	6
II-2. Les caroténoïdes	6
II-2.1. Propriétés antioxydantes des caroténoïdes.....	6
II-3. Les composés phénoliques	7
II-3.1. Les acides phénoliques	8
II-3.2. Les flavonoïdes	8

II-4. Effets thérapeutiques des antioxydants.....	9
II-4 .1. La vitamine C.....	10
II-4. 2. Les caroténoïdes	10
II-4.3. Les polyphénols	10
III- La stabilité des boissons.....	10
III-1. Effets du stockage sur la qualité physico-chimique des boissons.....	10
III-1.1. Evolution des paramètres physicochimiques.....	10
III-1.2. Dégradation de l'acide ascorbique (vitamine C)	11
III-1.3. Dégradation des caroténoïdes	11
III-1.4. Le brunissement non enzymatique	11

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

I. Echantillonnage.....	12
II. Paramètres physicochimiques.....	12
II.1. Mesure de pH.....	12
II.2. Détermination de l'acidité.....	12
II.3. Mesure de l'indice réfractométrique (Brix)	12
III. Dosage des antioxydants	13
III.1. Dosage de l'acide ascorbique	13
III.2. Dosage des caroténoïdes	13
➤ Préparation des extrais	13
III.3. Les composés phénoliques	13
III.3.1. dosage des polyphenols totaux.....	13
III.3.2. Dosage des flavonoïdes	14
IV. Mesure de l'activité antioxydante	14
IV.1. Pouvoir réducteur	14
IV.2. Activité antiradicalaire en utilisant le radical DPPH.....	14
V. Analyse statistique.....	14

V-Résultats et discussion

V-1. Paramètres physicochimiques	15
V-1.1. Le pH	15
V-1.2. L'acidité.....	16
V-1.3. L'indice réfractométrique	17

V-2. Les Antioxydants.....	19
V-2.1. L'acide ascorbique.....	19
V-2.2. Les caroténoïdes	22
V-2.3. Les polyphenols totaux	24
V-2.4. Les flavonoïdes	26
V-3. Activité antioxydante	28
II-3.1. Pouvoir réducteur.....	29
II-3.2. Activité antiradicalaire.....	31
V-4. Corrélation entre l'activité antioxydante et les teneurs en antioxydants.....	33
Conclusion et perspective	36
Références bibliographique	38
Annexes	

Liste des figures

N°	Titre de la figure	page
1	Evolution des teneurs en acide ascorbique au cours de la conservation.	20
2	Evolution des teneurs en caroténoïdes au cours de la conservation.	23
3	Evolution des teneurs en composés phénoliques au cours de la conservation.	25
4	Evolution des teneurs en flavonoïdes au cours de la conservation.	27
5	Evolution du pouvoir réducteur au cours de la conservation.	30
6	Evolution de l'activité antiradicalaire au cours de la conservation.	32

Liste des tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
I	Valeur nutritionnelle moyenne de la boisson lactée ifruit « orange mangue au lait » (OML).	4
II	valeurs de pH de la boisson lactée étudiée au cours de la conservation réfrigérée.	15
III	valeurs de pH de la boisson lactée étudiée au cours de la conservation à 35°C.	16
IV	Acidité de la boisson lactée au cours de la conservation à 4°C.	16
V	Acidité de la boisson lactée étudiée au cours de la conservation a 35°C.	16
VI	Evolution de l'indice réfractométrique au cours de la conservation à 4°C.	17
VII	valeurs de l'indice réfractométrique au cours de la conservation à 35°C.	17
VIII	corrélations entre les teneurs en antioxydants et les activités antioxydantes.	34

Liste des abréviations

Abréviations	Signification
AA	Acide L-ascorbique
ADN	Acide désoxyribonucléique
ANOVA	Analyse de la variance
BNE	Brunissement non enzymatique
Car	Caroténoïdes
DCPIP	2,6-dichlorophenol indophénol
DHA	Dehydroascorbic acid
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
EAA	Equivalent acide ascorbique
EAG	Equivalent acide galique
EBC	Equivalent β -carotène
EQ	Equivalent quercitine
ERO	Espèce reactive oxygénée
FH	Flavonoïdes
HMF	5-hydroxymethylfurfural
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IR	Indice Réfractométrique
J.O.R.A	Journal Officiel de la République Algérienne
LDL	Low density lipoprotein
OML	Orange-mangue au lait
OMS	Organisation mondial de la santé
$^1\text{O}_2$	Oxygène singulet
RMN	Résonance magnétique nucléaire
ROO $^\circ$	Radicale peroxyde
rpm	Rotation par minute

Introduction

Introduction

L'organisme a besoin d'énergie pour construire, nourrir, renouveler et entretenir les cellules qui le constituent. C'est à notre alimentation qu'il revient de couvrir ses différents besoins en vitamines, antioxydants, minéraux, protéines, lipides et glucides.

Les jus de fruit sont des aliments à part entière contenant des éléments nutritifs essentiels à notre santé. Outre leurs bienfaits réhydratants, ils couvrent de nombreux besoins de l'organisme et présentent des qualités communes même si chaque jus de fruit a ses atouts nutritionnels spécifiques (**Vierling, 2008**).

S'adapter aux nouvelles tendances et aux demandes des consommateurs est l'un des principaux objectifs des producteurs de denrées alimentaires. L'évolution actuelle dans l'industrie des boissons s'oriente vers de nouvelles combinaisons de produits laitiers et de jus de fruits additionnés parfois de composants bioactifs renforçant leurs intérêts diététiques et thérapeutiques (**Zulueta et al., 2010**). Les jus de fruits au lait sont un tel mélange dans lequel la capacité antioxydante des constituants des fruits est combinée aux bienfaits du lait. De plus ce dernier, peut s'avérer un véhicule idéal pour des ingrédients alimentaires bioactifs nouvellement découverts dans certaines de ses fractions (lactosérum, caséine, de l'albumine et de la lactoferrine) (**Zulueta et al., 2009**).

Les problèmes de conservation ont été et demeurent une question d'actualité de part le monde. L'Homme s'est toujours trouvé confronté au problème de conservation des denrées pendant les saisons de grandes productions pour assurer sa survie en périodes de pénurie. Pendant le stockage, les aliments liquides peuvent subir des pertes de qualité engendrées par un nombre important de réactions de dégradation (dégradation de l'acide ascorbique, détérioration microbienne, développement de mauvais goût, changements de couleur, texture, apparence). C'est dans cette optique que s'inscrit ce travail; anticiper un stockage à température élevée de façon à pouvoir observer clairement les effets de telles conditions inadéquates sur les caractères physico-chimiques et nutritionnels de ces mélanges et leur concentrations en composés bioactifs (caroténoïdes, polyphénols, flavonoïdes et acide ascorbique), à comparer, en parallèle à un stockage réfrigéré.

La présente étude a deux objectifs principaux : d'une part, apprécier l'apport en quelques antioxydants d'une boisson lactée orange-mangue au lait produite par l'unité « ifri » et évaluer leur activité antioxydante et d'autre part, déterminer l'effet des conditions de la conservation sur ces paramètres.

Synthèse bibliographique

I- Généralités sur la boisson lactée

I-1. Définition

Une eau fruitée lactée est une boisson pasteurisée fabriquée à partir de lait écrémé en poudre et de concentré de jus de fruit aseptique, additionnée de sucre et d'additifs lui conférant une stabilité et une conservation hors chaîne de froid pendant 06 mois.

ifruit au lait existe sur le marché national sous deux variétés :

- Pomme-fraise au lait.
- Orange-mangue au lait.

I-2. Composition d'une boisson lactée

Une boisson lactée résulte du mélange de concentré de jus ou purée de fruit et de la poudre de lait écrémé, ces deux matières premières sont additionnées d'eau, sucre, stabilisant pectine(E440), acidifiant acide citrique (E330), arôme, antioxydant acide ascorbique (E300) et colorant naturel bêta-carotène (E160a) (**anonyme, 2013**).

I-2.1. Concentré de jus de fruit

Il est fabriqué à partir de jus de fruit par concentration qui consiste à éliminer environ 80% de l'eau contenue dans le jus, en altérant le moins possible les substances solides et sans éliminer les arômes. Plusieurs procédés sont utilisés : thermique, mécanique, par le froid (cryo-concentration), par membrane active (osmose inverse et ultrafiltration).

Les concentrés de fruit conservent les éléments essentiels des fruits : sucres, minéraux et vitamines et peuvent être additionnés (dans la limite correspondant à la même espèce de fruit) de substances aromatiques et du composé volatil restitué, qui doivent tous provenir des mêmes types de fruit (**Tremolière et al, 1984**).

I-2.2. Le lait en poudre

La poudre de lait est un substrat riche en éléments nutritifs, fournissant à l'Homme un aliment presque complet. La dénomination lait en poudre industriel correspond à un lait dont la teneur en matière grasse est égale au minimum à 26 % pour un lait en poudre entier et n'excédant pas 1,5 % pour le lait en poudre écrémé (**JORA n°80, 1999**).

I-2.3. L'eau

L'eau potable peut être définie en se référant à L'OMS (organisation mondiale de la santé) comme une eau qui ne renferme en quantité dangereuse ni substances chimiques ni germes nocifs pour la santé. En outre, elle doit être « aussi agréable à boire que les circonstances le permettent », elle n'est donc pas une eau distillée et stérile, elle doit contenir des éléments minéraux en solution (sels, gaz dissous) qui sont indispensables au bon goût de

l'eau et participent à l'équilibre du régime alimentaire. Elle peut contenir des micro-organismes dans la mesure où ils ne provoquent aucun effet pathogène.

Du point de vue quantitatif, l'eau occupe un volume prédominant du volume du lait et des fruits (75 à 90% de masse de jus de fruits et 90 % du lait). Selon la concentration et la consistance désirée, la boisson est restituée par ajout de la proportion d'eau extraite lors de la concentration du jus de fruits et de la déshydratation du lait.

II-2.4. Le sucre

Le saccharose est de loin le plus répandu des sources élaborées par la nature et très utilisé par l'industrie alimentaire. Ajouté aux aliments comme agent édulcorant sous forme de sirop, le rôle principal du saccharose est d'apporter une saveur sucrée, mais il influence également sur la qualité de la saveur ; en effet, l'augmentation de la teneur en saccharose entraîne l'augmentation de la perception de la saveur fruitée.

I-2.5. Les additifs

I-2.5.1. L'acide citrique

L'acide citrique (E330) se place largement en tête des acides organiques utilisés par l'industrie alimentaire, sa large utilisation dans les boissons s'explique par son rôle de conservateur, il stabilise le pH, contrôlant ainsi le développement microbien.

I-2.5.2. Les pectines

Se sont des agents épaississants, gélifiants et stabilisants autorisés (**JORA n° 05, 992**). Ils possèdent une bonne interaction avec les protéines du lait, favorisent la dispersion homogène de la pulpe et donnent un aspect onctueux à la boisson à base de fruits.

I-2.5.3. La vitamine C

La teneur en vitamines contenues dans les jus de fruit n'est généralement pas imposée par la législation. Seule la teneur en vitamine C dans les jus d'agrumes est fixée à 200mg/l (**Bourgeois, 2003**) ; pour cela son addition au cours de leur fabrication est autorisée. Cet additif alimentaire est ajouté comme antioxydant pour maintenir la couleur des préparations à base de fruits et légumes et inhiber l'oxydation et le rancissement du lait.

I-2.5.4. Les substances aromatiques

L'arôme d'un fruit est constitué de plusieurs centaines de composés aromatiques de faible masse moléculaire (inférieur à 400 daltons) provenant de différentes voies métaboliques des fruits. Les arômes sont des mélanges complexes d'origine naturelle et /ou synthétique, utilisés pour compenser les pertes survenues au cours du procédé de traitement des aliments.

I-2.5.5. Les colorants

Ce sont les substances qui ajoutent ou redonnent de la couleur à des denrées alimentaires. Ils permettent de pallier les pertes de coloration survenues pendant la production ou dues à des variations saisonnières (β -carotène dans le lait).

I-3. Valeur nutritionnelle

Ces cocktails fonctionnels rafraichissants, au goût original, sont riches en éléments nutritifs apportés par le jus de fruits et le lait, bien qu'ils ne contiennent pas une grande portion de lait. Ce sont donc non seulement des boissons saines et mures mais aussi ayant une réelle valeur alimentaire vitaminique et énergétique. La valeur nutritionnelle moyenne d'une boisson au lait est illustrée dans le tableau I.

Tableau I : Valeur nutritionnelle moyenne de la boisson lactée ifruit « orange mangue au lait » (OML) (pour 100m) (**anonyme, 2013**).

Elément	Quantité
Protéines	0.36 (g)
Glucides	11.95 (g)
Lipides	0.15 (g)
Sodium	7.84 (mg)
Valeur énergétique	50.6 Kcal

I-4. Intérêt de l'addition du lait au jus de fruits

Les boissons fruitées au lait proposent un mélange aussi original qu'agréable du lait et du jus de fruit. Ces boissons répondent à diverses préoccupations, telles qu'une nutrition saine, l'accès à des ingrédients fonctionnels, et, bien entendu, la satisfaction gustative.

L'intérêt de ce mélange « lait et jus » est d'apporter en même temps tout le bienfait du lait, associé à la vitalité et le bienfait du jus de fruit, car le lait est un aliment presque complet et l'un des principaux aliments naturels, au bon pouvoir rassasiant. En effet, le lait est un produit complexe dont la composition en glucides, protéines, sels minéraux est remarquablement équilibrée ; par contre, il présente un déficit en fer assimilable et contient peu de vitamine C. Ce déficit est compensé par l'addition du jus de fruit, car le jus de fruit est une excellente source de vitamine C, en particulier le jus d'agrumes, mais elles contiennent peu de protéines. D'où l'importance de ce mélange dans une alimentation équilibrée et variée.

I-4.1. Intérêts nutritionnelles et thérapeutiques

La valeur nutritionnelle du jus au lait est déterminée par la composition de la matière première du végétal et du lait additionné.

Les jus de fruit présentent les mêmes caractéristiques nutritionnelles que les fruits dont ils sont issus. Ce sont de bonnes sources de vitamines, de minéraux et d'éléments protecteurs extrêmement variés, les plus connus étant les vitamines C, le lycopène, les flavonoïdes et le potassium . Leurs intérêts pour la santé et leurs rôles dans la prévention de certaines maladies en font d'eux des éléments d'une importance primordiale dans notre alimentation. Les jus de fruits contribuent à l'équilibre alimentaire ; ce sont d'excellentes sources de micro-éléments.

De l'autre côté, le lait est un édifice physicochimique d'une grande complexité comprenant plus de 50 constituants. Aliment indispensable à la croissance, l'intérêt nutritionnel du lait tient à la qualité de ses protéines en raison de leur profil d'acides aminés, de ses lipides, de ses vitamines (A, B, D et E) et de ses minéraux en particuliers sa richesse en calcium et des quantités non négligeables en phosphore, etc.

Ces cocktails de jus et lait agréables et rafraichissants sont riches en eau (jusqu'à 90%) et de faible valeur énergétique, par contre leur absorption quotidienne est nécessaire afin d'apporter les sels minéraux ainsi que les carotènes, les vitamines et les protéines.

II- Les antioxydants des boissons lactées

II-1. L'acide ascorbique

L'acide ascorbique est le principal antioxydant hydrosoluble ; il existe sous forme réduite (l'acide ascorbique), et sous forme oxydée (l'acide deshydroascorbique). Les deux formes étant convertibles entre elles par voie enzymatique dans l'organisme ; leur somme constitue la vitamine C. L'acide L- ascorbique (AA) est la principale forme biologiquement active de la vitamine C. il est réversiblement oxydé pour former l'acide déhydroascorbique (DHA) qui exerce aussi une activité biologique. L'acide deshydroascorbique est à son tour oxydé pour former l'acide dicetogulonique dépourvu de fonction biologique.

Le jus d'orange est l'un des jus de fruits les plus riches en acide ascorbique ; sa teneur moyenne est de 40.6 mg/100 ml de jus frais (**Lee et al., 1999**) tandis que le jus de mangue contient approximativement une teneur de 8.9mg de vitamine C par100ml (**Santhirasegaram et al., 2013**). En comparaison des fruits ou légumes qui en fournissent jusqu'à 100 fois plus, le lait ne représente pas une bonne source de vitamine C avec près de 8mg/l (**Courtet, 2009**).

II-1.1. Propriétés antioxydantes de l'acide ascorbique

Cette vitamine est hautement susceptible à l'oxydation, mais elle a des propriétés antioxydantes et métaboliques importantes. L'effet antioxydant de l'acide ascorbique peut être direct par inhibition des radicaux libres ou indirects par régénération des tocophérols. Il peut protéger divers substrats biologiques (protéines, acides gras, ADN) de l'oxydation. Aux concentrations physiologiques (35,45 - 18,18 mg/l), la vitamine C est également capable de diminuer l'oxydation *in vitro* des LDL (**Pincemail et al., 1998**).

- **Neutralisation des radicaux libres**

L'acide ascorbique est une molécule antioxydante fortement réductrice ; elle est capable de piéger l'oxygène singulet (1O_2) et les radicaux libres dont le radical superoxyde et le radical hydroxyle (OH^\bullet) ainsi que les espèces réactives dérivées de l'azote, tel que le peroxydite (**Klimczak et al., 2007**).

- **Régénération des tocophérols**

Des études *in vitro* ont montré que l'acide ascorbique est capable de régénérer l'activité antioxydante de la vitamine E en convertissant le radical tocophéroxyde (forme réduite de la vitamine E) de nouveau en tocophérol (**Rose et Bode, 1993**). A son tour, l'acide ascorbique prend une forme radicalaire (radical ascorbyle) ; le glutathion réduit permet de régénérer l'acide ascorbique (**Pincemail et al., 1998**).

II-2. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles. Ce sont des précurseurs de la vitamine A et contribuent à la coloration jaune, orange ou rouge des fruits et légumes. L'orange contient des quantités non négligeables de différents caroténoïdes, dont le bêta-carotène, la lutéine et la zéaxanthine. Le jus d'orange en contient aussi, mais en moins grande quantité que le fruit entier. Selon **Mercandante et al., (1998)**, le taux de caroténoïdes dans la mangue varie de 1.23 à 5.12 mg/100g durant la maturation. Cette teneur est de 0.082 mg/100 ml de jus de mangue.

Les teneurs en carotène de lait de vache sont échelonnées entre 14 et 50 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ de lait (**Courtet, 2009**).

II-2.1. Propriétés antioxydantes des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont qualifiés de puissants antioxydants, leur activité antioxydante survient suite à l'aptitude des doubles liaisons conjuguée à récupérer tous les électrons non appariés. Ils éliminent les radicaux libres soit en les transformant en produits inoffensifs en réagissant avec eux ou en perturbant la réaction en chaîne des radicaux libres.

Les mécanismes de défense des caroténoïdes les plus connus sont le piégeage de l'oxygène singulet (1O_2) impliqué dans les réactions de photo-oxydation et l'interaction avec les radicaux libres.

➤ **Neutralisation des radicaux libres**

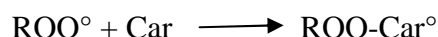
Le mécanisme et le taux d'inhibition des radicaux libres par les caroténoïdes dépendent de la nature des radicaux eux-mêmes. Les caroténoïdes réagissent avec les radicaux libres de quatre manières principales :

• **Transfert d'électron:** les caroténoïdes peuvent céder un électron aux radicaux libres pour former un radical caroténoïde cationique ($Car^{\circ+}$) : $Car + R^{\circ} \longrightarrow Car^{\circ+} + R$

• **Transfert d'hydrogène:** les caroténoïdes peuvent inhiber les radicaux libres par transfert d'hydrogène : $Car + R^{\circ} \longrightarrow Car^{\circ} + RH$

• **Addition d'une espèce radicalaire:** les caroténoïdes réagissent avec les radicaux libres et donnent des complexes radicalaires stables. $Car + R^{\circ} \longrightarrow R-Car^{\circ}$
 $R-Car^{\circ} + R^{\circ} \longrightarrow R-Car-R$

Certains caroténoïdes comme le β -carotène inhibent efficacement les radicaux peroxydes et contribuent ainsi à la défense contre la peroxydation lipidique.



• **Piégeage de l'oxygène singulet :** Dans les Systems biologiques, les caroténoïdes transforment ce dernier en oxygène moléculaire triplet à l'état fondamental stable selon la réaction suivante : $^1O_2 + \beta\text{-carotène} \longrightarrow ^3O_2 + ^3\beta\text{-carotène}^{\circ}$.

L'oxygène singulet est piégé par transfert de son énergie d'excitation vers le caroténoïde donnant un caroténoïde triplet excité qui revient aisément à l'état initial stable par la dissipation de cette énergie sous forme de chaleur selon la réaction suivante :



Ces mécanismes dépendent essentiellement du nombre de doubles liaisons conjuguées, du type et du nombre des groupes fonctionnels présents dans la structure des molécules.

II-3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols constituent un groupe important et diversifié de métabolites secondaires des végétaux, indirectement essentielle à la vie des plantes, synthétisés durant leurs développements et en réponse aux conditions de stress (infection, blessure, radiations, etc.).

Les polyphenols manifestent diverses propriétés biologiques telles que les actions anti-bactériennes, anti-inflammatoires, anti-virales et hépatoprotectives; ces propriétés sont attribuées aux activités antioxydantes de ces composés.

Les polyphénols sont considérés comme de puissants antioxydants. Leur nature chimique fait de ces composés des agents réducteurs capables de réagir directement avec les espèces chimiques réactives en formant des produits moins réactifs grâce à la présence de double liaisons et transfert d'hydrogène des fonctions hydroxyles du cycle aromatique au radical libre. Les polyphénols sont capables de neutraliser les radicaux libres particulièrement, le radical hydroxyl, l'anion superoxyde, etc.

II-3.1. Les acides phénoliques

Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxyle et un hydroxyle phénolique. Ils se divisent en deux catégories : les dérivés de l'acide **hydroxybenzoïque** (acides protocatéchique et gallique) généralement présents à l'état libre et les dérivés de l'acide **hydroxycinnamique** (acides coumarique et caféique) qui sont souvent liés aux composants structuraux de la paroi cellulaire (cellulose, lignine) et aux protéines par des liaisons ester.

➤ Propriétés antioxydantes des acides phénoliques

Les acides phénoliques sont très réactifs, particulièrement l'acide gallique, *p*-hydroxybenzoïque, gentisique et coumarique. Les acides hydroxycinnamiques manifestent une activité antioxydante plus élevée comparée aux acides hydroxybenzoïques. Ceci est dû au groupement $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$, qui assure une meilleure capacité de transfert d'hydrogène (RH) ou d'électron (R^\cdot) et chélation les métaux de transition et de stabilisation des radicaux libres comparé au groupement $-\text{COOH}$ dans les acides hydroxybenzoïques. Les acides hydroxycinnamiques sont capables d'inhiber la peroxydation des LDL *in vivo* ainsi que de piéger les espèces réactives azotées. Les acides chlorogénique et caféique peuvent inhiber la formation de composés mutagènes et carcinogènes.

II-3.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des polyphénols des plantes. La classe des flavonoïdes comporte plus de 4000 substances. Ils peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou d'hétérosides. La forme qui prédomine à l'état naturel est celle des hétérosides.

➤ **Propriétés antioxydantes des flavonoïdes**

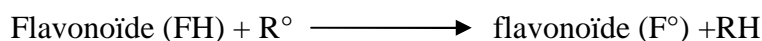
L'activité antioxydante des flavonoïdes est principalement attribuée à leur capacité à piéger l'oxygène, les radicaux hydroxyles, les espèces azotées actives et à chélater les métaux.

Les flavonoïdes sont caractérisés par la facilité à céder de l'hydrogène par leurs groupements phénoliques pour un potentiel antioxydant et antiradicalaire efficace (**Di Majo et al., 2005**). Ils peuvent exercer leur activité antioxydant par divers mécanisme :

• **Piégeage des radicaux libres**

Les flavonoïdes sont des molécules antioxydantes efficaces. Ils agissent comme piégeurs de radicaux libres en raison de leurs capacités à céder un électron et/ou un atome d'hydrogène.

En raison de leur potentiel redox faible ($E = 700-540\text{mV}$), les flavonoïdes et leurs métabolites sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres hautement oxydés tel que les radicaux superoxyde, peroxyde, alkoxyde et hydroxyle par le groupement donneur d'hydrogène selon la réaction suivante :



• **Inhibition de la peroxydation lipidique**

La peroxydation lipidique est un mécanisme de dégradation en chaîne des acides gras conduisant à la formation des hydroperoxydes instables, responsables de la diminution de la fluidité et de la perméabilité membranaire ainsi que l'altération du fonctionnement des protéines membranaires. Les flavonoïdes peuvent intervenir à différents niveaux de ce processus de peroxydation. En plus de leur capacité à inhiber les lipoxygénases, les flavonoïdes sont capables de capter directement les composés radicalaires, et ainsi d'interrompre la propagation de la réaction en chaîne radicalaire.

• **Chélation des métaux**

Plusieurs flavonoïdes peuvent agir comme antioxydants préventifs en chélatant les traces de métaux pro-oxydants tels que le fer et le cuivre qui sont des accélérateurs potentiels de la formation des espèces oxygénées réactives.

II-4. Effets thérapeutiques des antioxydants

Les antioxydants s'avèrent des outils très précieux comme facteurs préventifs de l'apparition de plusieurs pathologies (cancer, diabète, ...). De nombreuses études indiquent que les personnes présentant des concentrations sanguines faibles en antioxydants sont plus à risque de développer ces maladies que des sujets ayant un bilan antioxydant bien équilibré. La prise d'un cocktail d'antioxydants (effet de synergie) à des doses physiologiques pendant une

longue durée est une piste privilégiée par rapport à l'ingestion d'un antioxydant pris à des méga doses (effet prooxydant) (Pincemail *et al.*, 2002).

II-4.1. La vitamine C

La vitamine C exerce des fonctions physiologiques, elle est nécessaire à l'élaboration du collagène (protéine constitutive des fibres). Elle pourrait jouer un rôle dans :

- La prévention des risques de cancer.
- La prévention de la formation des nitrosamines qui sont à l'origine du cancer de l'estomac (Bourgeois, 2003).

II-4.2. Les caroténoïdes

Des études ont montré une relation directe entre une consommation des caroténoïdes et leurs concentrations dans les tissus et les risques des maladies chroniques. Le β -carotène et le lycopène protègent contre l'ostéoporose, le cancer, les maladies cardiovasculaires et l'infertilité liée à l'élévation significative des Espèce Réactive Oxygénée (ERO). Un mélange de ces caroténoïdes semble être plus efficace contre ces maladies qu'un élément ingéré seul.

II-4.3. Les polyphénols

Les études scientifiques ont permis de confirmer les propriétés médicinales attribuées aux polyphénols ; parmi elles, il est reconnu que les flavonoïdes possèdent des activités anti-inflammatoires, antithrombotiques, antivirales et anticancérologiques.

Les flavonoïdes et leurs métabolites ont aussi la capacité de fragmenter l'ADN des cellules cancéreuses d'où le phénomène d'apoptose.

Les composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes) augmentent le potentiel antioxydant du plasma, protègent contre l'hypertension « tueur silencieux » et réduisent le taux de cholestérol sanguin ainsi que le développement de certains cancers par piégeage des radicaux libres induisant les mutations.

III- La stabilité des boissons

La qualité des aliments se détériore pendant le stockage, les changements de la qualité peuvent être le résultat d'effets conjugués de facteurs chimiques, physiques et microbiologiques. La qualité initiale de l'aliment, sa composition, les conditions de stockage (température, lumière, humidité relative, etc.) et l'emballage affectent ces différentes modifications.

III-1. Effets du stockage sur la qualité physico-chimique des boissons

III-1.1. Evolution des paramètres physicochimiques

Les jus de fruits sont des produits complexes dont les propriétés physiques, chimiques et sensorielles évoluent à travers le processus de fabrication et au cours de leur conservation.

Les acides organiques sont un groupe de composés importants dans les jus, du fait de leur influence sur les propriétés organoleptiques, sur la stabilité et dans le contrôle microbiologique. Ce sont des indicateurs usuels de l'altération microbienne qui utilise les glucides de ces denrées comme substrat pour les diverses voies fermentaires. Les acides organiques synthétisés (lactique, malique, succinique, etc.) entraînent une augmentation de l'acidité, de la concentration en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH entraînant, par conséquent, une conservation plus courte (**Duarte, 2006**).

III-1.2. Dégradation de l'acide ascorbique (vitamine C)

L'acide ascorbique constitue le principal substrat du brunissement non enzymatique des jus de fruits et des jus concentrés de jus de fruits. Une oxydation plus complète, telle que réalisée par l'oxygène, altère profondément la structure de la vitamine et détruit irréversiblement son activité physiologique. La chaleur, l'alcalinité ou la neutralité du milieu, les traces de métaux lourds, en particulier le cuivre et le fer, activent cette destruction, par contre, la vitamine C se conserve bien dans les produits congelés et les milieux acides.

III-1.3. Dégradation des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments photosensibles. La biodisponibilité de ces pigments dépend des facteurs suivants :

- **La lumière** : **Cortes *et al.* (2006)** a montré que le β -carotène cristallisé, exposé à l'air et à la lumière à une température de 20 °C, perd 25 % de son absorbance en six semaines ; dans les mêmes conditions, à 45 °C, la perte est totale.
- **La température** : la résistance des caroténoïdes aux traitements thermiques diffère d'un type à un autre.

III-1.4. Le brunissement non enzymatique

Le brunissement non enzymatique (BNE) est un phénomène très répandu dans les aliments. L'interaction de sucres réducteurs et d'acides aminés et l'ensemble de leurs réactions successives est appelée brunissement non enzymatique ou encore réaction de Maillard. Dans les jus, le BNE est dû à la présence des sucres réducteurs, des acides aminés et des protéines ainsi que de la vitamine C. Durant le stockage du jus d'orange, la réaction de Maillard se traduit, le plus souvent, par la dégradation de la vitamine C (**Solomon *et al.*, 1995**).

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

I. Echantillonnage

Des échantillons (bouteilles de 22 centilitres) d'eau fruitée lactée goût « orange mangue au lait », issue de la production du mois de février 2013, ont été prélevés au niveau de l'unité IFRI. Les échantillons ont été conservés à deux températures, 4 et 35°C pendant un mois. Chaque échantillon comprend 3 bouteilles, chaque bouteille a fait l'objet de trois essais. Les analyses ont été effectuées tous les 7 jours.

II. Paramètres physicochimiques

II.1. Mesure de pH

La mesure de pH permet la détermination du potentiel d'hydrogène par la mesure de la concentration de l'ion hydronium H_3O^+ ($pH = -\log [H_3O^+]$). La détermination du pH se fait par mesure directe à l'aide d'un pH-mètre.

II.2. Détermination de l'acidité

L'acidité titrable correspond à la somme des acides minéraux et organiques présents dans le produit. Elle est exprimée en fonction de l'acide dominant.

L'acidité est déterminée par la méthode volumétrique, basée sur un titrage à l'aide d'une solution normalisée d'hydroxyde de sodium (0,1N) en présence de phénolphtaléine.

10ml de la boisson lactée additionné de quelques gouttes de phénolphtaléine (0.5 ml) sont neutralisés par la solution de NaOH jusqu'à apparition d'une coloration rose pâle persistant. L'acidité titrable est exprimée en gramme d'acide citrique par 100ml de produit

$$C_{\text{acide citrique}} = V_{\text{NaOH}} \times 0,64$$

Où : V_{NaOH} volume de NaOH versé en ml.

0.64 : coefficient correspondant à l'acide citrique. (Anonyme, 2013).

II.3. Mesure de l'indice réfractométrique (Brix)

Le pourcentage des solides solubles est déterminé à l'aide d'un réfractomètre. La limite de séparation entre la zone claire et foncée sur l'échelle du réfractomètre indique la grandeur de réfraction de la lumière qui est fonction du pourcentage de matière sèche soluble contenue dans la boisson, appelée indice réfractométrique (IR) ou degré Brix.

III. Dosage des antioxydants

III.1. Dosage de l'acide ascorbique

La teneur en acide ascorbique est déterminée selon la méthode de **Mau *et al.* (2005)** basée sur l'oxydation de l'acide ascorbique par le 2,6-dichlorophénol indophénol (DCPIP). L'acide ascorbique est extrait à partir d'un ml de boisson par 9 ml d'acide oxalique. Après agitation, le mélange est centrifugé à 5000 rpm, pendant 10 min; 100 µl du surnageant sont mélangés avec 900 µl de DCPIP. Après 15 à 20 secondes, l'absorbance est mesurée à 515 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique/100ml de boisson en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide ascorbique (Figure: 01 ; Annexes).

III.2. Dosage des caroténoïdes

Deux phases sont utilisées pour l'extraction des caroténoïdes: une phase apolaire (héxanique) qui permet de récupérer les caroténoïdes et une phase polaire (éthanol / acétone) pour l'élimination des composés hydrophiles (polyphénols, flavonoïdes et sucres).

Les caroténoïdes sont dosés selon la méthode de **Sass-Kiss *et al.* (2005)** ; 6 ml du mélange (hexane: acétone: éthanol / 2:1:1 v/v/v) sont ajoutés à 1 ml de boisson. Le mélange est agité, puis centrifugé à 5000 rpm pendant 20 min. La phase hexanique est récupérée et son absorbance est mesurée à 450 nm. Les teneurs en caroténoïdes sont exprimées en mg EβC/100 ml en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec le β-carotène. (Figure: 02 ; Annexes).

➤ Préparation des extraits

Le méthanol 80% dans l'eau est utilisé comme solvant d'extraction (dosage des polyphénols, des flavonoïdes et mesure de l'activité antioxydante). Des volumes égaux d'échantillon et de solvant d'extraction sont mélangés et soumis à une agitation suivie une centrifugation pendant 20 minutes à 5000 rpm. Après filtration, les extraits fraîchement préparés sont utilisés.

III.3. Les composés phénoliques

III.3.1. dosage des polyphenols totaux

La teneur en polyphénols de la boisson est déterminée selon **Kahkonen *et al.* (1999)** ; 0,2 ml d'extrait ont été additionnés de 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 min, 0,8 ml de carbonate de sodium (7,5 %) sont ajoutés et l'ensemble est incubé à l'obscurité pendant 30min. L'absorbance est lue à 760 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG)/100 ml de boisson en se référant à une courbe d'étalonnage (Figure : 03 ; Annexes).

III.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé selon la méthode de **Djeridane *et al.* (2006)**. Un volume d'extrait est additionné du même volume de chlorure d'aluminium (2%).

L'absorbance du mélange est mesurée à 420 nm après 15 min. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine (EQ)/100ml de boisson, en se référant à une courbe d'étalonnage (Figure : 04 ; Annexes).

IV. Mesure de l'activité antioxydante

IV.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est estimé par l'aptitude des antioxydants présents dans les échantillons à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}). La forme réduite de ce complexe donne une couleur verte s (**Öztürk *et al.*, 2007**).

Le pouvoir réducteur est estimé selon la méthode de **Yildirim *et al.* (2001)**; 250 μ l d'extrait sont additionnés de 250 μ l de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et de 250 μ l de ferricyanure de potassium (1 %). Après agitation et incubation à 50°C (20 min), 250 μ l d'acide trichloro-acétique (10 %) sont ajoutés. 1 ml d'eau distillée puis 200 μ l de chlorure ferrique (0,1 %) sont ajoutés. L'absorbance est mesurée à 700 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique (EAA)/100 ml de boisson, en se référant à une courbe d'étalonnage (Figure : 05 ; Annexes).

IV.2. Activité antiradicalaire en utilisant le radical DPPH

L'activité antiradicalaire est déterminée par la diminution de l'absorbance à 517 nm par réduction du DPPH en présence d'un antioxydant (AH) ; 100 μ l d'extrait sont mélangés avec 900 μ l de la solution DPPH. Après 30 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 517 nm (**Liviu *et al.*, 2009**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique (EAA)/100 ml de boisson, en se référant à la courbe d'étalonnage (Figure : 06 ; Annexes).

V. Analyse statistique

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2003, afin de déterminer les moyennes, les écartypes et les coefficients de corrélation. Une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur suivie du test LSD (la plus petite différence significative) est appliquée à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5 Fr à la probabilité $P < 0,05$ afin de mettre en évidence les différences et de déterminer la signification statistique entre les échantillons pour chaque paramètre (températures et temps de stockage).

Les coefficients de corrélation entre antioxydants et activité antioxydante sont établis par le test de Pearson à matrice non carrée avec la probabilité $P < 0,001$ des statistiques élémentaires du même logiciel.

Résultats et discussion

I. Paramètres physicochimiques

I.1. Le pH

Les résultats du pH obtenus pour les échantillons de boisson lactée Ifruit orange mangue au lait (OML) suivi pendant 28 jours de conservation, à 4 °C et 35°C sont présentés dans les tableaux II et III. Comme le journal officiel n'a pas exigé de normes pour le pH, l'unité ifruit utilise ses propres normes ; la norme établie pour la boisson lactée « OML » est de $3,1 \pm 0,5$.

Le pH peut être affecté par plusieurs facteurs tels que les variétés de fruits utilisés dans le concentré, leur état de maturité ainsi que les traitements effectués lors de la fabrication des jus. Une légère diminution de pH est observée pour les échantillons réfrigérés et ceux conservés à 35°C au bout de 28 jours de conservation (pH= 3,11 et 3,05 respectivement). A 35°C cette diminution est significative à partir de 15 jours de conservation (tableaux II et III). Cette légère variation peut être expliquée, d'une part, par la stabilité de la boisson étudiée grâce à la présence de stabilisant tel que l'acide citrique, alors que d'autre part, un début d'altération microbienne peut être à l'origine de ces variations. Ces résultats concordent avec les données rapportées par la littérature qui révèlent que le pH reste stable durant la conservation réfrigérée de jus de pomme (Falguera *et al.*, 2011), ainsi que de jus d'orange pasteurisé alors qu'une conservation du même jus d'orange à 10°C révèle une diminution de pH et une augmentation de l'acidité au bout de 15 jours de stockage (Pala *et al.*, 2013). Selon Wagrzyn *et al.* (2008), la diminution de pH après deux semaines de stockage à 20 et à 35 °C/12 semaines de lait additionné de polyphénols de pomme peut être due à certaines réactions chimiques lentes accélérées par la chaleur. En effet, la production de l'acide lactique, l'interaction entre le lactose et les protéines du lait qui engendre des modifications de la solubilité des sels de phosphore et de calcium entre la fraction soluble et colloïdale, la libération des acides gras par lipolyse et les changements dans la solubilité des ions bivalents peuvent causés la détérioration de ces échantillons de lait au cours de leurs stockage.

Tableau II : valeurs de pH de la boisson lactée étudiée au cours de la conservation réfrigérée.

Echantillons	T ₀	T ₇	T ₁₅	T ₂₁	T ₂₈
E1	3,14	3,15	3,12	3,12	3,12
E2	3,15	3,14	3,12	3,12	3,11
E3	3,17	3,14	3,13	3,11	3,11
Moyenne	$3,15 \pm 0,02^a$	$3,14 \pm 0,01^a$	$3,12 \pm 0,01^a$	$3,12 \pm 0,01^a$	$3,12 \pm 0,01^a$

Les lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$).

Tableau III : valeurs de pH de la boisson lactée étudiée au cours de la conservation à 35°C.

Echantillons	T ₀	T ₇	T ₁₅	T ₂₁	T ₂₈
E1	3,14	3,13	3,10	3,08	3,05
E2	3,15	3,14	3,11	3,10	3,04
E3	3,17	3,15	3,10	3,10	3,07
Moyenne	3,15±0,02 ^a	3,14±0,01 ^a	3,10±0,01 ^b	3,09±0,01 ^b	3,05±0,02 ^c

Les lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$).

I.2. L'acidité

Les fruits contiennent des acides organiques libres ou combinés sous forme de sels. L'acidité titrable correspond à la somme des acides minéraux et organiques présents dans le produit. Dans la boisson lactée étudiée, l'acide citrique est utilisé comme acide de référence. Les résultats de l'acidité pour les échantillons réfrigérés et à 35°C au cours de la conservation sont présentés dans les tableaux III et IV.

Les valeurs d'acidité observées au début de la conservation sont conformes à la norme de l'entreprise qui est de 3,2±0,5 g/l. Cette acidité est expliquée par la quantité d'acides présents initialement dans les concentrés de fruits.

Tableau IV : Evolution de l'acidité de la boisson lactée étudiée au cours de la conservation à 4°C.

Echantillons	T ₀	T ₇	T ₁₅	T ₂₁	T ₂₈
E1	3,232±0,032 ^b	3,296±0,032 ^a	3,349±0,037 ^a	3,349±0,037 ^a	3,339±0,018 ^a
E2	3,189±0,067 ^b	3,285±0,037 ^a	3,307±0,037 ^a	3,317±0,018 ^a	3,349±0,018 ^a
E3	3,232±0,033 ^c	3,275±0,049 ^{bc}	3,296±0,032 ^{ab}	3,328±0,000 ^{ab}	3,349±0,037 ^a
Moyenne	3,218±0,025 ^c	3,285±0,011 ^b	3,317±0,028 ^{ab}	3,332±0,016 ^a	3,346±0,006 ^a

Les lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$) pour la même ligne.

Tableau V : Evolution de l'acidité de la boisson lactée étudiée au cours de la conservation à 35°C.

Echantillons	T ₀	T ₇	T ₁₅	T ₂₁	T ₂₈
E1	3,232±0,032 ^b	3,371±0,037 ^a	3,381±0,018 ^a	3,392±0,000 ^a	3,413±0,037 ^a
E2	3,189±0,067 ^b	3,392±0,032 ^a	3,371±0,037 ^a	3,413±0,037 ^a	3,435±0,018 ^a
E3	3,232±0,033 ^c	3,360±0,032 ^b	3,392±0,000 ^{ab}	3,403±0,018 ^{ab}	3,435±0,037 ^a
Moyenne	3,218±0,025 ^c	3,374±0,016 ^b	3,381±0,011 ^{ab}	3,403±0,011 ^a	3,428±0,012 ^a

Les lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$) pour la même ligne.

Une augmentation significative de l'acidité est enregistrée à partir de la première semaine pour tous les échantillons analysés au cours du stockage aux deux températures. Cette augmentation d'acidité atteint des taux de 3,97% et 6,52 % à la fin de la conservation à 4°C et à 35 °C respectivement. Ces résultats peuvent s'expliquer par la production d'acides organiques par les microorganismes au cours de la conservation. Ces acides organiques sont des indicateurs habituels de la croissance microbienne. En effet, d'après **Duarte, (2006)**, l'augmentation de 15 fois et 6 fois respectivement de l'acide lactique et succinique dans le jus de mangue au bout de 5,5 jours (132h) est due aux différentes fermentations. Une synthèse d'acides succinique, acétique, formique et lactique, par des moisissures et des bactéries a été également rapportée par **Kuo et al. (2008)** dans le jus de tomate.

I.3. L'indice réfractométrique

Il est convenu d'appeler indice réfractométrique (IR) ou degré Brix, le pourcentage de matière sèche soluble et concerne essentiellement la mesure de la concentration en glucides contenus dans la boisson. Ce taux est en relation directe avec la composition de la boisson par le fait qu'elle soit préparée avec deux types de concentrés et la quantité ajoutée de ces derniers, la nature des fruits utilisés ainsi que leurs variétés et la quantité de sirop de sucre ajoutée. Les résultats obtenus au cours de la conservation de la boisson sont illustrés dans les tableaux VI et VII.

Tableau VI : Valeur de l'indice réfractométrique au cours de la conservation à 4°C.

Echantillons	T ₀	T ₇	T ₁₅	T ₂₁	T ₂₈
E1	13,05±0,05 ^c	13,16±0,05 ^{bc}	13,26±0,05 ^{ab}	13,30±0,10 ^a	13,3±0,05 ^a
E2	13,13±0,05 ^c	13,23±0,05 ^{bc}	13,33±0,05 ^{ab}	13,36±0,05 ^a	13,36±0,05 ^a
E3	13,05±0,05 ^c	13,20±0,10 ^b	13,23±0,57 ^{ab}	13,23±0,05 ^{ba}	13,33±0,05 ^a
Moyenne	13,07±0,04 ^c	13,20±0,03 ^b	13,27±0,05 ^{ab}	13,30±0,06 ^a	13,33±0,01 ^a

Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$) pour la même ligne.

Tableau VII : Valeurs de l'indice réfractométrique au cours de la conservation à 35°C.

Echantillons	T ₀	T ₇	T ₁₅	T ₂₁	T ₂₈
E1	13,05±0,05 ^c	13,26±0,05 ^b	13,36±0,05 ^b	13,56±0,57 ^a	13,56±0,05 ^a
E2	13,13±0,05 ^c	13,30±0,10 ^b	13,46±0,05 ^a	13,53±0,05 ^a	13,53±0,57 ^a
E3	13,05±0,05 ^c	13,28±0,07 ^b	13,33±0,05 ^b	13,46±0,05 ^a	13,56±0,05 ^a
Moyenne	13,07±0,04 ^c	13,28±0,01 ^b	13,38±0,06 ^b	13,52±0,05 ^a	13,55±0,01 ^a

Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$) pour la même ligne.

Le degré Brix de la boisson lactée étudiée est inférieur à la norme interne de l'unité ifruit qui est fixée à $13,3 \pm 0,5$ ce la peut être due à l'utilisation des sucres comme substrats de fermentation. Les résultats notés au cours de la conservation présentent des variations tant pour les échantillons maintenus à 4°C qu'à 35°C , de 13,07 à 13,33 et 13,55 respectivement. En comparant ces résultats, les différences sont significatives à partir de 7 jours de stockage pour les deux températures étudiées.

Une augmentation significative du taux de Brix (11,6 et 12,0) a été enregistrée par **Farnworth, (2001)** au cours de la conservation de jus d'orange. De même, **Ong et al. (2006)** rapportent que l'augmentation de ce paramètre pourrait être due à l'augmentation de la teneur en acide galacturonique hydrosoluble par dégradation des substances pectiques.

L'indice réfractométrique peut aussi subir des variations sous l'effet de changement de la turbidité d'une solution. **Lee et al. (2007)** rapportent une augmentation de la turbidité au cours du stockage de jus de banane clarifié accompagné d'une augmentation de l'indice réfractométrique. Le motif de cette augmentation semble être le même pour le jus de pomme, en accord avec les études de **Suarez et al. (2012)**, cela peut être attribuée à la formation de complexe entre les protéines solubles et les polyphénols, qui restent en solution et qui subit des réactions d'oxydation ou de polymérisation des polyphénols conduisant à la formation de polymère de haut poids moléculaire. Ces réactions sont accélérées par les températures de stockage élevées. La même constatation a été rapportée par **Zulueta et al. (2012)**, Selon eux l'augmentation du taux de Brix après une semaine de conservation réfrigérée d'une boisson lactée à l'orange est lié au changement de la turbidité et qui est due à l'augmentation du taux de solides en suspension à cause de la perte de la stabilité conformationnelle des protéines du lait et une dégradation possible des pectines naturelles ou additionnées au cours de la préparation du jus de fruit.

Les résultats des analyses physico-chimiques (pH, acidité et Brix) révèlent que la conservation de la boisson étudiée entraîne de légères variations de ces paramètres notamment lors du stockage à 35°C qui favorise la multiplication microbienne qui est principalement à l'origine de ces variations, alors que la conservation à basse température semble avoir un effet plus stabilisant sur la qualité physicochimique de cette boisson.

II. Les Antioxydants

II.1. L'acide ascorbique

Les teneurs en acide ascorbique des échantillons analysés au cours des conservations à 4 et 35 °C, sont présentées dans la figure 1. Dans la présente étude, une teneur de $188,07 \pm 0,55$ mg EAA/100ml de boisson a été enregistrée pour les trois échantillons réfrigérés au début de la conservation. Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par **Lee et al. (1999)** qui ont enregistré des concentrations de 40,5 mg/100ml pour le jus d'orange, **Zulueta et al. (2012)** qui signalent une teneur de 29,2 mg/100ml dans leurs études sur l'effet de traitement thermique et de la conservation réfrigérée sur les antioxydants d'une boisson lactée à l'orange et par **Santhirasegaram et al. (2013)** avec une teneur de 8,9 mg/100ml dans le jus de mangue. Ces différences peuvent être expliquées par plusieurs facteurs tels que la composition du concentré utilisé pour la reconstitution de la boisson, la variété des fruits, la sensibilité de la méthode de dosage utilisée et la durée et les conditions de la conservation (**Lee et Kader, 2000**). La quantité d'acide ascorbique ajoutée lors de la fabrication de la boisson aux fruits est aussi l'un des facteurs déterminants. Cette dégradation qui survient au cours du traitement thermique et de la conservation peut s'expliquer par la formation de radicaux libres associés au processus d'oxydation.

Sanchez et al. (2005) ont rapporté une perte en cet acide de 18% pour le jus d'orange pasteurisé à 90°C/1minute. De même, **Zulueta et al. (2012)** ont également constaté une diminution significative de 14%, pour une boisson lactée à l'orange après une pasteurisation à 90°C/2minutes et **Santhirasegaram et al. (2013)**, qui rapportent une importante baisse (65%) dans le jus de mangue traité thermiquement.

L'analyse statistique révèle une diminution significative de la vitamine C après une semaine de stockage à 4 comme à 35°C. Une dégradation de 188,65 à 162,74 mg/100ml de boisson est enregistrée pour les échantillons réfrigérés contre 133,99 mg/100ml à 35°C après 28 jours de stockage, ce qui correspond à des taux de perte de 13,74 et 28,97% respectivement.

L'acide ascorbique est un nutriment hautement sensible et instable qui s'oxyde facilement. Plusieurs études ont montré que la teneur en vitamine C des jus diminue durant le stockage; cela peut être due à de nombreux paramètres tels que le pH, la température et la lumière (**Klimczak et al., 2007**). En effet, tout ce qui provoque une oxydation (oxygène, ...) ou la favorise (fer, cuivre,...) intensifie la destruction de cet acide (**Steskova et al., 2006**). À l'inverse, il est protégé par les agents réducteurs organiques ou minéraux (tannins, glutathion, sélénium) et par les chélateurs de métaux (acide citrique), ainsi que par le pH acide.

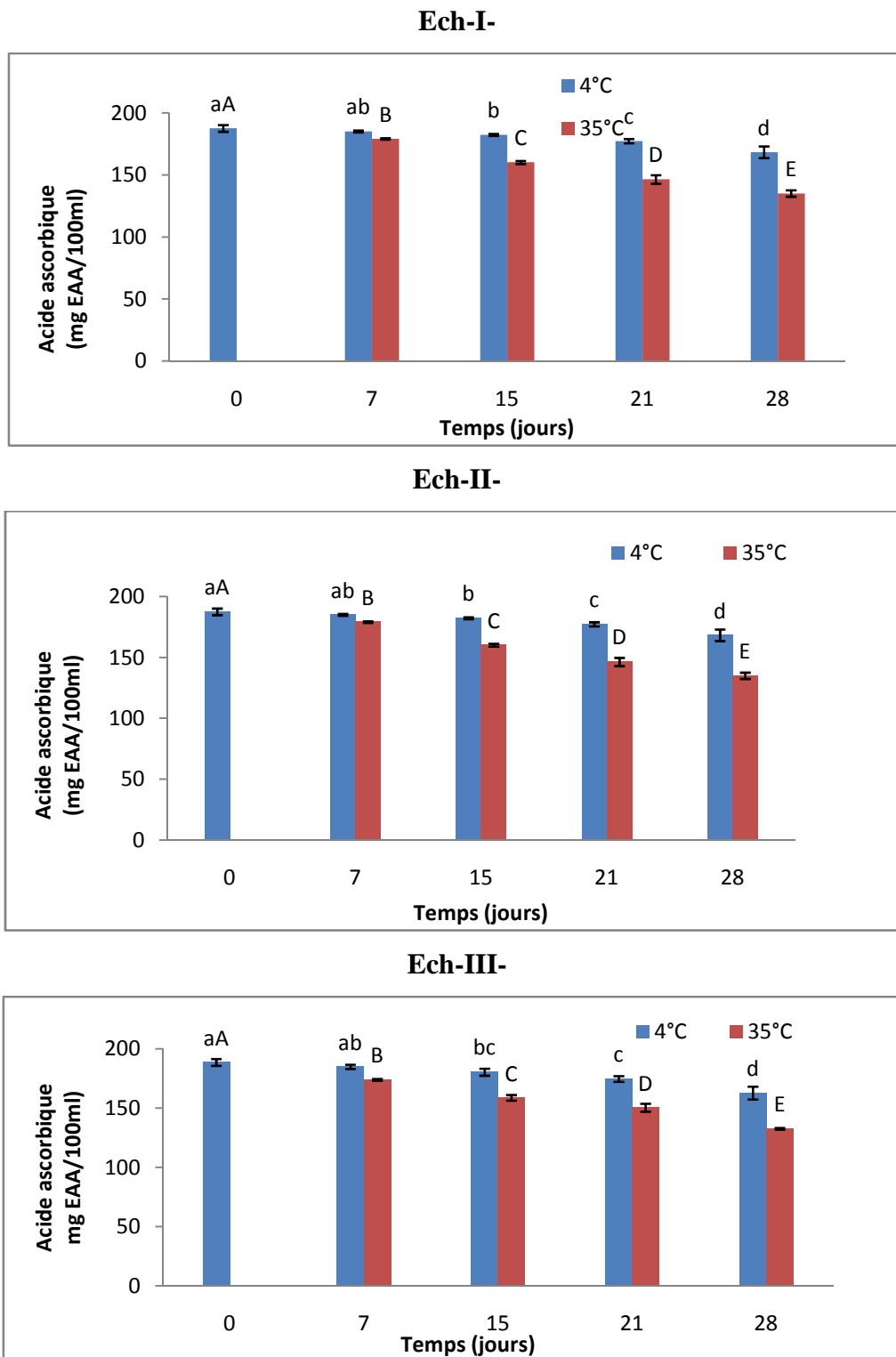


Figure 1. Evolution des teneurs en acide ascorbique au cours de la conservation.

Les barres verticales représentent les écartypes ;

Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$) :

Les lettres en majuscules sont attribuées pour la comparaison statistique des échantillons à 35 °C ;

Les lettres en minuscules sont attribuées pour les échantillons réfrigérés.

Klimczak et al. (2007) ont indiqué que l'augmentation de la température de 10°C cause une diminution importante de la vitamine C; ils ont constaté une diminution de 21%, 31% et 81% de l'acide ascorbique dans un jus d'orange après stockage pendant six mois à 18°C, 28°C et 38°C, respectivement.

Suarez et al. (2012) rapportent une dégradation d'acide ascorbique au cours de la conservation de jus de pomme à 4, 10, 20 et 30°C pendant 60 jours. À 30°C, une diminution au-dessous de la limite est enregistrée pour cet acide après 15 jours de conservation. Une dégradation de ce composé est aussi observée à 4°C mais à moindre degré. Quant à **Wegrzyn et al. (2008)**, ils confirment qu'une dégradation de la vitamine C est observée au cours du stockage à 20 et 38 °C dans le lait enrichi en polyphénols de pomme. Cette dégradation est totale après quatre semaines de stockage à 38°C.

Selon **Zulueta et al. (2012)**, des différences significatives ($p < 0,05$) sont enregistrées en acide ascorbique en fonction de temps de stockage réfrigéré pendant 42 jours d'une boisson lactée à l'orange (de 25,2 à 13,8 mg/100ml). De même **Barba et al. (2012)** ont signalés une baisse de la teneur en acide ascorbique de jus de myrtille traité par haute pression au cours de son stockage réfrigéré.

L'explication possible de cette dégradation durant le stockage réfrigéré dans les boissons lactées peut être attribuée à la disponibilité préjudiciable des ions métalliques (fer, cuivre...) qui catalysent la dégradation de ce composé par la formation de complexes avec ces agents chélateurs (**Cheah et al., 1995**). **Kabasakalis et al. (2000)** rapportent des pertes de 60-67 % enregistrés pour le jus d'orange commercial traité et 7-13 % pour le jus frais durant la conservation réfrigérée pendant 31 jours.

L'acide ascorbique se dégrade selon les conditions de stockage, de conditionnement et de traitement employé (**Kabasakalis et al., 2000**). La dégradation anaérobie est essentiellement observée durant le stockage et particulièrement à température élevée (**Solomon et al., 1995**).

Il a été rapporté que plusieurs sous produits sont issus de l'oxydation de la vitamine C tels que le L-threose et le L-erythrose. Ces composés peuvent se combiner avec les acides aminés pour former des pigments bruns tels que l'hydroxyméthylfurfural (HMF) lors des réactions de Maillard (**Eskin, 1990**).

II.2. Les caroténoïdes

Les teneurs en caroténoïdes des échantillons analysés au cours de la conservation pour chaque température, sont présentés par paires dans la figure 02.

La teneur en caroténoïdes des échantillons analysés est d'une moyenne de 0,54 mg/100ml au début de la conservation, cette teneur est influencée par l'addition du β -carotène comme colorant lors de la préparation de la boisson, cependant la teneur incorporée ne nous a pas été indiquée. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par **Zulueta et al. (2012)** pour un jus d'orange au lait qui est de 0,36 mg/100ml et par **Santhirasegaram et al. (2013)** pour un jus d'orange frais qui est de 0,82 mg/100ml.

Les différences de teneurs en caroténoïdes indiquées dans la littérature par rapport à celles obtenues dans la présente étude sont probablement dues à la technique d'extraction et / ou à la méthode de dosage, à la variété, au degré de maturité et à l'origine géographique des fruits du concentré de fruit ainsi que la teneur en eau (**Sun et Temelli, 2006**).

Les caroténoïdes sont plus concentrés dans la peau que dans la pulpe de certains fruits ; de ce fait leur concentration dépend de la partie du fruit utilisé pour la préparation de purée, de concentré ou de jus de fruit. Ce qui est confirmé par les résultats de **Gil et al. (2002)**, dans une analyse sur la poire, qui ont obtenu des teneurs de β -carotène : 2,65-3,79 mg/Kg dans la peau et 0,53-1,68 mg/Kg dans la pulpe.

La teneur en caroténoïdes varie sous l'influence de procédé technologique, le traitement thermique induit une dégradation significative ($P < 0,05$) des caroténoïdes. Une diminution de 0,82 à 0,56mg/100ml a été enregistrée pour le jus de mangue après pasteurisation (**Santhirasegaram et al., 2013**). Selon ces mêmes auteurs, le traitement thermique induit des modifications géométriques de la forme naturelle *trans* vers la forme *cis*, en plus de la déstabilisation de leurs doubles liaisons ce qui favorise leur oxydation (**Lée et coates, 2003**) **Lee et cortés (2003)** ont également mentionné l'effet de la pasteurisation (90°C/20s) sur les caroténoïdes par une réduction significative (11%) dans le jus d'orange ; **Cortés et al. (2006)** ont enregistré une réduction significative (12,6%) pour la même gamme de produit.

Les caroténoïdes sont des structures fortement insaturées, d'où leur sensibilité à l'oxygène de l'air et à la chaleur, donc leur extrême susceptibilité à la dégradation au cours de la conservation. Les pertes en caroténoïdes durant la conservation sont fonction de la matrice dans laquelle ils sont incorporés (matière grasse, présence d'antioxydants et/ou de pro-oxydants,...), et de la nature des caroténoïdes eux-mêmes. Ainsi, les epoxy-caroténoïdes

sont plus sensibles au traitement thermique que les autres caroténoïdes (α , β et zeta-carotènes, lycopène, ...) (Mokrani, 2009).

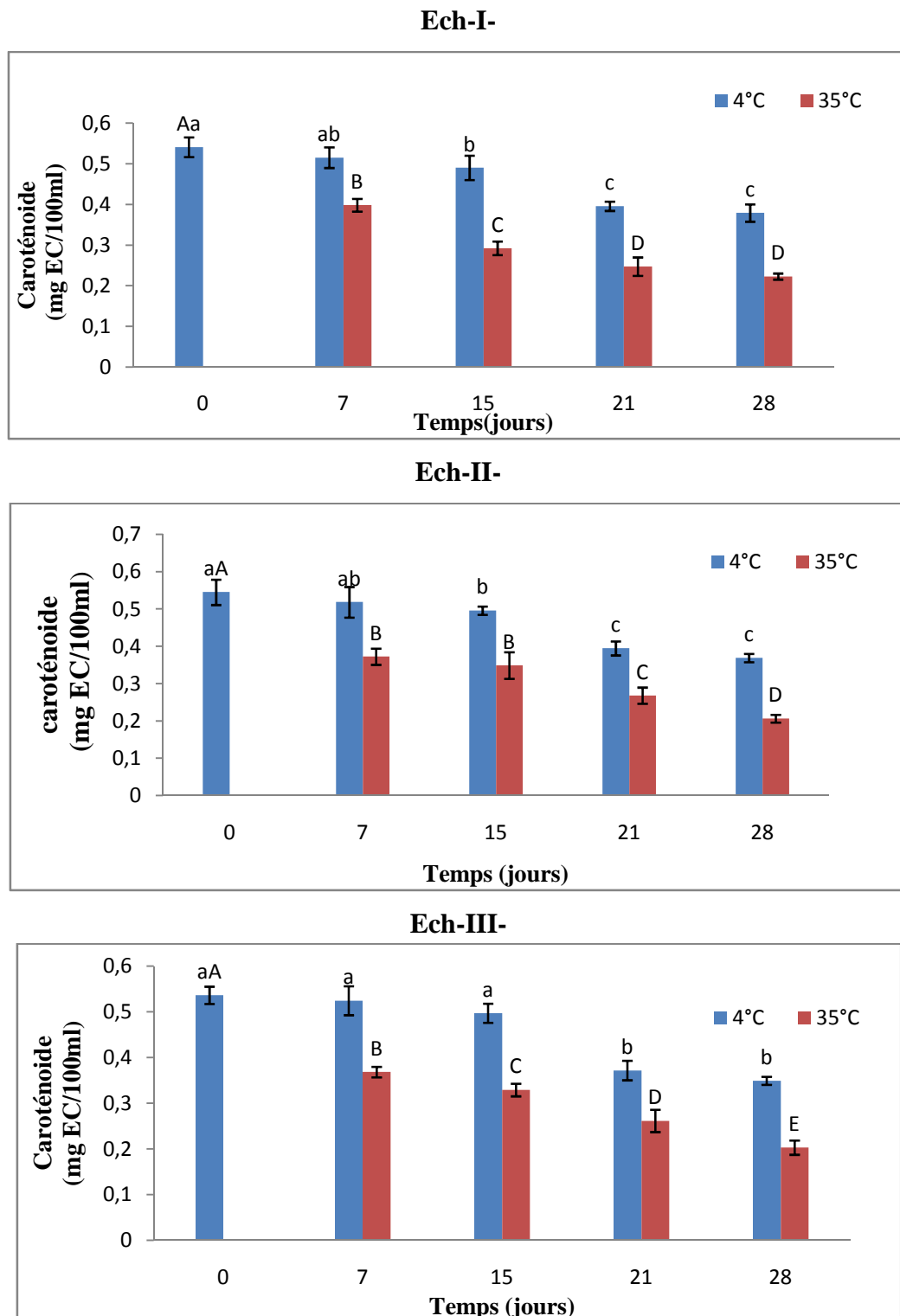


Figure 2. Evolution des teneurs en caroténoïdes au cours de la conservation.

Les barres verticales représentent les écarts types ;

Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$) :

Les lettres en majuscules sont attribuées pour la comparaison statistique des échantillons à 35°C ;

Les lettres en minuscules sont attribuées pour les échantillons réfrigérés.

Le suivi de la conservation des échantillons analysés aux deux températures indique une diminution significative de la teneur en caroténoïdes ; cette teneur varie de 0,54 à 0,37 et 0,21mg/100ml de boisson, soit une perte de 31,5% et de 61,1% pour la boisson réfrigérée et à 35°C, respectivement.

L'étude de **Barba et al. (2010)** montre que la conservation de jus d'orange lacté s'accompagne d'une perte enregistrée en ces composés : 34 % pour le stockage à 10 °C et 23% à 4 °C. De même, **Cortes et al. (2006)** ont rapportés les mêmes constatations au cours de la conservation réfrigéré de jus d'orange. **Zulueta et al. (2012)** rapportent que le traitement de conservation et la durée de stockage influencent significativement ($P < 0,05$) la teneur en caroténoïdes d'une boisson lactée à l'orange.

II.3. Les polyphenols totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux de la boisson lactée étudiée au cours de la conservation pendant 28 jours à 4 et 35°C sont établis pour trois échantillons et présentés sur la figure 3. Dans la présente étude, les résultats du dosage des polyphénols au cours de la conservation aux deux températures sont significativement différents. Les teneurs varient entre 73,27 mg EAG/100ml au début de la conservation et 47,79 mg EAG/100ml pour les échantillons stockés à 4°C et 42,26 mg EAG/100ml à 35°C. Des différences significatives sont enregistrées à partir de la première semaine pour les deux températures de conservation.

Dans la présente étude, les teneurs en polyphénols de la boisson lactée analysée est de 73,27 mg EAG/100ml. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par **Zulueta et al. (2007)** qui estiment une teneur de 75,5 mg EAG /100ml dans une boisson orange mangue au lait. Alors que des teneurs significativement élevées ont été enregistrées pour le jus d'orange pasteurisé (**Mendiola et al., 2008**) de l'ordre de 80,83mg/100ml et de l'ordre de 85,70 mg/100ml dans la boisson orange au lait (**Zulueta et al., 2012**). Ces résultats sont similaires aux résultats d'un certain nombre d'études ; une diminution du contenu phénolique a été notée au cours de la conservation de jus de pomme, notamment à 30°C qui révèle un taux de destruction de $4,7 \cdot 10^{-3}$ contre $1,1 \cdot 10^{-3}$ pour le même jus stocké à 4°C (**Suarez et al., 2012**).

Selon Klimaczak et al. (2007), le stockage de jus d'orange pendant quatre mois à 18°C, 28°C et 38°C s'accompagne d'une diminution de 7 %, 11 % et 20% des teneurs en polyphenols. Des résultats similaires sont obtenus même à basse température ; la conservation d'une boisson lactée à la mangue influence la teneur en polyphénols. Une régression significative de 77,8 mg/100ml à 52,5 mg/100ml pour les échantillons réfrigérés et à 48,8 mg/100 ml a été obtenue pour les échantillons maintenus à température ambiante (**Zulueta et al., 2007**).

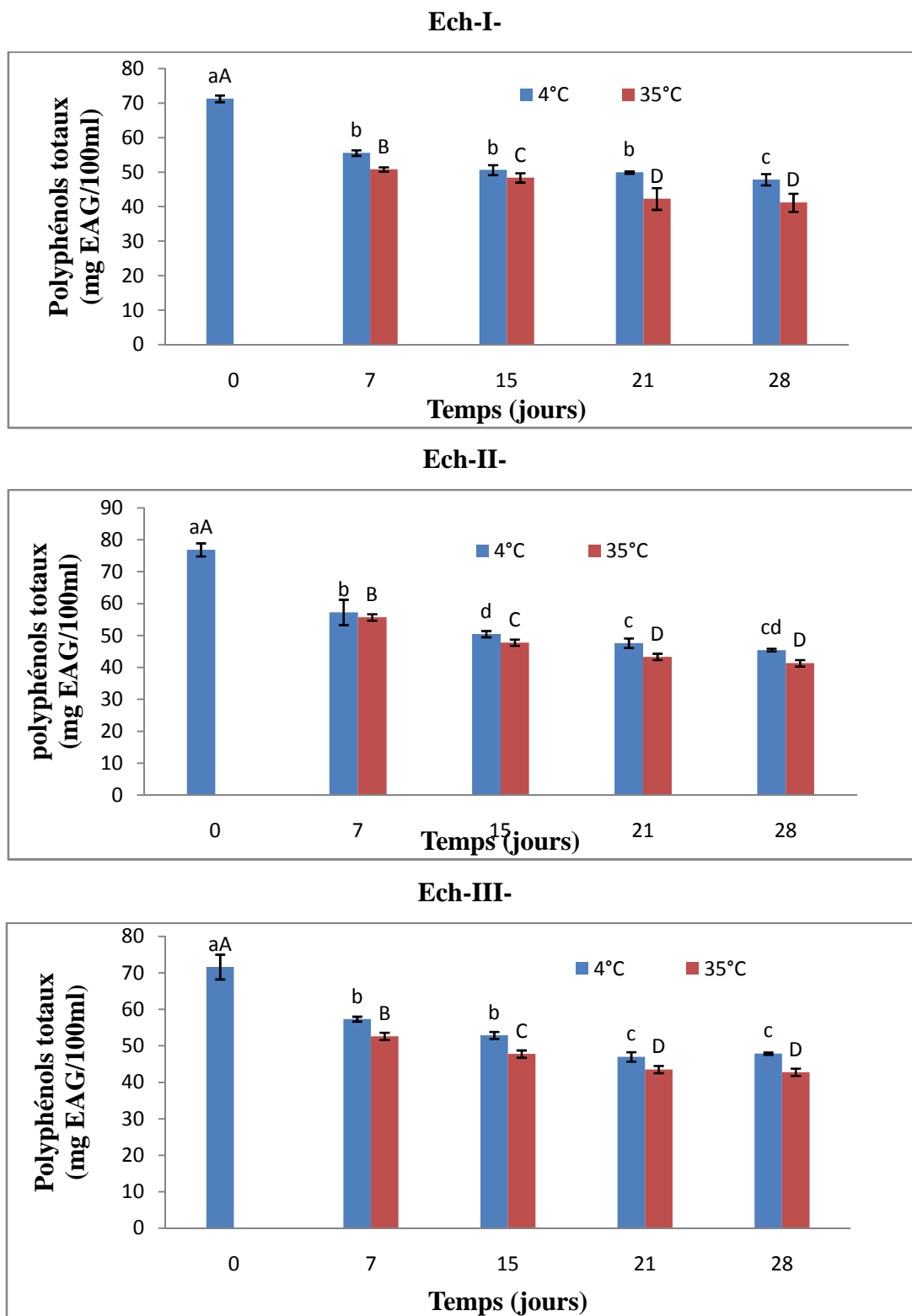


Figure 3. Evolution des teneurs en composés phénoliques au cours de la conservation.

Les barres verticales représentent les écartypes ;

Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$) :

Les lettres en majuscules sont attribuées pour la comparaison statistique des échantillons à 35°C ;

Les lettres en minuscules sont attribuées pour les échantillons réfrigérés.

La composition phénolique est influencée par les facteurs intrinsèques (espèce, variété) et extrinsèques (agronomiques) mais elle est également modifiée par les réactions oxydatives durant le stockage (**Robards et al., 1999**). La baisse de la teneur en polyphénols est attribuée à la formation de complexe entre les protéines et les polyphénols qui subissent des réactions d'oxydation, ou de polymérisation des polyphénols, ces réactions sont accélérées par des températures élevées telle qu'à 35°C (**Lee et al., 2007**). **Niseteo et al. (2012)** ont enregistré dans le café au lait une diminution significative de la teneur en polyphénols comparé au café noir qui est due à l'implication de certains acides phénoliques pour créer des complexes avec les protéines laitières partiellement dénaturées. L'augmentation de la température de stockage induit une augmentation significative du taux de polymérisation dans un tel milieu est par conséquent une diminution de la teneur en polyphénols totaux (**Wegrzyn et al., 2008**).

II.4. Les flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des échantillons analysés et leur évolution au cours de la conservation ainsi que leur étude statistique ($p < 0,05$) sont indiquées dans la figure 4. La teneur moyenne en flavonoïdes enregistrés pour les trois échantillons réfrigérés analysés au début de la conservation est de 0,2 mg EQ/100 ml de boisson. Ce résultat ne concorde pas avec ceux rapportés par la littérature. **Proteggente et al. (2002)** rapportent une teneur de 11,23 mg/100ml de jus d'orange. **Makris et al. (2006)** et **Igual et al. (2011)** ont enregistré, par HPLC, une teneur en flavonoïdes de 9,9 mg/100g dans le jus de raisin blanc, 57,15 mg/100g pour le jus de raisin noir et 73,62 mg/100ml pour le jus de fraise, respectivement.

Les différences observées pourraient être dues à la composition du concentré qui est issu de deux fruits et au procédé technologique subi par les fruits lors de la préparation et concentrations des jus, ainsi qu'au degré de maturité. Cependant, cette importante variabilité des teneurs en flavonoïdes peut aussi être due à la sensibilité de la méthode utilisée et de l'efficacité d'extraction. Les différences structurales au sein d'une même famille sont tellement importantes qu'il est difficile d'estimer la solubilité d'un composé dans un solvant. Toutefois, la solubilité des flavonoïdes dépend du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes (**Lapronik et al., 2005**). Les flavonoïdes hydrosolubles, de part leur fonction phénolique et leur liaisons avec les glucides (**Vierling, 2004**). De ce fait leurs solubilité dans l'eau est meilleure que dans les solvants organiques (apolaires). **Jaakola, (2003)** confirme que la concentration des flavonoïdes extraite par l'eau dans le jus d'orange est huit fois plus élevée que celle extraite dans l'éthanol ce qui est

expliqué par la richesse de l'orange utilisée pour la préparation du jus en flavonoïdes hydrosolubles.

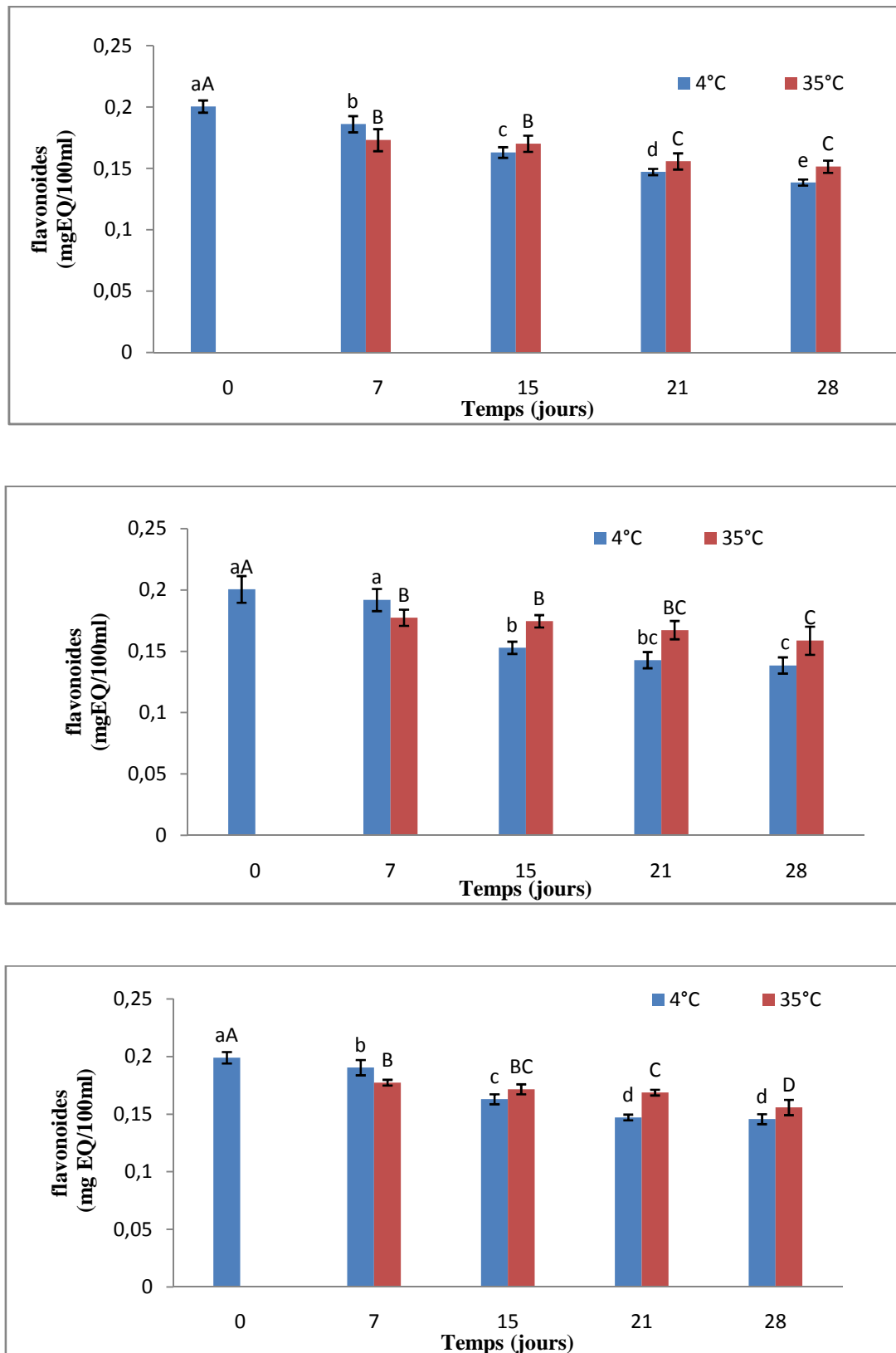


Figure 4. Evolution des teneurs en flavonoïdes au cours de la conservation.

Les barres verticales représentent les écartypes;

Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$) :

Les lettres en majuscules sont attribuées pour la comparaison statistique des échantillons à 35°C; Les lettres en minuscules sont attribuées pour les échantillons réfrigérés.

La comparaison de jus de pomme préparé à partir de concentré frais et de concentré stocké à 25°C pendant 9 mois montre que la concentration de la quercétine et de la phloridzine diminue de 54% et 32%, respectivement, alors que la catéchine et l'épicatéchine disparaissent complètement dans le jus stocké (**Spanos et al., 1990**).

La présente étude révèle une régression de la teneur en flavonoïdes après 7 jours de conservation réfrigérée comme à 35°C. Cependant les pertes survenues lors de la conservation à 4°C sont plus importantes qu'à 35°C (30% contre 25% respectivement). L'étude statistique des teneurs en flavonoïdes au cours de la conservation aux deux températures présente des différences significatives ($P \leq 0,05$) à partir de la première semaine, une exception est faite pour le deuxième échantillon réfrigéré qui ne présente une diminution significative qu'après 15 jours. Des résultats similaires sont rapportés par la littérature. Une diminution de la teneur en flavonoïdes dans les concentrés de jus de pomme stocké pendant 90 jours à 30°C a été observée par **Van Buren et al. (1976)**, suite au phénomène du brunissement et aux réactions de dégradation. Cependant, comme le démontre l'analyse statistique de la variance, cette diminution est plus intense pour les échantillons réfrigérés que pour les échantillons à 35°C. Cette constatation peut s'expliquer par l'effet synergique des conditions d'extraction sur la teneur en flavonoïdes extraite. Il est probable que les mouvements des molécules sont à plus grande vitesse à température élevée, ce qui fait que les flavonoïdes diffusent plus rapidement vers l'agent d'extraction. Toutefois, les flavonoïdes peuvent être oxydés à des températures plus élevées (supérieures à 35 °C) de telle sorte que les teneurs des échantillons diminuent progressivement (**Xu et al., 2005**). **El-Farsi et al. (2008)** ont signalé aussi que l'accroissement de la température favoriserait l'extraction de ces molécules en augmentant à la fois le coefficient de diffusion et la solubilité de ces composés dans le solvant.

III. Activité antioxydante

Dans la présente étude, l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de la boisson étudiée a été déterminée en utilisant deux méthodes :

- La première est l'estimation du pouvoir réducteur, qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métalliques (fer ferrique en fer ferreux).
- La deuxième méthode par l'évaluation du pouvoir antiradicalaire en mesurant la neutralisation du radical DPPH[•] par les antioxydants présents dans les extraits méthanoliques.

Les antioxydants peuvent réagir à différentes étapes du procédé d'oxydation et peuvent avoir plus d'un mécanisme d'action, il n'existe pas de test *in vitro* de référence pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon. Pour cela, la combinaison de différents tests est un meilleur indicateur de la capacité antioxydante de l'échantillon à tester.

III.1. Pouvoir réducteur

Le potentiel antioxydant des extraits est estimé en utilisant la méthode de réduction au ferricyanure de potassium. La présence de réducteurs dans les échantillons induit la réduction du fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . Dans cette approche, la couleur jaune de ferricyanure de potassium vire vers une couleur bleu verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de chaque extrait (**Öztürk *et al.*, 2007**).

La capacité réductrice d'un composé peut servir comme indicateur significatif de son potentiel antioxydant (**Gulcin *et al.*, 2003**). Les résultats du pouvoir réducteur des échantillons analysés sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique et représentés dans la figure 5. Les échantillons analysés présentent des pouvoirs réducteurs semblables, une moyenne de 67,08 mg équivalent d'acide ascorbique/100ml de boisson est enregistrée au début de la conservation. L'action antioxydante des réducteurs est basée sur la rupture de la chaîne de radicaux libres par un don d'hydrogène ou par réaction avec certains précurseurs de peroxydation pour prévenir la formation de peroxydes (**Liu et Yao, 2007**). Le pouvoir réducteur des différents extraits peut être attribué principalement aux composés bioactifs associés à l'activité antioxydante tels que les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes et autres antioxydants hydrophiles et hydrophobes qui sont de bons donneurs d'électrons et peuvent terminer la chaîne de réaction de radicaux libres par conversion de ces derniers en produits plus stables (**Yen *et al.*, 2008**). De plus, le type et la polarité du solvant peuvent affecter le transfert de l'atome d'hydrogène.

Le pouvoir antioxydant est influencé par plusieurs facteurs dans la molécule antioxydante. La structure, le nombre de groupements hydroxyles attachés aux noyaux phénoliques et le nombre de noyaux aromatiques jouent un rôle important sur cette activité ainsi que le processus et conditions de conservation (**Zulueta *et al.*, 2012**).

Le traitement thermique augmente le risque d'oxydation des composés phénoliques ; ce qui peut expliquer la diminution du pouvoir réducteur. Par contre, **santhirasegaram *et al.* (2013)** infirment cet effet et signalent que le pouvoir réducteur ne subit pas de changements significatifs dans un jus de mangue pasteurisé par rapport au jus frais (0,36 mg/ml contre 0,35 mg/ml respectivement)

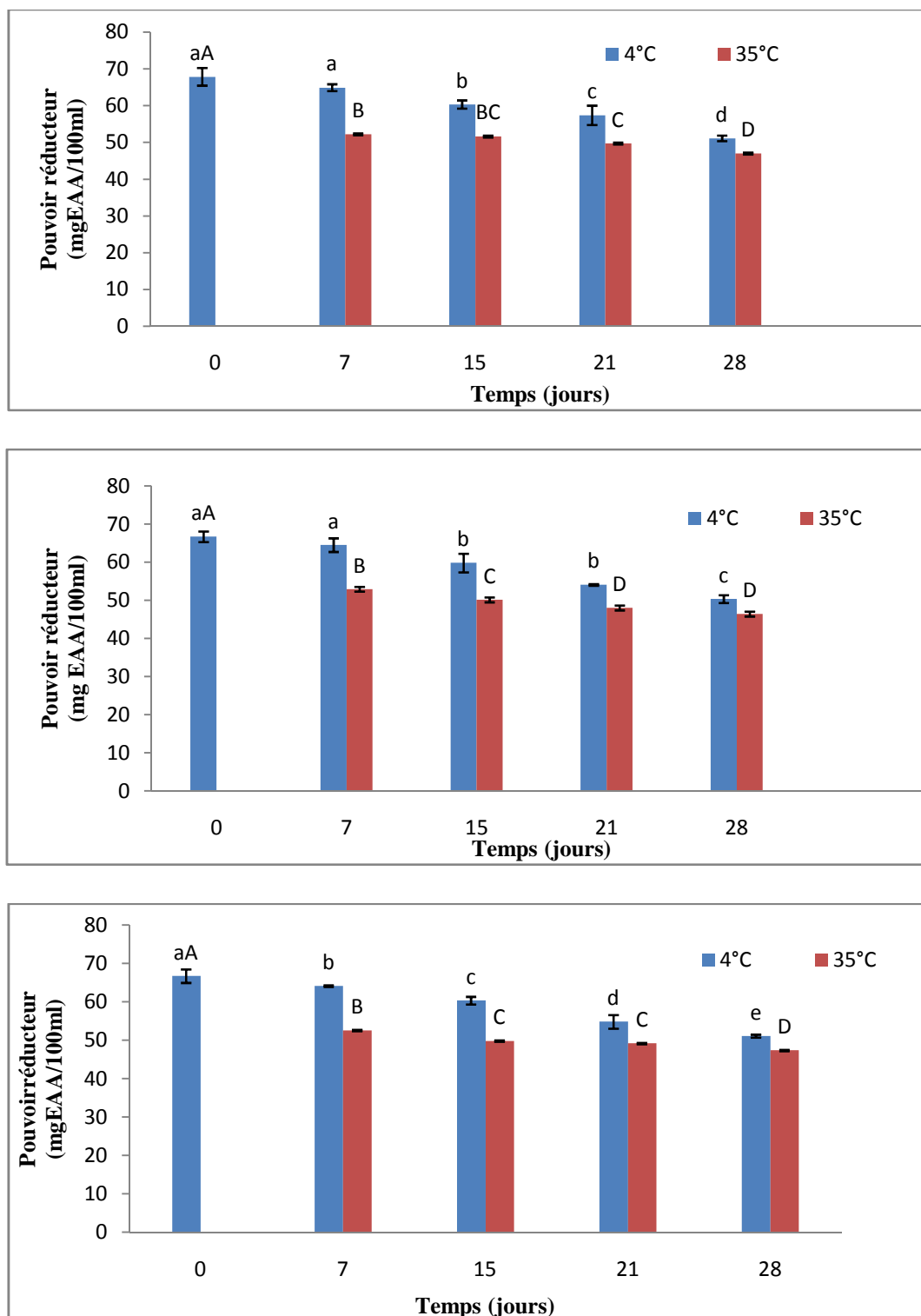


Figure 5. Evolution du pouvoir réducteur au cours de la conservation.

Les barres verticales représentent les écarts types ;

Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$) :

Les lettres en majuscules sont attribuées pour la comparaison statistique des échantillons à 35°C ;

Les lettres en minuscules sont attribuées pour les échantillons réfrigérés.

La conservation de la boisson étudiée révèle une diminution du pouvoir réducteur pour tous les échantillons, une différence significative est observée après 7 jours de conservation à 35°C et atteint une valeur de 49,01 mg EAA/100ml au bout de 28 jours, soit une perte de 27%, alors que cette différence n'est significative qu'après 15 jours pour atteindre une valeur de 55,42 mg EAA/100ml après 28 jours de stockage réfrigéré, soit une perte de 17,5 %.

Selon **Liyana-Pathirana et Shahidi, (2005)**, la perte de capacités antioxydantes d'extraits à haute température est probablement due à la dégradation des composés phénoliques. L'activité antioxydante de lait additionné de polyphénols de pomme est stabilisée par le traitement thermique, mais diminue lentement au cours du stockage (**Wegrzyn et al., 2008**). En effet, le brunissement enzymatique par dégradation des polyphénols s'accompagne par une diminution de l'activité antioxydante après deux semaines de stockage à 38°C.

III.2. Activité antiradicalaire

La technique du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est l'une des méthodes la plus couramment employée pour évaluer l'activité antioxydante. La méthode est basée sur la capacité des antioxydants à agir en tant que piègeurs de radical en réduisant le DPPH[•] par un transfert d'hydrogène qui se traduit par une décoloration de la solution de DPPH[•] du violet au jaune (**Gülçin et al., 2003**). L'activité antiradicalaire est exprimée en mg équivalent d'acide ascorbique par 100ml de boisson. Les résultats des échantillons analysés sont illustrés dans la figure -6- et révèlent que la boisson étudiée possède des capacités à céder des atomes d'hydrogène pour agir comme antioxydant.

La conservation des échantillons révèle une régression significative de l'activité antiradicalaire après une semaine de conservation aux deux températures étudiées et qui s'accroît avec le temps notamment à 35°C. La régression enregistrée s'étend d'une moyenne de $53,66 \pm 1,45$ au début des analyses à $28,08 \pm 1,45$ et $11,15 \pm 1,26$ mg équivalent d'acide ascorbique/100ml de boisson au terme du stockage réfrigéré et étuvé respectivement. Notons que les échantillons maintenus à 35°C présentent l'activité anti-radicalaire la plus faible notamment après 21 jours, cette perte est de 55% à 21 jours et atteint 80% à 28 jours.

La dégradation des acides phénoliques, des flavonoïdes et des polyphénols en général ainsi que l'acide ascorbique au cours de la conservation s'accompagne d'une diminution de l'activité antioxydante. Selon **Sanchez-Morino et al. (2005)**, la capacité antioxydante est liée

à la composition en substances bioactives ; cette capacité est attribuée aux polyphénols des fruits et légumes.

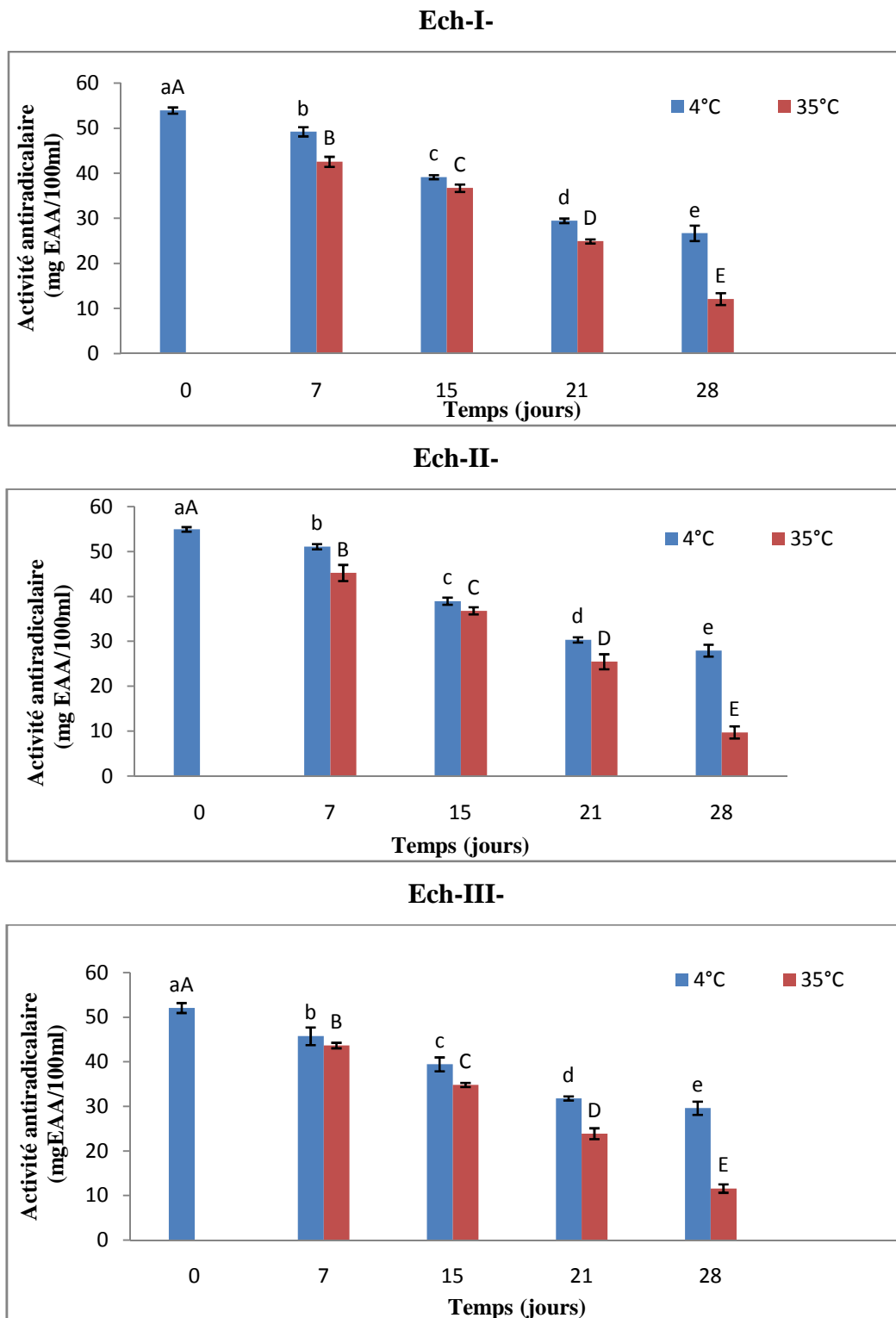


Figure 6. Evolution de l'activité antiradicalaire au cours de la conservation.

Les barres verticales représentent les écarts types ;

Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($P < 0,05$) :

Les lettres en majuscules sont attribuées pour la comparaison statistique des échantillons à 35 °C ;

Les lettres en minuscules sont attribuées pour les échantillons réfrigérés. L'analyse des résultats

Klimczak et al. (2007) révèlent qu'au cours d'un mois de stockage d'un jus d'orange à 38°C, une baisse de 13% a été enregistrée pour l'activité antioxydante (DPPH). Ces résultats sont similaires avec ceux rapporté par **Arena et al. (1999)** qui signalent que l'activité antioxydante de jus de fruits analysés diminue de 18%, 45% et 84% après 6 mois de stockage à 18, 28 et 38 °C, respectivement.

Del Caro et al. (2004) ont décrit une légère diminution de la capacité antioxydante obtenue par DPPH pour le jus d'orange après 15 jours d'incubation à 4°C. Cette diminution peut être liée à la baisse du contenu phénolique et de la vitamine C dans le jus stocké par rapport au jus frais. Par contre, ces résultats ne concordent pas avec ceux rapportés par **Mendiola et al. (2008)** qui ont enregistré une augmentation de l'activité antiradicalaire dans une boisson multi-fruit au lait mais qui, d'après cette étude, ne présente pas de corrélation claire entre la teneur en composés phénoliques totaux et l'activité de piégeage du DPPH. Cette absence de corrélation pourrait être associée à la présence de vitamines ayant des propriétés antioxydantes (vitamines C et E) dans la boisson qui ne contribuent pas à la mesure des composés phénoliques totaux, mais peut avoir des synergies avec l'activité anti-oxydante des composés phénoliques.

IV. Corrélation entre l'activité antioxydante et les teneurs en antioxydants

Afin d'évaluer la contribution des antioxydants à l'efficacité antioxydante de la boisson analysée, les coefficients de corrélation sont établis par le test de Pearson à matrice non carrée avec la probabilité $P < 0,001$. L'antioxydant responsable de ces activités est décelé par étude des différentes corrélations existant entre les teneurs en antioxydants et le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire (tableau VIII). Dans la présente étude, les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les caroténoïdes et l'acide ascorbique semblent contribuer d'une façon significative à l'activité antioxydante (activité antiradicalaire et pouvoir réducteur).

De très bonnes corrélations positives sont observées entre le pouvoir réducteur et les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en caroténoïdes et en acide ascorbique. Des corrélations significatives sont également notées entre l'activité antiradicalaire et les teneurs en ces antioxydants.

Les polyphénols semblent contribuer au pouvoir réducteur des différents extraits de la boisson étudiée. Une très bonne corrélation positive est enregistrée entre teneurs en composés phénoliques des différents échantillons et leurs pouvoirs réducteurs ainsi qu'avec leurs activités antiradicalaires. Les coefficients de corrélations linéaires sont de $r = 0,89$ et de $0,87$ respectivement. Ceci confirme que les composés phénoliques contribuent au pouvoir réducteur et à l'activité antiradicalaire de cette boisson. Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs études dont **Rapisarda et al. (2008)**, qui ont obtenu un coefficient de corrélation de $0,86$ entre les concentrations en composés phénoliques et l'activité antiradicalaire d'orange. Aussi **Davalos et al. (2005)** ont signalé une corrélation entre les composés phénoliques et le pouvoir réducteur pour les jus de raisin ($r=0,92$).

Tableau VIII: corrélations entre les teneurs en antioxydants et les activités antioxydantes

	Polyphénols	Flavonoïdes	Acide ascorbique
Pouvoir réducteur	0,89***	0,72***	0,87***
DPPH	0,87***	0,78***	0,88***

(***) Corrélation très hautement significative. ($P < 0,001$)

Parallèlement aux composés phénoliques, les flavonoïdes semblent être impliqués dans le potentiel réducteur et l'activité scavenging des échantillons étudiés. Les coefficients de corrélation sont positifs ($r=0,72$ et $0,78$ respectivement). Cela suggère que les flavonoïdes contribuent à la capacité des extraits de ces échantillons à réduire le fer ferrique et à piéger le radical libre DPPH et comparables aux résultats de **Rapisarda et al. (2008)** qui signalent un coefficient de corrélation de $r=0,71$ entre l'activité antiradicalaire et la teneur en flavonoïdes de jus d'orange. Ces composés sont des antioxydants puissants avec des propriétés antiradicalaires attribuées aux groupements hydroxyles attachés aux structures du cycle phénol (**Velioglu et al., 1998**). Les propriétés redox leur permettent d'agir comme agents réducteurs, donneurs d'hydrogène et piègeurs de l'oxygène singulet et triplet. Ils peuvent également présenter de fortes propriétés de chélation de métaux.

Les corrélations entre les teneurs en polyphénols totaux et les activités antioxydantes sont supérieures à celles constatées avec les flavonoïdes. Ceci indique que la capacité antioxydante est fortement liée aux polyphénols totaux et modestement liée aux classes individuelles de ces composés. Ceci signifie que l'effet potentiel synergique entre les antioxydants du fruit et l'interaction des flavonoïdes et des non flavonoïdes peut contribuer à l'activité antioxydante élevée de ces échantillons.

La contribution des antioxydants hydrosolubles dont les acides urique et ascorbique dans le lait est très modeste, sa capacité antioxydante réside dans la fraction lipidique et protéique (**Zulueta et al., 2007**).

En effet la vitamine E, stabilisée par la fraction apolaire du lait, contribue efficacement dans l'activité antioxydante du lait et ses dérivés (**Mandiola et al., 2008**).

D'autres propriétés antioxydantes sont attribuées à la fraction protéique du lait (**Mendiola et al., 2008 ; Zuluéta et al., 2012**). Les groupements phénoliques et indoliques du tryptophane, de la tyrosine ainsi que de la thiamine du lait ont une habilité à céder des protons, leurs conférant ainsi une activité antioxydante. De plus, les complexes des protéines du lait et polyphénols des fruits tels que les mélanoidines issues des réactions de Maillard sont dotées d'activité antioxydante de tel sorte à piéger certains radicaux libres (**Zuluéta et al., 2012**).

De très bonnes corrélations sont aussi enregistrées entre les activités antioxydantes et la teneur en acide ascorbique, **Zulueta et al. (2010)** rapportent une bonne corrélation entre la teneur en acide ascorbique et la capacité antioxydante d'une boisson lactée à l'orange ($r=0,78$ $P<0,05$) et signalent que la dégradation de cet acide durant le stockage est accompagnée par une diminution de la capacité antioxydante. Cependant les corrélations entres les teneurs en caroténoïdes et les deux activités mesurées n'ont pas été établies par cause de différences de polarités des solvants utilisés pour chacun.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La présente étude a pour but d'évaluer la qualité de la boisson lactée « ifruit OML » au cours de son stockage pendant un mois à 4 et à 35°C, par la caractérisation physico-chimique, le dosage des principaux antioxydants (acide ascorbique, caroténoïdes, composés phénoliques totaux et flavonoïdes), ainsi que la détermination de l'activité anti-oxydante (activité antiradicalaire et pouvoir réducteur).

Les résultats de l'analyse physico-chimique révèlent une relative stabilité de la boisson étudiée ; une légère augmentation de l'acidité est enregistrée au cours de la conservation, notamment à 35°C, accompagnée d'une augmentation du taux de Brix.

Compte tenu des résultats obtenus, les teneurs des échantillons en polyphénols totaux, flavonoïdes, acide ascorbique et caroténoïdes ainsi que les activités antioxydantes sont significativement affectées par le temps et la température de stockage. Globalement, le comportement des différents composés bioactifs est similaire pour les deux températures. D'après l'analyse statistique des résultats, nous observons une diminution de la teneur en ces composés à partir de la première semaine de conservation. Cependant, la plus grande rétention, à la fin de la conservation, est imputée aux échantillons stockés à 4°C en comparaison à ceux maintenus à 35°C, exception faite pour les flavonoïdes qui révèlent qu'ils sont affectés d'une manière plus marquée par le stockage à 4°C. Ce la peut s'expliquer par le fait que les températures élevées peuvent favoriser et améliorer l'extraction de ces composés.

Des corrélations positives ont été observées entre l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité antiradicalaire) et les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, caroténoïdes et acide ascorbique. témoignant ainsi que la teneur en composés phénoliques et en acide ascorbique principalement module l'activité antioxydante. Les résultats suggèrent également un effet synergique possible entre les différents antioxydants.

Les résultats de la présente étude confirment l'intérêt de la consommation de cette boisson qui serait une alternative intéressante à la consommation des jus de fruits. Cet intérêt est justifié par sa bonne stabilité physicochimique, la qualité et la quantité en antioxydants apportés, notamment en acide ascorbique et polyphénols qui sont de puissants antioxydants dont les effets bénéfiques sur la santé sont bien établis.

Les résultats de la présente étude méritent d'être complétés ; il serait intéressant :

- D'évaluer les différents antioxydants par des techniques plus performantes et plus précises (RMN et HPLC) et d'élucider leur mécanisme d'action et de tester l'activité des extraits in vivo.
- d'étudier l'aspect technologique de fruits et de la poudre de lait utilisés (préparation des jus, effet des traitements technologiques, procédé d'élaboration de la poudre de lait...).
- D'évaluer la qualité microbiologique de la boisson étudiée au cours de sa conservation
- D'élargir le champ d'études aux antioxydants du lait dont la vitamine E, la lactoferrine, l'albumine et certains acides aminés.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

Al-Farsi M.A., et Lee C.Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chem.* 108: 977-985.

Anonyme, 2013: fiche technique ifri.

Arena E., Fallico B., et Maccarone E. (1999). L'attività antiossidante deisucchi di arance pigmentate. In: Piga, A, Agabbio, M, Gambella, F. *Biochimica. Biophysica .Acta.* 1501: 12-24.

-B-

Ball G.F.M. (2004). *Vitamins: Their Role in the Human Body.* Ed. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK.

Bandyopadhyay M., Charkaborty R., et Raychaudhuri U. (2008). Antioxidant activity of natural plant sources in dairy dessert (Sandesh) under thermal treatment, *LWT.* 41 : 816-825.

Barba F.J., Esteve M.J., et Frígola A. (2010). Ascorbic acid is the only bioactive that is better preserved by high hydrostatic pressure than by thermal treatment of a vegetable beverage. *J. Agric. Food Chem.* 58: 10070-10075.

Barba F.J., Jäger H., Meneses N., Esteve M.J., Frígola A., et Knorr D. (2012). Evaluation of quality changes of blueberry juice during refrigerated storage after high-pressure and pulsed electric fields processing. *Innovative Food Sci. Emerging. Technol.* 10: 1016-004.

Belitz H.D., Grosh W., et Shieberle P. (2004). *Fruits and Fruit Products.* *Food Chem.*96: 806-860.

Bourgeois C.F. (2003). *Les vitamines dans les industries Agro-alimentaire.* Edition tec et doc. Paris : Lavoisier Sciences techniques et agroalimentaires 708.

Boyd B., Ford C., Koepke M.C., Gary K., Horn E., Mcanalley S et Macanalley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco. Sci. Nutr.*10: 165-273.

Buedo A.P., Elustondo M.P., et Urbicain M.J. (2001). Non-enzymatic browning of peach juice concentrate during storage. *Food Sci. Technol.*1: 1255-260.

-C-

Cheah P.B., et Ledward D.A. (1995). High-pressure effect on lipid oxidation. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 72: 1059-1064.

Chen J., Lindmark M.H., Gorton L., et Akesson B. (2003). Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *Int. Dairy. J.* 13 : 927-935.

Claud F. (2003). Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Edition Lavoisier.

Cortes C., Esteve M.J., Rodrigo D., Torregrosa F., et Frigola A. (2006). Thermal Processing, Storage Conditions, and the Composition and Physical Properties of Orange Juice. *Food Chem. Toxicol.* 44: 1932-1939.

Courtet L.F. (2009). Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voies d'amélioration par l'alimentation. Thèse de doctorat. École nationale vétérinaire d'alfort, faculté de médecine, Créteil.

-D-

Davalos A., Begona B., et Carmen G-C. (2005). Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars *Food Res. Int.* 93: 325-330.

Del Caro A., Piga A., Vacca V., et Agabbio M. (2004). Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chem.* 8: 99-105.

Deutsch J.C. (2002). Dehydroascorbic acid. *J. Chromat.* 88: 299 307.

Di Majo D., et Giammanco M., La Guardia M., Tripoli E., Giammanco S., et Finotti E.B. (2005). Flavanones in Citrus fruit: Structure-antioxidant activity relationships. *Food Res .Int.* 38: 1161-1166.

Djeridane A., Yousfi M., Boutassouna D., Stocker P., et Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extract containing phenolic compounds. *J. Food Chem.* 62: 464-466.

Duarte I.F., Delgadillo I., et Gil A.M. (2006). Study of natural mango juice spoilage and microbial contamination with "*Penicillium expansum*" by high resolution H NMR spectroscopy. *Food Chem.* 96: 313-324.

-E-

Eskin N.A.M., (1990). Browning reactions in foods. *Biochem of foods proc.* London: Academic Press. 02: 240-295.

-F-

FAO n° 28, 1998. Alimentation et nutrition, Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine 92-5-20534-6.

Farnworth E.R., Lagacé M., Couture R., Yaylayan V., et Stewart B. (2001). Thermal Processing, Storage Conditions, and the Composition and Physical Properties of Orange Juice. *Food Res. Int.* 34: 25-30.

-G-

Gil M.A., Tomàs B.F.A., Hess-Pierce B., Kader A.A. (2002). Antioxidant Capacities, Phenolic Compounds, Carotenoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum Cultivars from California. *J. Agric. Food Chem.* 50: 4976-4982.

Gliguem H., Birlouez A.I. (2005). Effects of sterilization, packaging, and storage on vitamin C degradation, protein denaturation, and glycation in fortified milks. *J. Dairy. Sci.* 88: 891-899.

Gülçin I., Oktay M., Kireççi E., Küfrevioğlu ÖI. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chem.* 83: 371-382.

-H-

Hennebelle T., Sahpaz S., et Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* 1 : 2-5.

-I-

Igual ME, García MM et Martínez NN. (2011). Changes in flavonoid content of grapefruit juice caused by thermal treatment. *Innov. Food Sci. Emer tech.* 12:153-162.

-J-

J.O.R.A n° 5, (1992). Décret exécutif n° 92-25 du 13 Janvier 1992, Relatif aux conditions et aux modalités d'utilisation des additifs dans les denrées alimentaires.

J.O.R.A n° 80, (1999). Arrêté ministériel du 27 Octobre 1999, relatif aux spécifications du lait en poudre industriel et aux conditions et modalités de sa présentation, sa détention, son utilisation et sa commercialisation.

Jaakola L. (2003). Flavonoid biosynthesis in Bilberry (*Vaccinium myrtillus* l). *Int. Dairy. J.* 1-42.

-K-

Kabasakalis V., Siopidou D., et Moshatou E. (2000). Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. *Food Chem.* 70: 325-328.

Kahkonen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J.P., Pihlaja K., Kujala T.S., et Heinonen M. (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts containing Phenolic compounds. *J. Agri. Food Chem.* 47: 3954-3962.

Kiokais S et Gordod HM. (2004). Antioxidant properties of caroténoids *in vitro* and *in vivo*. Food Rev. Int. 20: 99-121.

Klimiczak I., Malicka M., Szlachta M., et Gliszczynska-Swiglo A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamine C and the antioxidant activity of orange juices. J. Food Comp Analysis 20: 313-322.

Kuo C.H., Fa J.T., et Hsin Y.C. (2008). Evaluation of microbial inactivation and physicochemical properties of pressurized tomato juice during refrigerated storage. Soc. Food Sci. Technol. LWT. 41: 367-375.

-L-

Lapornik B., Prošek M., et Wondra A.G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. J. Food Eng. 1: 214-222.

Lee B.C., Lee S.Y., Lee H.J., Sim G.S., Kim J.H., Cho Y.H., Lee D.H., Pyo H.B., Choe T.B., Moon D.C., Yun Y.P., et Hong J.T. (2007). Anti-oxidative and Photo-protective Effects of Coumarins Isolated from "*Fraxinus chinensis*". Arch. Pharm. Res. 30: 1293-1301.

Lee H.S., et Coates G.A. (1999). Vitamin C in frozen, fresh squeezed, unpasteurised, polyethylene-bottled orange juice: a storage study. Food Chem. 65: 165-168.

Lee H.S., et Coates G.A. (2003). Effect of Thermal Pasteurization on Valencia Orange Juice Color and Pigments LWT. Food Sci. Technol. 36: 153-156.

Liu Q., Yao H. (2007). Antioxidant activities of barley seeds extracts. Food Chem. 102: 732-737.

Liviu A.L.M., Dezmirean D., Adela M., Otilia B., Laslo L., Bogdanov. (2009). Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. Food Chem. 112: 863-867.

Liyana P.C., et Shahidi F. (2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. Food Chem. 93: 47-56.

-M-

Makris D.P., Kallithraka S., et Kefalas P. (2006). Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. J. Food Comp. Analysis. 396-404.

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

Mendiola J.A., Francisco R., Marin F., Javier S., Guillermo R.P.J. Martín, Alejandro C., et Elena I. (2008). Profiling of different bioactive compounds in functional drinks by high-performance liquid chromatography. J. Chromat. A. 1188: 234-241.

Mercandante A.Z., et Rodriguez A.D.B. (1998). Effects of ripening, cultivar differences and processing on the carotenoid composition of mango. *J. Agric. Food Chem.* 46: 128-130.

-N-

Nichenametla S.N., Targuscio T.G., Barney D.L., et Exon J.H. (2006). A Review of the Effects and Mechanisms of Polyphenolics in Cancer. *Crit. Rev. Nutr.* 46:161-183.

Noci F., Riener J., Walkling-Ribeiro M., Cronin D.A, Morgan D.J., et Lyng J.G. (2008). Ultraviolet Irradiation and Pulsed Electric Fields (PEF) in a hurdle strategy for the preservation of fresh apple juice. *J. Food Eng.* 85: 141-146.

-O-

Ong B.T., Nazimah S.A.H., Osman A., Quek S.Y., Voon Y.Y., Hashim D.M., Chew P.M., et Kong Y.W. (2006). Chemical and flavour changes in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) cultivar J3 during ripening. *Postharvest Biol. Technol.* 40: 279-286.

Öztürk M, Aydogmus F, Emin Duru M, Topçu G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food chem.* 103: 623-630.

-P-

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., et Defraigne J.O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutr. Clin. Métab.* 16 : 233-239.

Pincemail J., Meurisse M., Limet R., et Defraigne J.O. (1998). Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. *Medi. Sphère.* 73 : 29-30.

Proteggente A.R., Antonella S.B., De Pasquale A., et Rice-Evans C.A. (2002). The compositional characterisation and antioxidant activity of fresh juices from Sicilian sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) varieties. *Free Radical Res.* 37: 681-687.

-R-

Rapisarda P., Bellon S.E., Fabroni S., et Russo G., (2008). Juice quality of two new mandarin-like hybrids (*Citrus clementina* Hort. ex Tan x *Citrus sinensis* L. osbeck) containing anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 56: 2074-2078.

Reyes C.J., Yousef G.G., Martínez-Peniche R.A., et Lila A.M. (2005). Antioxidant Capacity of Fruit Extracts of Blackberry (*Rubus* sp.) Produced in Different Climatic Regions. *J. Food Sci.* 70: 497- S503.

Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P., et Glover W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food chem.* 66: 401-436.

Rose R.C., et Bode A.M. (1993). Biology of free radical scavengers: an evaluation of ascorbate. *J.Federat . Am. Soc. Experiment Biol.* 7: 1135-1142.

-S-

Sanchez-Gonzalez I., Jamenez-Escrig A., et Saura-Calixto F. (2005). In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). *Food Chem.* 90: 133-139.

Sanchez-Moreno C., Plaza L.E., Iez-Martinez P., De Ancos B., Martín-Belloso O., et Cano M.P. (2005). Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing. *J. Agric. Food Chem.* 53: 4403-4409.

Santhirasegaram V., Zuliana R., et Chandran S. (2013). Effects of thermal treatment and sonication on quality attributes of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Ultrasonics Sonochem.* 20: 1276-1282.

Sass-Kiss A., Kiss J., Milotay P., Kerek M.M., et Toth M.M. (2005). Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Res. Int* 38: 1023-1029.

Serafini M., Testa M.F., Villano D., Pecorari M., van Wieren K., et Azzini E. (2009). Antioxidant activity of blueberry fruit is impaired by association with milk. *Free Radical Bio. Med.* 46: 769-774.

Solomon O., et Svanberg U. (1995). Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8 °C. *Food Chem.* 53: 363-368.

Spanos G.A., et Wrolstad R.E. (1990). Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson Seedless grape juice. *J.Agric. Food Chem.* 38: 1565-1571.

Steskova A., Morochovicova M., et Leskova E. (2006). Vitamin C degradation during storage of fortified foods. *J. Food. Nutr. Res.* 45: 55-61.

Suárez-J A., Rüfer C.E., Gervilla R., Guamis B., Roig-S AX., et Saldo J. (2011). Influence of ultra-high pressure homogenisation on antioxidant capacity, polyphenol and vitamin content of clear apple juice. *Food Chem.* 127: 447-454.

Sun M., et Temelli F. (2006). Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids from carrot using canola oil as a continuous co-solvent. *J. Agric. Food Chem.* 37: 397-408.

-T-

Torregrosa F., Esteve M.J., Frigola A., et Cortes C. (2006). Effects on the carotenoid pattern and vitamin A of a pulsed electric field-treated orange juice–milk beverage and behavior during storage. *J. Food Eng.* 73: 339-345.

Tremolière J., Raymond Y.S.J., et Dupin H. (1984). Manuel d'alimentation humaine, les aliments.ed ESF. 400-401.

-V-

Van burn J., De Vos L., et Pilni kW. (1976). Polyphenols in golden delicious apple juice in relation to method of preparation. *J. Agric. Food Chem.* 24: 448-451.

Vierling E. (2004). Aliments et boissons : Filières et produits. Serie de science et aliments. Dion éditeur. Collection de boissons et technique.

Vierling E. (2008). Aliments et boissons : Filière et produits. Ed. Doin. Paris, 227-271.

-W-

Wang J., Yuan X., Jin Z., Tian Y., et Song H. (2007). Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chem.* 104: 242-250.

Wegrzyn T.F., Farr J.M., Hunter D.C., Au J., Wohlers M.W., Skinner M.A, Stanley R.A., et Sun W.D. (2008). Stability of antioxidants in an apple polyphenol–milk model system. *Food Chem.* 109: 310-318.

-X-

Xu Y., Zhang R., et Fu H. (2005). Studies on the Optimal Process to Extract Flavonoids from Red-raspberry Fruits. *Nature. Sci.* 3: 43-46.

-Y-

Yen Y-H., Shih C-H., et Chang C-H. (2008). Effect of adding ascorbic acid and glucose on the antioxidative properties during storage of dried carrot. *Food Chem.* 107: 265-272.

Yildirim A., Oktay M., et Bilaloglu V. (2001). The Antioxidant Activity of the Leaves of *Cydonia vulgaris*. *Turk. J. Med. Sci.* 31: 23-27.

-Z-

Zulueta A., Francisco J., Barba M.J., Esteve et Ana F. (2010). Effects on the carotenoid pattern and vitamin A of a pulsed electric field-treated orange juice-milk beverage and behavior during storage. *Eur. Food Res. Technol.* 231: 525-534.

Zulueta A., Francisco J., Barba M.J., Esteve et Ana F. (2012). Changes in quality and nutritional parameters during refrigerated storage of an orange juice–milk beverage treated by equivalent thermal and non-thermal processes for mild pasteurization. *Food Bioprocess. Technol.* 10: 012-0858

Zulueta A., Maria J., Esteve, Isabel F., Ana F. (2007). Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. *Food Chem.* 103: 1365-1374.

Zulueta A., Maurizi A., Frígola A., Esteve MJ., Coli R., et Burini G. (2009). Antioxidant capacity of cow milk, whey and deproteinized milk. *Int. Dairy .J.*19: 380-385.

Annexes

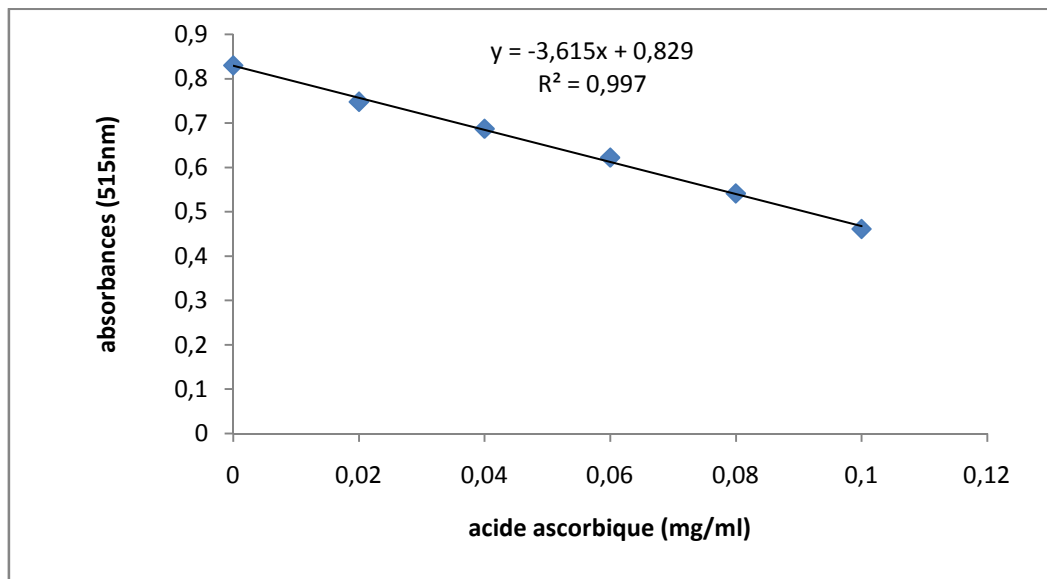


Figure 01: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

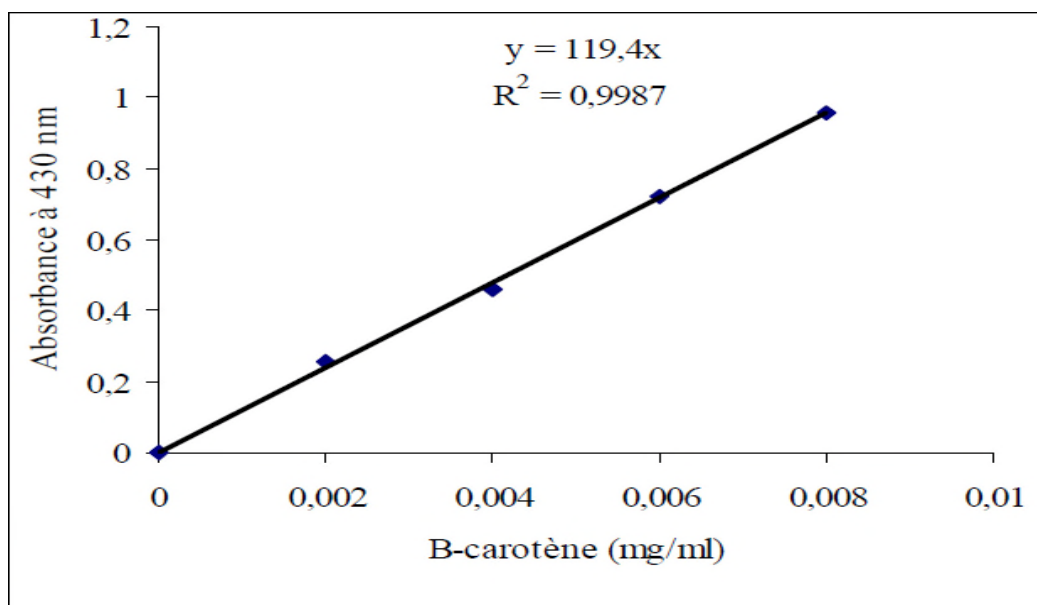


Figure 02: Courbe d'étalonnage des caroténoïdes

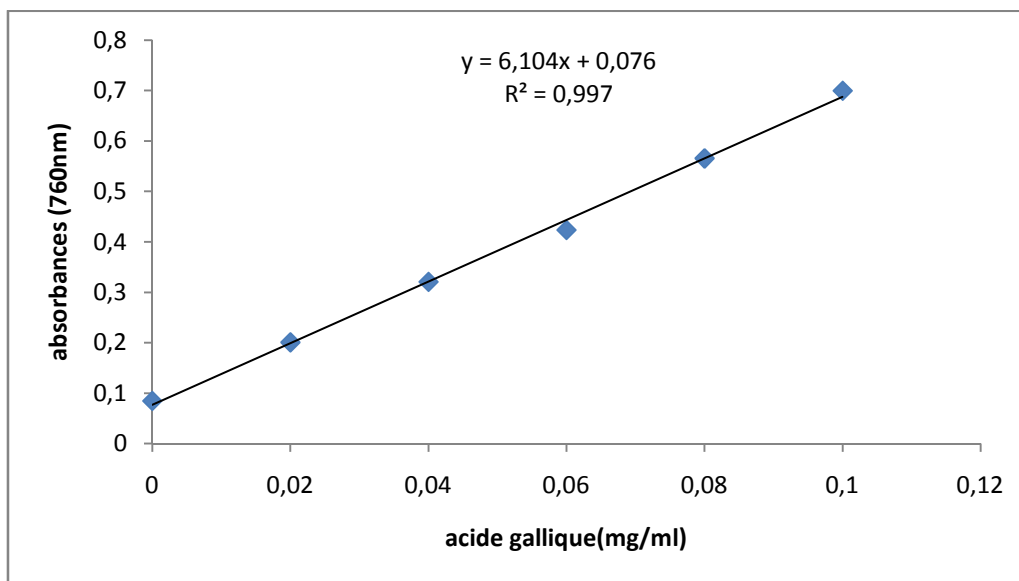


Figure 03: Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

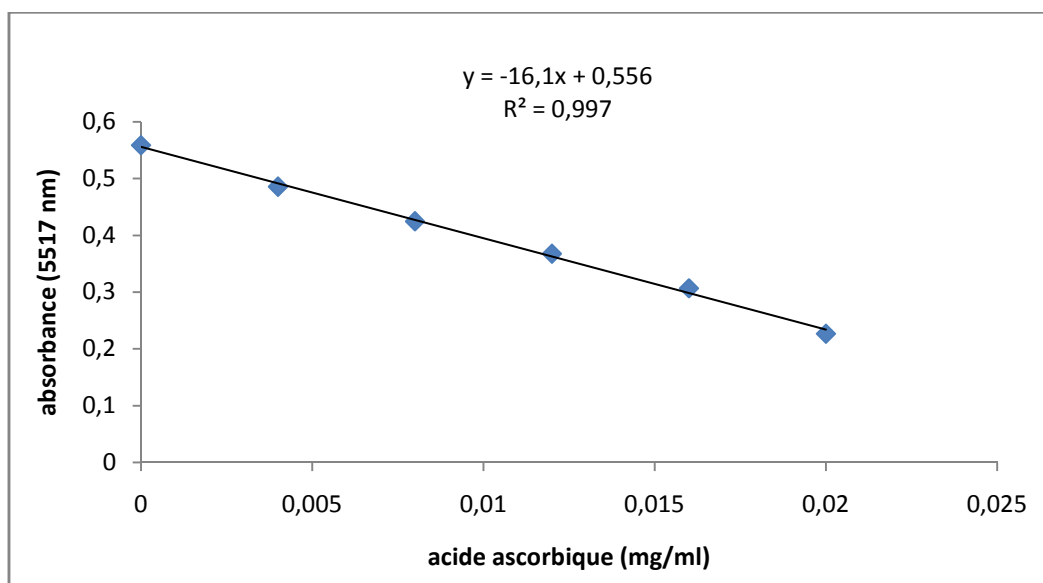


Figure 06: Courbe d'étalonnage de l'activité antiradicalaire

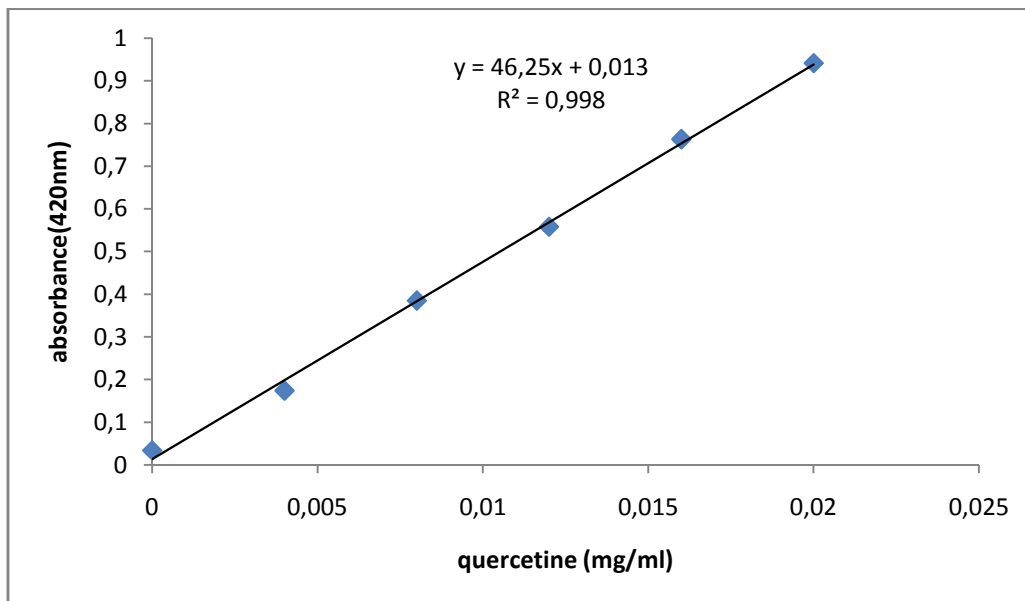


Figure 04: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

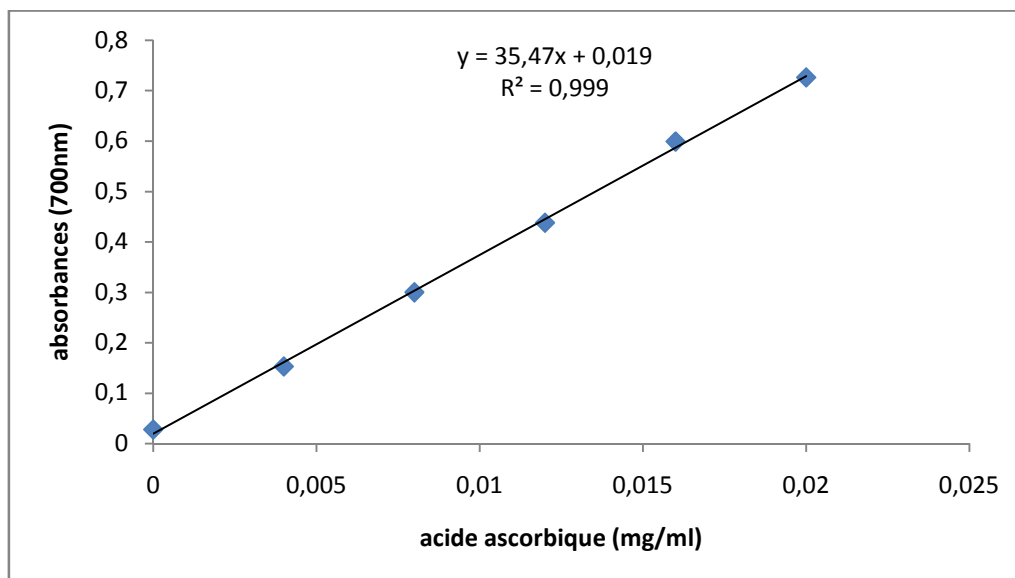


Figure 05: Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

Résumé

Le présent travail a été entrepris dans le but d'apprécier, d'une part, les paramètres physicochimiques (pH, acidité et Brix), la qualité nutritionnelle, les teneurs en composés bioactifs et les propriétés antioxydantes de la boisson lactée « ifruit OML » au cours de sa conservation à basse et à haute température (4 et 35 °C respectivement) et de déterminer, d'autre part, l'effet de ces températures de conservation sur les teneurs en antioxydants et l'activité antioxydante de cette boisson. Les résultats obtenus montrent que la boisson étudiée est riche en polyphénols totaux et en acide ascorbique, alors que des teneurs relativement faibles sont enregistrées pour les flavonoïdes. La conservation effectuée s'accompagne de légère modification physicochimique et entraîne une diminution significative des teneurs de tous les antioxydants analysés et de l'activité antioxydante. Cependant les pertes survenues sont plus importantes lors de la conservation à 35°, exception faite pour les flavonoïdes qui montrent une meilleure rétention à cette température; les pertes enregistrées après 28 jours de conservation à 4 et à 35 °C respectivement sont de l'ordre de 35% et 32% pour les polyphénols, 30% et 25% pour les flavonoïdes, 13% et 29 % pour l'acide ascorbique et 31% et 61% pour les caroténoïdes. De très bonnes corrélations positives ont été observées entre l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité antiradicalaire) et les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et acide ascorbique.

Mots clés : eau fruité lactée, conservation, temps/ température, antioxydants, activité antiradicalaire, pouvoir réducteur.

Abstract

The present work has been undertaken for the purpose on the one hand assessing, the chemical parameters (pH, acidity and Brix), the nutritional quality, the levels of bioactive compounds and the antioxidant properties of the milky drink "ifruit OML " during its conservation at low and high temperature (4 and 35 °C respectively) and to determine, on the other hand, the effect of these conservation temperatures on the antioxidants contents and activities of this drink. The results obtained indicate that the drink studied is rich in total polyphenols and ascorbic acid, whereas the antioxidants contents relatively low were obtained for the flavonoids. The conservation carried out was accompanied by a slight physicochemical modification and resulted in a significant decrease of all antioxidants contents and activities. However the losses occurring are more important at 35°C, except for the flavonoids which show better retention at this temperature. The losses of concentration recorded after 28 days of retention on 4 and 35°C respectively are of the order of 35% and 32% for polyphenols, 30% and 25% for flavonoids, 13% and 29 % for the ascorbic acid, and 31% and 61% for the carotenoids. Very high positive correlations were observed between the antioxidant activities (ferric reducing power and radical's scavenging activity) and the contents in total polyphenols, flavonoids and ascorbic acid.

Key words: Juice–Milk Beverage, conservation, time/temperature, antioxidants, antiradicalaire activity, ferric reducing power.