

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences Alimentaires
Option : Industrie Laitière



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

MASTER

Thème

**Etude comparative des propriétés antioxydantes de
quelques laits fermentés du commerce**

Présenté par :

TABET Syla Aldja & TAFININE Kenza

Soutenu le : **14 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

Melle TOUATI N.

Melle LOUAILECHE H.

Mme MAMOU F.

MAA

Professeur

MAA

President

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2015 / 2016

Remerciements

Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné courage, santé et patience pour mener à terme ce modeste travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude et nos sincères remerciements au Professeur LOUAILECHE H., pour la qualité de son encadrement, ses conseils pertinents et son savoir-faire. Nous vous remercions également pour le thème que vous nous avez proposé et de nous avoir accueilli dans votre laboratoire de Biochimie Alimentaire.

Nos remerciements vont également à Mademoiselle TOUATI N. pour avoir accepté de présider le jury d'examen de ce mémoire, à Madame MAMOU F. pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Qu'elles trouvent dans ces phrases l'expression de notre profond respect.

Nos remerciements vont également au Docteur BACHIR BEY M. pour ses conseils pertinents et sa régulière disponibilité.

Sans oublier l'aide précieuse de Madame SAADI-AHMED L. Technicienne du laboratoire Biochimie Alimentaire, Mademoiselle BENKEROU F., et Madame ISKOUNEN A.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Chers et merveilleux parents,

Je dédie ce modeste travail

A vous qui m'avez donné la chance d'être ici aujourd'hui en ce vaste monde, vous qui avez été toujours présents à mes côtés, vous qui m'avez soutenu à chaque moment, moralement et financièrement, je ne saurai comment vous remercier pour tous ce que vous avez fait pour moi, j'espère être toujours digne de vos espérances. Je vous dis merci du plus profond de mon cœur.

Je ne pourrai oublier mes deux chers frères Fares & Fateh qui ont été toujours présents pour me soutenir dans chaque moment.

Qu'Allah vous garde.

A mes chères et aimables tantes Karima & Lila pour leurs précieux conseils et régulières présences et mes chers oncles adorés, sans oublier mes très chères et bien aimés cousines qui sont toujours à mes côtés Thanina, Yamina et Yasmine.

A mon merveilleux mari, qui m'a soutenu tout au long de la réalisation de ce travail et qui s'est montré très patient avec moi, sans oublier ma belle-famille.

A tous ce qui me sont cher famille, amis et à l'équipe SA

Samira, Nadjet, Hamza et Brahim.

KENZA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail tout d'abord à mes très chers parents, qui ont su donné un sens à ma vie, toujours derrière moi jusqu'au bout du chemin, je vous remercierai jamais assez pour le nombre de fois où vous m'avez redonné la foi.

A mon adorable grand-mère dont les prières d'un avenir distingué sont mes fidèles louanges.

A mes merveilleux Frères M^d Cherif & Lounis pour leur soutien le long de mon parcours et à leur profonde compréhension.

Enfin à toutes ma famille et à toutes les personnes qui me sont chères, mes amis ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire.

Sylin Aldja

Table des matières

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des Tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

I. Les laits fermentés 2

I.1. Définition 2

I.2. Types des laits fermentés 2

I.2.1. Le yaourt 2

I.2.2. Leben..... 2

I.2.3. Raib 2

I.3. Valeur nutritionnelle du yaourt et du Lben 2

I.4. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques des laits fermentés..... 3

1.4.1.Intérêts nutritionnels 3

1.4.2.Intérêts thérapeutiques..... 4

II. Le stress oxydatif et les radicaux libres 4

II.1. Le stress oxydatif..... 4

II.2. Les radicaux libres..... 4

II.2.1.Définition 4

II.2.2.Origines..... 5

III. Antioxydants des laits fermentés..... 5

III.1. Les peptides 5

III.2. Les composés phénoliques 6

III.3. Les flavonoïdes 7

III.4. La vitamine A..... 7

III.4. La vitamine B₂..... 7

III.5. Les oligo-éléments 7

VI. Stabilité des laits fermentés au cours de stockage..... 8

Matériel & méthodes

I. Echantillonnage 9

II. Evaluation du pH et de l'acidité titrable 9

II.1. pH 9

II.2. Acidité titrable 9

III. Dosage des antioxydants	9
III.1.Préparation des extraits	9
III.2.Composés phénoliques totaux	10
III.2. Flavonoïdes	10
IV. Mesure de l'activité antioxydante	10
IV.1. Activité anti-radicalaire DPPH	10
IV.2. Activité chélatrice du fer	11
IV.3. Pouvoir réducteur	12
V.Analyse statistique	12

Résultats et discussion

I. Caractéristiques physico-chimiques des laits fermentés frais	13
I.1. pH.....	13
I.2. Acidité titrable	13
II. Antioxydants.....	14
II.1. Composés phénoliques	14
II.2. Flavonoïdes.....	15
III. Activités antioxydantes	16
III.1. Activité anti-radicalaire.....	16
III.2. Pouvoir chélateur de fer	17
III.3. Pouvoir réducteur	18
IV. Analyse des corrélations.....	19
V. Effets de la conservation sur les caractéristiques du yaourt.....	20
V.1. pH.....	21
V.2. Antioxydants	21
V.2.1.Composés phénoliques	21
V.2.2.Flavonoïdes	22
V.3. Activités antioxydantes	23
V.3.1.Activité anti-radicalaire	23
V.3.2.Pouvoir chélateur de fer.....	24
V.3.3.Pouvoir réducteur	24
Conclusion.....	26
Références bibliographiques	27
Annexes	

Liste des abréviations

AA : Acide ascorbique

ECA : Enzyme de Conversion de l'Angiotensine

EAA : Equivalent acide ascorbique

EAG : Equivalent acide gallique

EQ : Equivalent quercétine

PF: Produit frais

EAR: Espèces azotées réactives

EOR: Espèces oxygénées réactives

rpm: Rotation par minute

β-Ig : β-Immunoglobuline

Liste des figures

Figure 1: pH des laits fermentés.....	13
Figure 2 : Acidité titrable des laits fermentés.....	14
Figure 3: Teneurs en composés phénoliques des laits fermentés.....	15
Figure 4: Teneur en flavonoïdes des laits fermentés.....	16
Figure 5: Activité anti radicalaire des laits fermentés.....	17
Figure 6: Pouvoir chélateur des laits fermentés.....	18
Figure 7: Pouvoir réducteur des laits fermentés.....	19
Figure 8: Corrélacion entre les teneurs en composés phénoliques et pouvoir réducteur..	19
Figure 9: Corrélacion entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antiradicalaire	20
Figure 10 : Corrélacion entre les teneurs en composés phénoliques et le pouvoir chélateur	20
Figure 11 Evolution du pH des yaourts au cours de la conservation.....	21
Figure 12: Evolution des teneurs en composés phénolique des yaourts au cours de la conservation.....	22
Figure13: Evolution des teneurs en flavonoïdes des yaourts au cours de la conservation	23
Figure 14: Evolution de l'activité antiradicalaire des yaourts au cours de la conservation	24
Figure 15: Evolution du pouvoir chélateur des yaourts au cours de la conservation.....	24
Figure 16: Evolution du pouvoir réducteur des yaourts au cours de la conservation.....	25

Liste des Tableaux

Tableau I : Composition biochimique du yaourt et du Lben.....	3
Tableau II: Libération de peptides bioactifs issus des protéines du lait par divers microorganismes	6

Introduction

L'apparition des laits fermentés remonte à plusieurs millénaires, adoptés par des différentes cultures à travers le monde. Leur histoire est étroitement liée au nomadisme et aux habitudes alimentaires des différentes régions du monde, réputés par leur gout agréable, légèrement acide, ainsi qu'à leur durée de conservation plus longue par rapport au lait.

Les laits fermentés offrent depuis longtemps une grande variété de produits qui est due à la diversité des espèces laitières, des procédés technologiques et du type de ferments utilisés.

En Algérie, les produits les plus répandus sont le yaourt, lben et le raib ; leur large consommation est due à leurs propriétés organoleptiques, nutritionnelles et à leurs effets bénéfiques qui résident dans le maintien de l'équilibre de la flore intestinale jouant ainsi un rôle primordial non seulement dans la digestion, mais aussi dans l'ensemble des fonctions de notre organisme et dans la contribution à un bon état de santé.

D'autre part, les antioxydants ont gagné un intérêt important dans le mécanisme de défense contre les radicaux libres, prévenant ainsi le stress oxydatif qui est responsable de maladies aussi courantes que les maladies cardiovasculaires, les cancers ou encore les affections neurodégénératives (Favier *et al.*, 1994).

Les laits fermentés sont connus depuis toujours comme une source importante de protéines et de calcium. Il s'est avéré qu'ils pourraient également renfermer des antioxydants provenant de diverses origines.

L'objectif de la présente étude consiste en premier lieu à déterminer les propriétés physico-chimiques (pH et Acidité titrable), les teneurs en substances bioactives (composés phénoliques et flavonoïdes) et les activités antioxydantes (activité antiradicalaire, pouvoir chélateur et pouvoir réducteur) des laits fermentés du commerce les plus consommés (yaourt aromatisés, yaourt brassés aux fruits et Lben). En deuxième lieu, l'évolution des paramètres précédemment cités de quatre yaourts étuvés après leur conservation pendant vingt jours.

Synthèse bibliographique

I. Laits fermentés

I.1. Définition

Selon la norme CODEX (CODEX STAN 243-2003), les laits fermentés sont des produits obtenus par fermentation du lait par des microorganismes appropriés qui devraient être vivants, actifs et abondants dans le produit fini à la date minimum de péremption (Codex Alimentarius Commission, 2003).

I.2. Types de laits fermentés

Il existe un grand nombre de laits fermentés qui diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture et leur goût.

I.2.1. Yaourt

D'après le Codex Alimentarius n° A- 11 (a) (1975), le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* (*Lb.bulgaricus*) et de *Streptococcus salivarius* sous-espèce *thermophilus* (*St.thermophilus*) à partir du lait frais ainsi que du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition de substances (lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines lactosériques concentrées ou non, la caséine alimentaire etc). Les micro-organismes du produit fini doivent être viables et abondants.

I.2.2. Lben

C'est un lait fermenté, résultant du développement de certains microorganismes qui dégradent le lactose en acide lactique ou dans certains cas en alcool éthylique ce qui fait de lui un lait acidifié (Veisseyre, 1979).

I.2.3. Raïb

Le Raïb fait partie des produits laitiers fermentés populaires en Algérie, en plus du L'ben. Le Raïb a une très ancienne tradition en Algérie; il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou de chèvre. La fermentation du lait, comme de nombreux procédés traditionnels de fermentation, est spontanée et incontrôlée et pourrait être une source précieuse des bactéries lactiques autochtones (Mechai et Kirane, 2008).

I.3. Valeur nutritionnelle du yaourt et du Lben

La composition biochimique du Lben et du yaourt diffère peu ce qui est montré dans le tableau I.

Tableau I : Composition biochimique du yaourt et du Lben (Favier, 1991).

Composition	yaourt nature (mg/100g)	yaourt aromatisé (mg/100g)	Lben (mg/100g)
Protéines	4,1- 4,5	3,7- 4,1	3,7
Glucides	4 - 6,3	12-16	2,9
Lipides	0,8 -1,4	0,9-1,1	4,9
Sodium	0,04- 0,06	0,52-0,55	0,54
potassium	0,14-0,19	0,188-0,195	0,153
Magnésium	0,009-0,016	0,017	0,106
Phosphore	0,60-0,140	0,105-0,180	0,086
Calcium	0,107-0,150	0,110-0,160	0,112

I.4. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques des laits fermentés

Au début du 20^{ème} siècle, Metchnikoff fut le premier à promouvoir l'idée que la flore microbienne des laits fermentés exerce un effet bénéfique sur la santé de ceux qui en consomme régulièrement (Bourgeois et Larpent, 1996). Ces produits laitiers fermentés ajoutent leurs propriétés propres aux qualités nutritionnelles du lait utilisé (Kasimoglu *et al.*, 2004).

I.4.1. Intérêts nutritionnels

- Les avantages nutritionnels comprennent une amélioration de la digestibilité des protéines et de la matière grasse, suite à la libération des acides aminés et des acides gras par les bactéries lactiques (Feiuet, 1998).
- Les produits laitiers fermentés sont reconnus comme une source importante de protéines digestibles, vitamine A, Ca (67%), fer (6%), cuivre, zinc, magnésium (15-20%) et de phosphore (39%) (Martin, 2003).
- Le dosage du Ca et du Mg solubles dans les laits fermentés montre que quelle que soit la souche bactérienne utilisée, l'augmentation de la solubilité de ces minéraux est observée, donc de leur biodisponibilité. Cette biodisponibilité des sels minéraux, permet une meilleure assimilation du Ca par rapport au lait.
- L'augmentation de la teneur en vitamines hydrosolubles (B₁, B₂, B₆ et acide folique) qui sont synthétisées par les bactéries lactiques (Feiuet, 1998).

1.4.2. Intérêts thérapeutiques

- Les laits fermentés possèdent des propriétés hypocholestérolémiantes qui consistent à la capacité des ferments à dégrader les sels biliaires et par conséquent une diminution du taux de cholestérol (Tenbrink et Huis, 1992).
- La consommation quotidienne et à long terme de laits fermentés par *Lactobacillus helveticus*, diminue de manière significative la pression artérielle des sujets hypertendus (Tenbrink et Huis, 1992)
- Les laits fermentés modifient la flore intestinale de l'hôte, en diminuant le taux de germes indésirables (*Escherichia coli*) (Chambre et Daurelles, 1997).
- Stimulation des défenses immunitaires à plusieurs niveaux. Une amélioration de la longévité, de la croissance chez ceux qui reçoivent un régime enrichi en laits fermentés (Nakamura *et al.*, 1995).
- Les laits fermentés réduisent la durée des diarrhées aiguës chez les nourrissons (Hang *et al.*, 2004).
- Amélioration de la digestion du lactose chez les sujets déficients en β -galactosidase intestinale, il est démontré que cet effet est dû à l'apport de β -galactosidase exogène produite par les bactéries lactiques des laits fermentés (Mainville et Acrand, 2004).

II. Le stress oxydatif et radicaux libres

II.1. Le stress oxydatif

C'est le déséquilibre entre les radicaux libres et les défenses antioxydantes ayant pour conséquence la dégradation des composants cellulaires (lipides, protéines, glucides, ADN) (Delattre *et al.*, 2005).

II.2. Les radicaux libres

II.2.1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. Dans les phénomènes de stress oxydant prenant place dans les milieux biologiques, les radicaux libres qui interviennent, partagent pour caractéristique celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène ou d'azote. Ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives de l'oxygène (EOR ou ROS) ou de l'azote (EAR ou RNS) (Favier, 1994).

II.2.2.Origines

Dans le milieu intracellulaire les radicaux libres sont produits essentiellement par des enzymes, on cite la NADPH oxydase membranaire et le complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire (Favier, 1994).

D'autre part le milieu extracellulaire et le mode de vie sont également responsables de la genèse et de l'accumulation des radicaux libres par le biais de divers facteurs comme l'alimentation raffinée, riche en graisse saturée ainsi que la consommation d'alcool, mais aussi par les facteurs environnementaux (les agents cancérigènes, les rayons UV, la pollution) (Sumaya-Martinez, 2004).

III. Les antioxydants des laits fermentés

Ce sont principalement soit des vitamines et oligo-éléments soit des non-nutriments comme les flavonoïdes et autres polyphénols (Néve, 2002) et sont également définis comme des molécules ou micro-constituants capables d'interférer avec les radicaux libres (Valko *et al.*, 2006).

III.1. Les peptides

En plus de leurs valeurs nutritionnelles élevées, les protéines du lait sont à l'origine de peptides à activité biologique (peptides bioactifs). Une fois libérés par hydrolyse enzymatique, ces peptides sont susceptibles de moduler des fonctions-clés de l'organisme par action sur le système immunitaire, cardiovasculaire, digestif et nerveux avec diverse activités (anti-hypertensive, anti-thrombotique, immunomodulatrice, et antioxydante) (Léonil, 2014).

En effet des études ont démontré que des peptides issus de la caséine- α_s et de la caséine κ (f 96-106) exercent une activité anti-radicalaire (Suetsuna *et al.*, 2000), chélatrice des ions métalliques ($\text{Fe}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$) et inhibitrice de la peroxydation lipidique. (Rival *et al.*, 2001; Zou *et al.*, 2016).

Divers peptides bioactifs peuvent être synthétisés à partir du lait et ses dérivés par différents microorganismes ce qui est illustré dans le tableau II.

Tableau II: Libération de peptides bioactifs issus des protéines du lait par divers microorganismes.

Substrat	Microorganismes utilisés	Protéine précurseur	Séquence peptidique	Bioactivité	Références
Lait	<i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	κ- caséine β-caséine	Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro	Inhibiteur EAC, Antihypertensive	Takano (2002). Nakamura <i>et al.</i> (1995).
	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus SSI</i> <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris FT4</i>	κ- caséine β-caséine	plusieurs séquences	Inhibiteur EAC,	Gobbetti <i>et al.</i> (2000)
	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus IFO13953</i>	κ- caséine	Ala-Arg-His-Pro-His-Pro-His-Leu-Ser-Phe-Met	Antioxydante	Kudoh <i>et al.</i> (2002)
		β-caséine κ- caséine			
	<i>Lactobacillus gg</i>	αs1-caséine	ND	immunomodulatrice	Sütas <i>et al.</i> (1996)
Lactosérum	<i>Kluyveromyces marxianus var. marxianus</i>	β-Ig	Tyr-Leu-Leu-Phe	Inhibiteur EAC	Belem <i>et al.</i> (1999)

III.2. Composés phénoliques

Les composés phénoliques (8000) composés connus, représentent un groupe de métabolites secondaires complexes, exclusivement synthétisés dans le règne végétal. (Collin *et al.*, 2011). Le terme phénolique est utilisé pour définir des substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur un cycle aromatique. Ce nom provient du composé parent le plus simple : le phénol. Ces composés sont connus pour leurs propriétés antioxydantes en réagissant avec les espèces réactives de l'oxygène (anion superoxyde O₂⁻, radical hydroxyle OH) pour produire des radicaux phénoxy stables. Ils peuvent également agir comme antioxydants en complexant les ions métalliques (Buggey, 2001).

III.3 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes représentant une large gamme de composés naturels. Ils sont responsables de la couleur des fleurs et des fruits (Pietta, 2000).

Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres et essentiels à l'inhibition de la peroxydation lipidique et à la chélation des métaux de transition redox-actifs (Temple, 2000).

III.4. Vitamine A

La vitamine A existe sous deux formes : la vitamine A proprement dite et les caroténoïdes qui sont des pigments orangés qui se transforment en vitamine dans l'organisme. Ces deux formes sont de précieux antioxydants qui réagissent avec l'oxygène singulet (1O_2) et sont d'excellents piègeurs de radicaux peroxy (RO_2^{\cdot}) et alkyles (R^{\cdot}) issus de l'oxydation des lipides (Kinsky *et al.*, 1989).

D'autres rôles lui sont également attribués tels que la différenciation cellulaire, l'expression du génome, la croissance et le développement mais aussi sa contribution à la vision (The reader's digest association, 2000).

Parmi les principales sources alimentaires de vitamine A préformée nous citons le lait entier et enrichi (Néve, 2002).

III.4. Vitamine B₂

C'est une vitamine hydrosoluble, sensible à la lumière, essentielle à la production des hormones thyroïdiennes, aide également l'organisme à produire des cellules immunitaires pour lutter contre l'infection. Les laits fermentés s'avèrent d'excellentes sources en cette vitamine. Elle stimule l'activité des antioxydants en outre, celle de la vitamine E et protège ainsi les cellules des dégâts provoqués par les radicaux libres (The reader's digest association, 2000).

III.5. Oligo-éléments

Selon Kim *et al.* (1999), les oligo-éléments (le zinc, sélénium, manganèse et autres) jouent un rôle de cofacteur métallique dans de nombreuses réactions enzymatiques et ils réagissent de façon directe avec les ROS. Ils protègent les protéines et peuvent stopper l'oxydation des lipides par l'acide ascorbique. Cependant à fortes concentrations, les oligo-éléments ont un rôle pro-oxydant.

Tout déficit en ces oligo-éléments ainsi que la vitamine B₂ induit l'inactivation des enzymes antioxydants endogènes telles que la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion oxydase (Gaté *et al.*, 1999).

VI. Stabilité des laits fermentés durant le stockage

Préparés selon des conditions hygiéniques rigoureuses, les laits fermentés et plus précisément les yaourts peuvent se conservés environ trois semaine jusqu'à la vente au consommateur sous réserve d'être maintenus au froid entre 4 à 8°C.

Si le maintien des laits fermentés au froid inhibe la multiplication bactérienne, il n'arrête pas complètement leurs activités métaboliques, bien que lente la production de l'acide lactique continue, les enzymes hydrolysent les protéines avec comme conséquence la diminution de la fermeté et de la viscosité ainsi que l'apparition de peptides responsable de l'amertume.

Résultats & discussion

I. Echantillonnage

Notre travail concerne l'analyse de 10 échantillons aléatoirement choisis suivant un plan d'échantillonnage à trois unités: quatre yaourts étuvés, deux yaourts brassés et Lben).

Quatre types de yaourts étuvés sont conservés au réfrigérateur pendant 20 jours dans le but d'évaluer leurs paramètres physico-chimiques, leurs teneurs en substances bioactives et leurs activités antioxydantes.

II. Evaluation des paramètres physico-chimiques

II.1. pH

Le pH est directement mesuré à 20°C à l'aide d'un pH mètre.

II.2. Acidité titrable

○ Principe

La mesure de l'acidité titrable, exprimée en degré Dornic (°D) est la quantité d'acide lactique contenue dans un litre de lait fermenté. Son principe se base sur un titrage potentiométrique à l'aide d'une solution normalisée d'hydroxyde de sodium N/9, jusqu'au virage de la couleur vers le rose pâle après ajout de l'indicateur coloré.

○ Mode opératoire

Dans un erlenmeyer, on introduit 10g d'échantillon avec 3 à 4 gouttes de phénolphthaléine à 0,1%, puis on titre avec l'hydroxyde de sodium N/9 (AFNOR, 1985).

L'acidité est exprimée comme suit :

$$\text{Acidité (°D)} = V.10$$

V : est le volume de la chute de burette en ml.

III. Dosage des antioxydants

III.1. Préparation des extraits

La préparation des extraits consiste à mélanger 1g d'échantillon avec 15 ml d'eau distillée, après 15 minutes d'agitation le mélange est centrifugé à 2500 rpm pendant 10 minutes puis filtré sur papier filtre.

III.2. Composés phénoliques totaux

○ Principe

La réaction se base sur le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de coloration jaune. Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 760 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits.

○ Mode opératoire

La teneur en composés phénoliques totaux est dosée selon la méthode de Rababah *et al.* (2011) ; 200µl d'extrait sont mélangés avec 700µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 5 minute le mélange est additionné de 800µl de carbonate de sodium à 7,5% puis incubé 30 minutes à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 730nm. La teneur en composés phénoliques est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100g de produit frais par référence à la courbe d'étalonnage (Figure 1, Annexe I).

III.2. Flavonoïdes

○ Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement OH libre qui leur permet de chélater les cations Al^{3+} du chlorure d'aluminium. La formation de ce complexe induit une coloration jaune dont l'intensité est proportionnelle à la teneur de flavonoïdes présents dans l'extrait.

○ Mode opératoire

Deux volumes égaux de l'extrait et du réactif de chlorure d'aluminium à 2% dissout dans le méthanol sont mélangés puis incubé à l'obscurité et à la température ambiante pendant 15minutes. L'absorbance est mesurée à 410nm (Djeridane *et al.*, 2006).

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par 100g de produit frais par référence à la courbe d'étalonnage (Figure 2, Annexe 1).

IV. Mesure de l'activité antioxydante

IV.1. Activité anti-radicalaire

○ Principe

L'activité antiradicalaire est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH) par don d'atomes d'hydrogène ou d'électrons (Molyneux, 2004).

Le DPPH est un radical stable qui présente en solution une absorption caractéristique à 517nm, et une coloration violette qui disparaît rapidement lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux libres (Hennebelle, 2006).

○ **Mode opératoire**

L'activité anti-radicalaire des extraits est déterminée en utilisant la méthode décrite par Brand-Williams *et al.* (1995). 1ml de DPPH méthanolique (60mM) est additionné à 100µl d'extrait, après 30 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 517nm.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, par rapport à un témoin ne contenant que le solvant d'extraction selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition DPPH} = (\text{Abs}_t - \text{Abs}_e / \text{Abs}_t) * 100$$

Abs t: absorbance du témoin contenant l'eau distillée.

Abs e : absorbance de la solution contenant l'échantillon.

IV.2. Activité chélatrice du fer

○ **Principe**

La capacité chélatrice des extraits est mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe ion ferreux avec un composé ligand : 3-(2-pyridyl)-5, 6-diphényl-1, 2, 4 triazine-4',4''-disulfonate de sodium (ferrozine) de couleur violette qui présente un maximum d'absorption à 562 nm.

○ **Mode opératoire**

Le pouvoir chélateur des extraits est déterminé selon la méthode décrite par Decker et Welch (1990). Un volume de 250 µl d'extrait est additionné de 25 µl de FeCl₂ (2mM) et 800 µl d'eau distillée. Après 5 minutes, 50 µl de ferrozine (5mM) sont ajoutées au mélange. L'absorbance est mesurée à 562 nm après 5 min de réaction. Les résultats sont exprimés en pourcentage, selon la formule suivante :

$$\% \text{ chélation du Fer} = (\text{Abs}_t - \text{Abs}_e / \text{Abs}_t) * 100$$

Abs t: absorbance du témoin contenant l'eau distillée.

Abs e : absorbance de la solution contenant l'échantillon.

IV.3. Pouvoir réducteur

○ Principe

Le pouvoir réducteur se base sur la réaction d'oxydoréduction d'où un composé dit antioxydant permet de donner un électron et/ou un atome d'hydrogène (Dorman *et al.*, 2003).

Le pouvoir réducteur est un test qui mesure la capacité des extraits à réduire le chlorure ferrique (FeCl_3) en chlorure ferreux (FeCl_2) en présence d'un agent chromogène : le ferricyanure de potassium en milieu acidifié par l'acide trichloracétique (Ribeiro *et al.*, 2008).

○ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (1986). Un volume de 1ml d'extrait est ajouté à 2,5 ml de tampon phosphate (pH 6,6 ; 0,2M), suivit de 2,5ml de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1%. Après agitation le mélange est soumis à l'incubation à 50°C au bain marie pendant 30 min. 2,5ml d'acide trichloracétique à 10% sont additionnés au mélange qui est centrifugé à 1700 rpm pendant 10min. Un volume de 2,5ml d'eau distillée est ajouté à 2,5ml du surnageant, puis 0,5ml de chlorure ferrique 0,1% est ajouté au mélange. Après agitation, l'absorbance est lue à 700nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par 100g de produit frais par référence à la courbe d'étalonnage (Figure 3, Annexe 1).

V. Analyse statistique

Une analyse descriptive (moyennes et écarts types) des résultats de trois essais a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2007.

La comparaison des moyennes des résultats est faite par une analyse de la variance (ANOVA/MANOVA, Test LSD, Least Significant Difference) en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 et le niveau de signification est pris à $p < 0,05$. La comparaison des données des yaourts conservés est effectuée avec le test de Student à un niveau de signification de 0,05. L'étude des corrélations est réalisée à l'aide de Microsoft office Excel.

Résultats & discussion

I. Caractéristiques physico-chimiques des laits fermentés frais

I.1. pH

Le pH est un paramètre important qui renseigne sur l'activité métabolique de la microflore et qui détermine la durée de fermentation (Ould El Hadj *et al.*, 2001). Certaines normes imposent un pH inférieur à 4,6 pour le yaourt.

La figure 1 représente les valeurs de pH obtenues, la plus élevée est notée pour l'échantillon M citron R avec 4,5 alors qu'elle est moins élevée pour le yaourt citron S avec un pH de 4. Ces différences peuvent être attribuées au type de yaourt car le premier est étuvé et que le deuxième est brassé.

Les résultats de la présente étude sont proches de ceux obtenus par Najgebauer-Lejko *et al.* (2011) et Vijayalakshmi *et al.* (2014) pour deux types de yaourts à base de thé et d'épices respectivement.

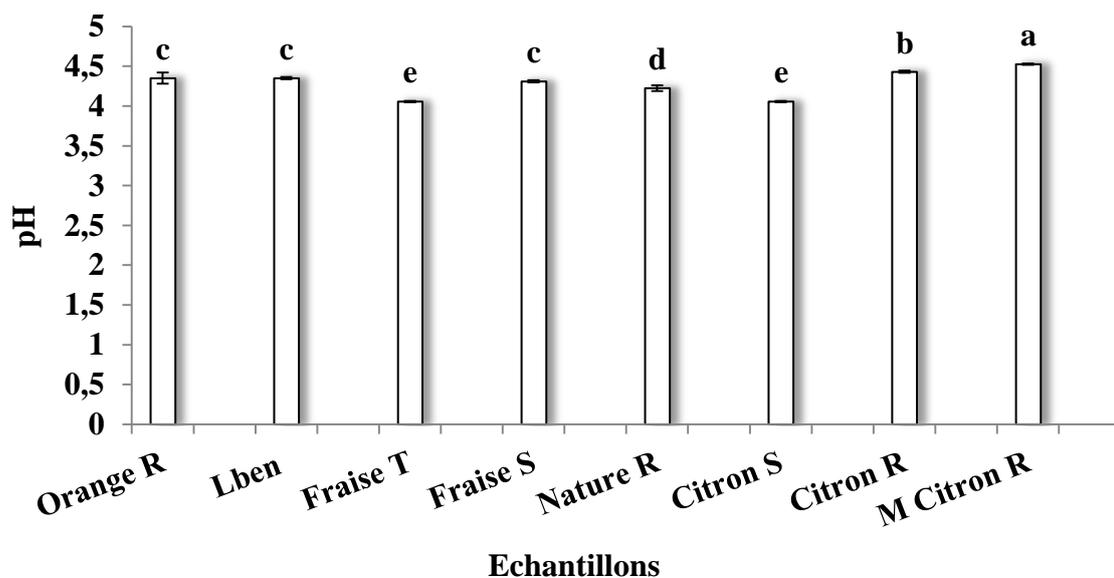


Figure 1: pH des laits fermentés.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b > c > d > e$.

I.2. Acidité titrable

L'acidité des laits fermentés correspond à l'ensemble des acides organiques dont l'acide lactique est le majoritaire. Ce dernier provient de la fermentation lactique. Selon la norme FAO/OMS (1985), l'acidité titrable des yaourts étuvés est comprise entre 75 à 100 °D. Pour les yaourts brassés elle est de 100 à 120°D et elle est comprise entre 65 à 85°D pour Lben.

L'acidité titrable des yaourts étuvés analysés est comprise entre 101,5 et 119°D. L'acidité la plus élevée est attribuée au yaourt aromatisé Nature S, par contre la moins élevée est celle du Lben.

Les analyses révèlent des différences significatives entre l'ensemble des échantillons. Nous observons des variations d'acidité au sein d'un même type d'échantillon (Citron R ; M Citron R) l'acidité est respectivement 119 ; 104,5°D produit dans deux industries différentes. Cela pourrait être dû au type de souches de bactéries lactiques utilisées, ou à la rupture de la chaîne du froid.

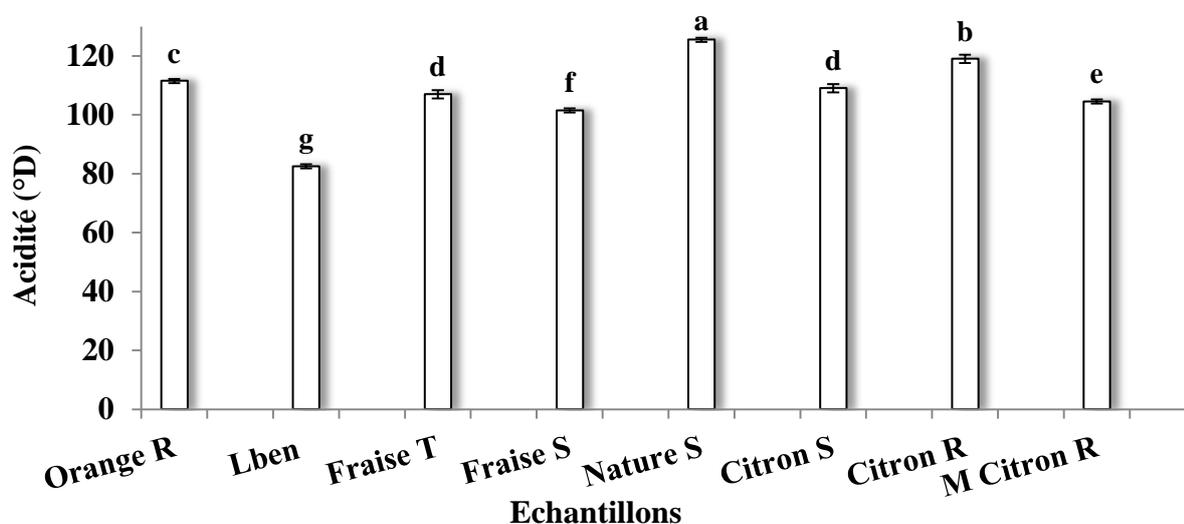


Figure 2 : Acidité titrable des laits fermentés.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b > c > d > e > f > g$.

II. Antioxydants

II.1. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes. Ces polyphénols sont dotés d'un fort pouvoir antioxydant: pouvoir antiradicalaire, chélateur des métaux, donateur d'électrons et d'hydrogène et préviennent aussi la peroxydation des lipides (Williamson et Manach, 2005)

La figure 3 montre les teneurs en composés phénoliques obtenues pour les différents laits fermentés analysés. Des différences non significatives sont notées pour deux échantillons (Fraise S et Citron R) avec des teneurs maximales respectives de 10 et 11mg EAG/100g PF alors que pour les échantillons Lben et le yaourt Fraise T nous notons des valeurs minimales

de 5 et 5,5 mg EAG/100g PF non significativement différentes aussi. La teneur en composés phénoliques présente dans les échantillons analysés est attribuée à leur présence dans le lait dont la majorité dérive de l'alimentation animale (Besle *et al.*, 2010) ainsi que d'autres substances comme des protéines laitières. Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Chouchouli *et al.* (2013) pour le yaourt.

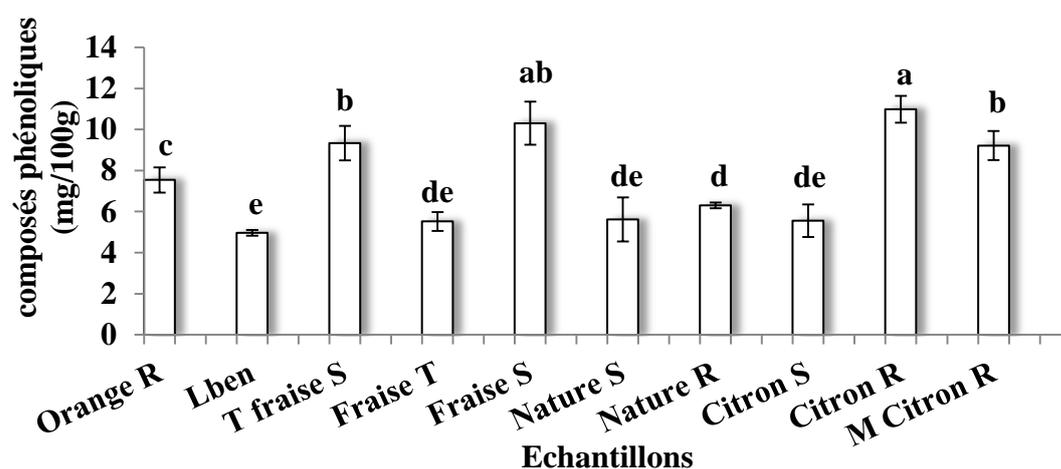


Figure 3 : Teneurs en composés phénoliques des laits fermentés.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b > c > d > e$.

II.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont considérés comme des micronutriments importants puisqu'ils peuvent jouer des rôles antioxydants ou posséder des propriétés biologiques diverses (Milane, 2004). L'activité antioxydante des flavonoïdes est principalement due à leur propriété oxydo-réductrice, qui leur permet d'agir comme des agents donneurs d'électrons et de protons, chélateurs de métaux et piègeurs de l'oxygène singulet (Rice-Evans *et al.*, 1995).

La figure 4 montre des différences significatives entre les échantillons, la teneur en flavonoïdes varie de 0,3 à 2,99 mg équivalent de quercétine /100g PF, nous notons des teneurs plus importantes en flavonoïdes au niveau des yaourts aromatisés, cela peut être attribué à la présence des arômes.

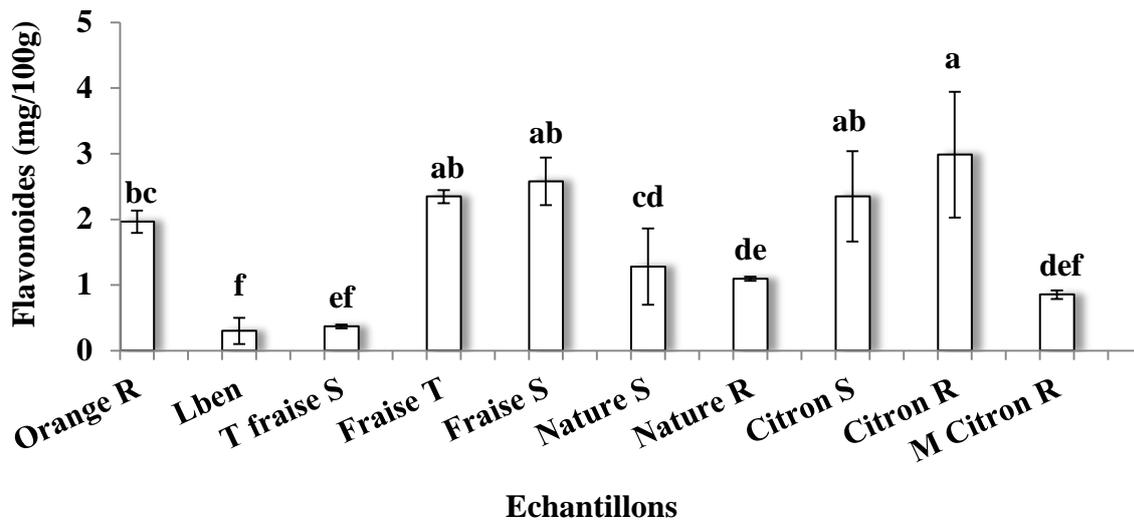


Figure 4 : Teneur en flavonoïdes des laits fermentés.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b > c > d > e > f$

III. Activités antioxydantes

III.1. Activité anti-radicalaire

Le pouvoir anti-radicalaire est très utilisé pour évaluer l'activité antioxydante dans les aliments et dans les systèmes biologiques. Le radical DPPH est réduit en présence d'antioxydants qui lui transfèrent des électrons ou des protons (Popovici *et al.*, 2009).

Les résultats de l'analyse statistique représentés par la figure 5, montrent des différences significatives concernant l'activité anti-radicalaire des échantillons. L'activité antiradicalaire est nulle dans le yaourt Citron S tandis qu'elle est maximale pour lben (6,40%). Cette activité peut être attribuée aux peptides bioactifs à propriétés antioxydantes. En effet des études ont démontré que des peptides issus de la caséine- α_s et de la caséine κ (f 96-106) exercent une activité antiradicalaire (Suetsuna *et al.*, 2000).

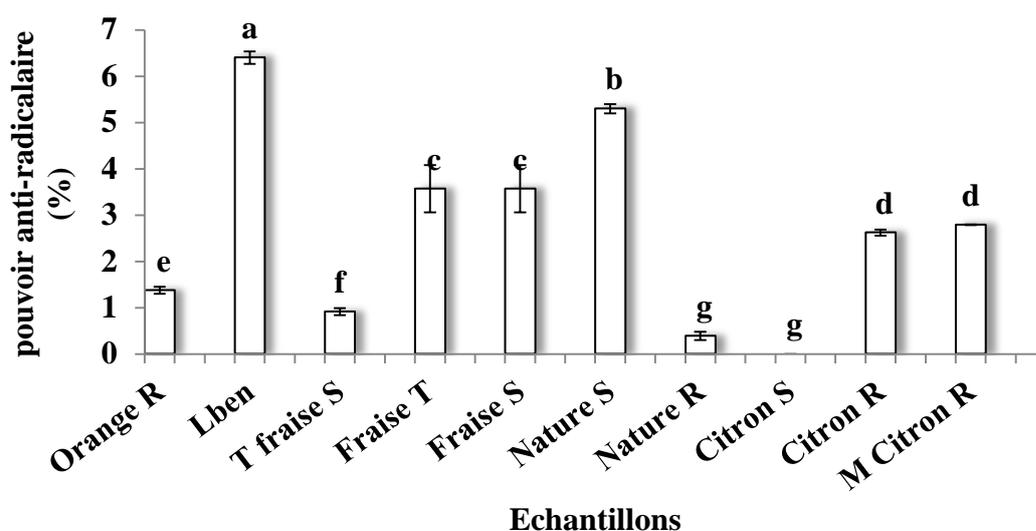


Figure 5: Activité antiradicalaire des laits fermentés.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b > c > d > e > f > g$.

III.2. Pouvoir chélateur du fer

Le fer est un élément essentiel à la vie, car il est nécessaire pour le transport de l'oxygène, la respiration, et l'activité de nombreuses enzymes. Cependant, il peut fonctionner comme un catalyseur pour la production des espèces réactives de l'oxygène dans des conditions pathologiques. La forme réduite du fer provoque une toxicité à l'oxygène, par la réaction de Fenton, qui convertie le peroxyde d'hydrogène qui est peu réactif en espèces oxygénées très réactives ; le radical hydroxyle et l'ion ferryl. De ce fait, minimiser la concentration en Fe^{2+} lors de la réaction de Fenton réduit les dommages oxydatifs (Karadag *et al.*, 2009).

D'après la figure 6, nous notons des différences significatives entre les échantillons analysés, l'activité chélatrice est maximale dans le yaourt aromatisé Fraise S (89,5), tandis qu'elle est nulle dans Lben. Ces variations sont peut-être liées directement à la teneur en composés phénoliques de ces échantillons, ou à leur richesse ou non en protéines sériques lesquelles selon Meucci *et al.* (1991) exerceraient un pouvoir chélateur de fer par le biais de peptides bioactifs ou par quelques acides aminés. En comparant les résultats de la présente étude à ceux obtenus par Unal et Akalin (2012) nous constatons qu'ils sont pratiquement similaires.

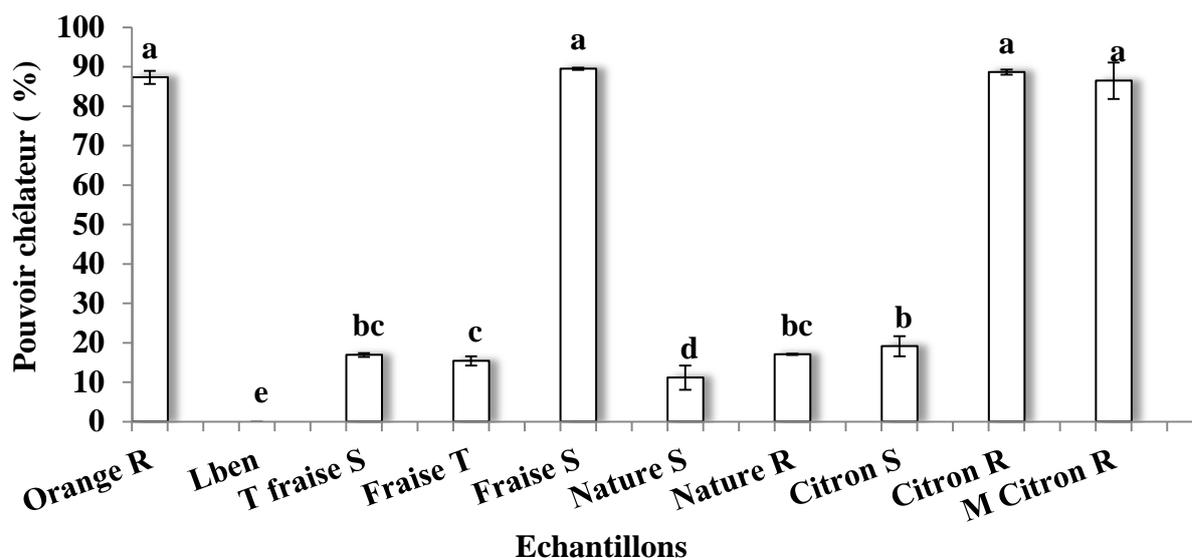


Figure 6 : Pouvoir chélateur des laits fermentés.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b > c > d > e > f > g$.

III.3. Pouvoir réducteur

Cette méthode est connue par l'aptitude des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), mécanisme connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante des polyphénols (Yildirim *et al.*, 2001).

La figure 7 montre le pouvoir réducteur des différents échantillons. Les yaourts aromatisés (orange R, citron R et M citron R) ne présentent pas de différences significatives avec des valeurs respectives de 16,3, 17,2 et 18,8 mg équivalent d'acide ascorbique par 100g de produit frais. Pour ce qui est du lben une teneur minimale de 1,05 mg EAA/100g PF est notée. Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Chouchouli *et al.* (2013).

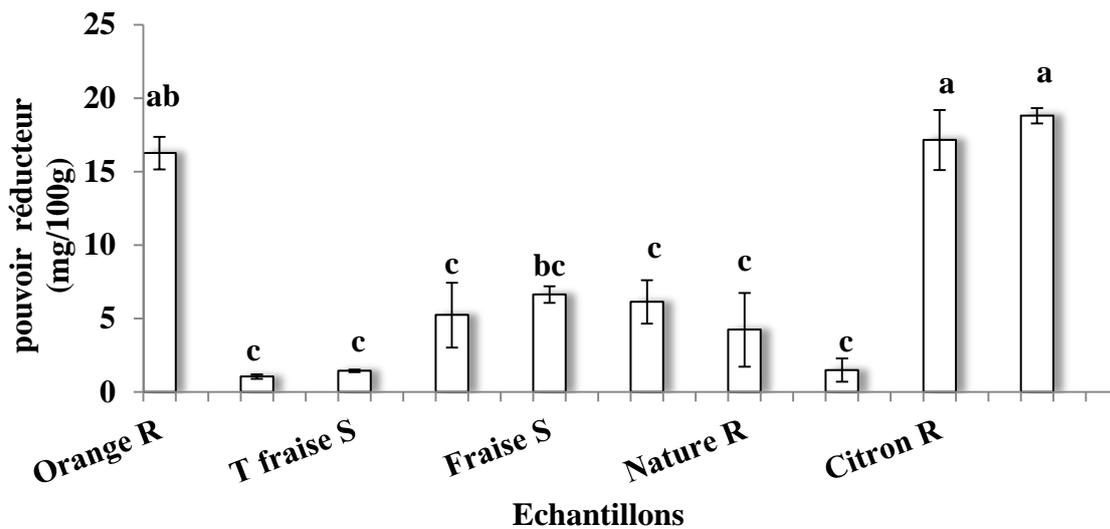


Figure 7 : Pouvoir réducteur des laits fermentés.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b > c$.

IV. Analyse des corrélations:

Les corrélations ont été réalisées avec le logiciel Microsoft Excel 2007.

Aucune corrélation n'est constatée entre les composés phénoliques et le pouvoir antiradicalaire ($r = 0,045$). Les composés phénoliques sont faiblement corrélées avec le pouvoir réducteur ($r = 0,3178$). Le pouvoir chélateur présente une meilleure corrélation avec les composés phénoliques ($r = 0,6178$).

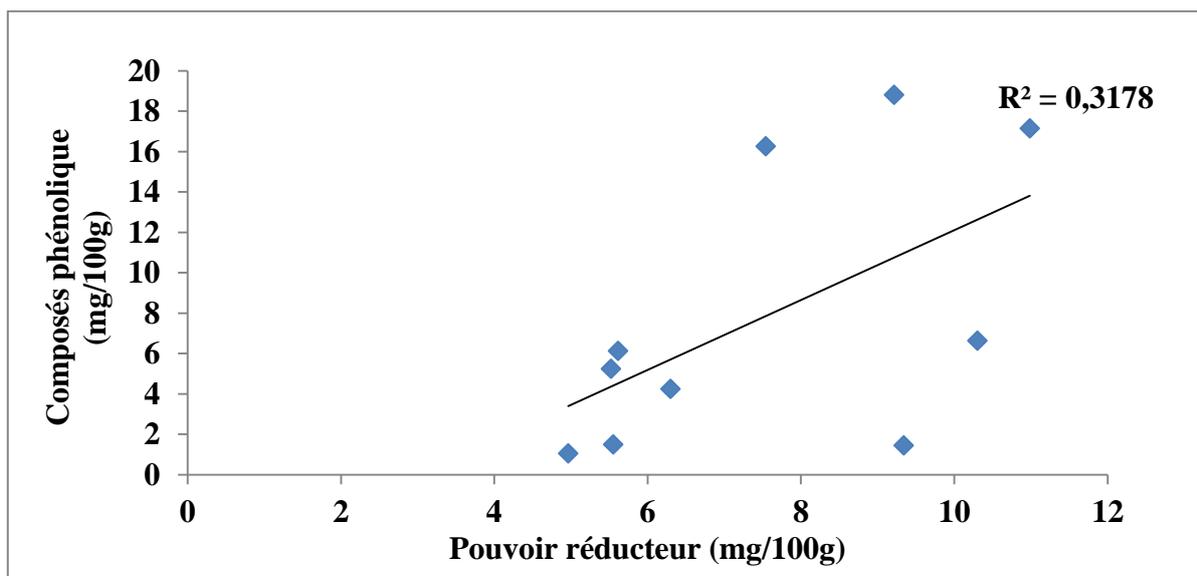


Figure 8 : Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et le pouvoir réducteur.

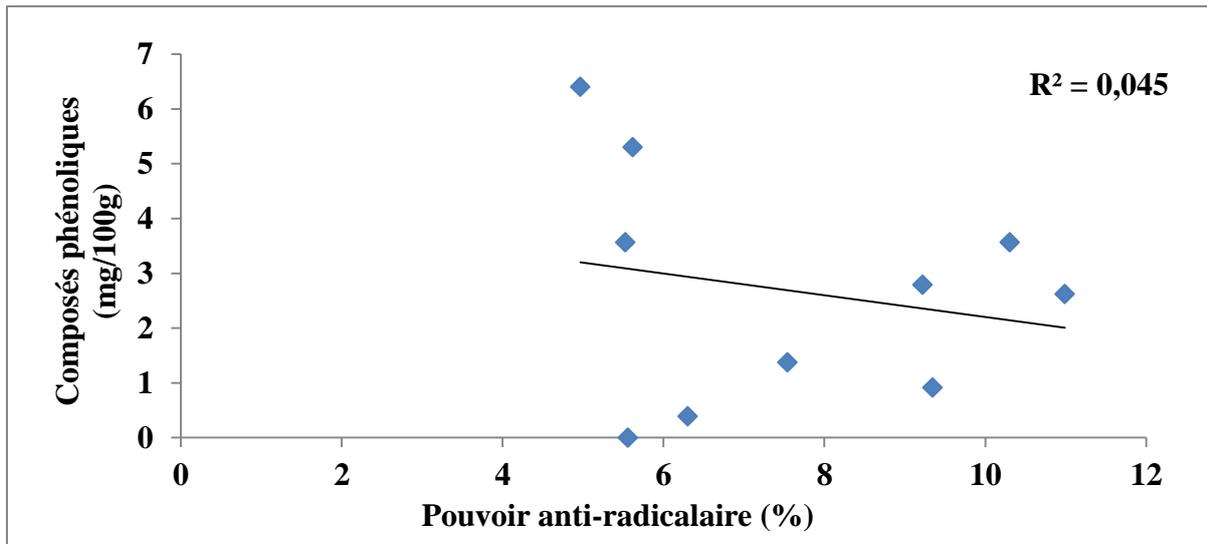


Figure 9 : Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et le pouvoir anti-radicalaire.

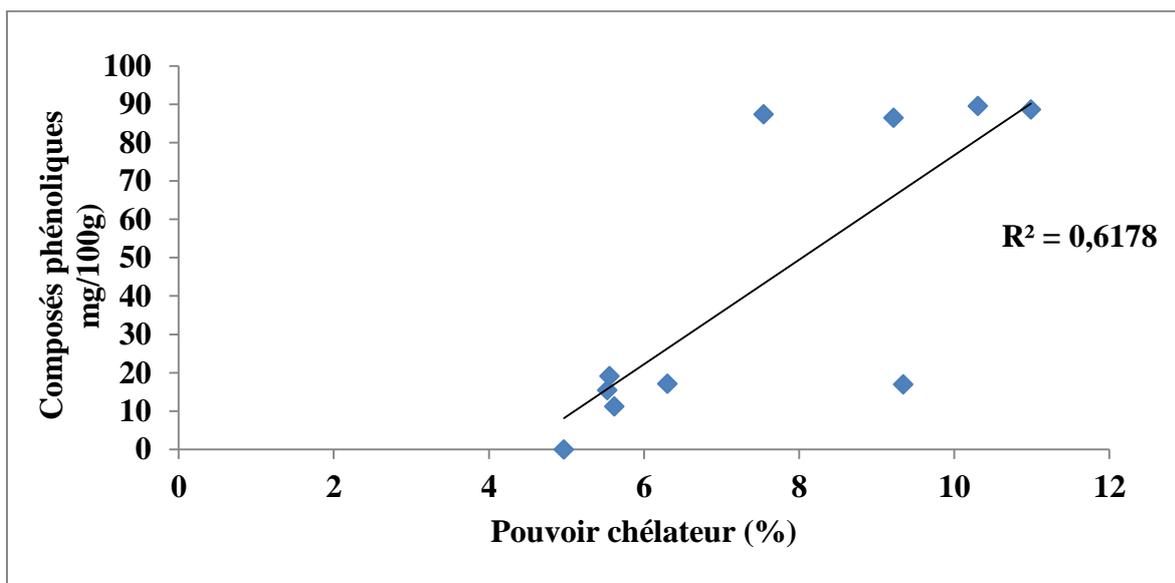


Figure 10 : Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et le pouvoir chélateur.

V. Effets de la conservation sur les caractéristiques des yaourts

Parmi les dix échantillons analysés, quatre yaourts ont été conservés au réfrigérateur ; l'évolution du pH ainsi que des teneurs en antioxydants et des activités antioxydantes ont été analysées après 20 jours de stockage.

V.1. pH

La figure 11 présente l'évolution du pH au cours de la conservation. Nous remarquons une diminution significative des échantillons durant le stockage, nous notons une valeur de pH minimal de 3,8 pour le yaourt Nature, tandis qu'elle est de 4 pour le yaourt aromatisé Orange.

Selon Kailasapathy (2006), la post-acidification est due à la β -galactosidase encore active à basse température (0-5°C). D'autres auteurs supposent que la baisse du pH durant le stockage peut être attribuée aux enzymes résiduels produits par les ferments lors de la fermentation (Christopher *et al.*, 2009). Les résultats obtenus par Yilmaz-Ersan et Kurdal (2014) lors de la conservation du yaourt sont à T₁ et à T₂₀ respectivement de 4,45 et 4,16, tandis que Parmjit *et al.* (2011) ont obtenu des pH de 4,04 et 3,91.

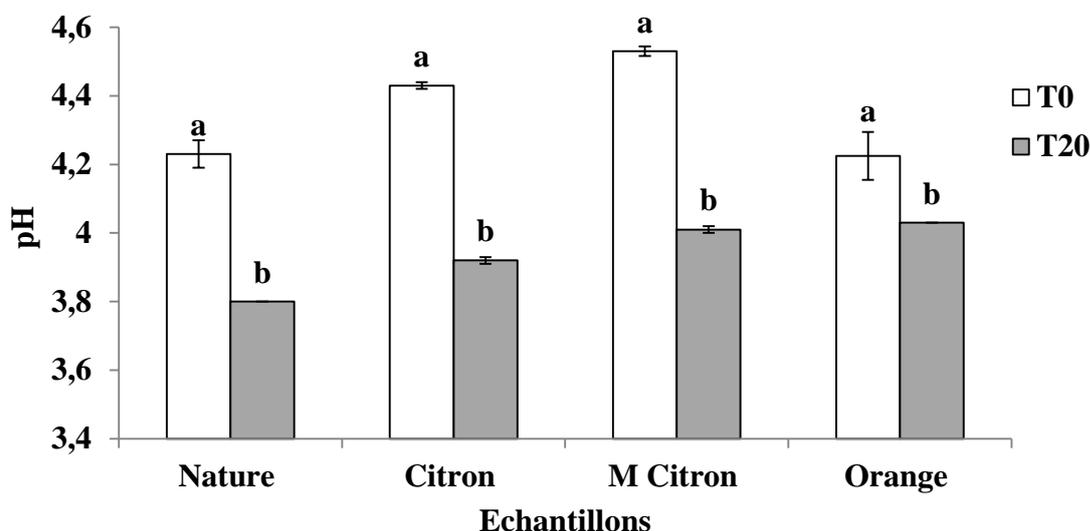


Figure 11 : Evolution du pH des yaourts au cours de la conservation.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b$.

V.2. Antioxydants

V.2.1. Composés phénoliques

Les polyphénols sont connus pour leurs affinités pour les protéines, ce qui induit la formation de complexes polyphénols/protéines solubles ou insolubles (Rawel *et al.*, 2001). Ces interactions prennent place particulièrement avec les protéines riches en proline telle que la caséine (Luck *et al.*, 1994). Nous supposons donc que si la protéolyse continue au cours

de la conservation, il y aurait libération d'acides aminés spécialement la proline, ce dernier se complexe avec les composés phénoliques et explique ainsi la diminution de leurs teneurs.

La figure 12 représente les teneurs en composés phénoliques de yaourts. Tous les échantillons sont significativement différents tandis que le yaourt Nature ne présente aucune différence significative.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenu par Chouchouli *et al.* (2013) pour un yaourt entier à 21 jours de conservation (6,23 mg EAG/100g PF).

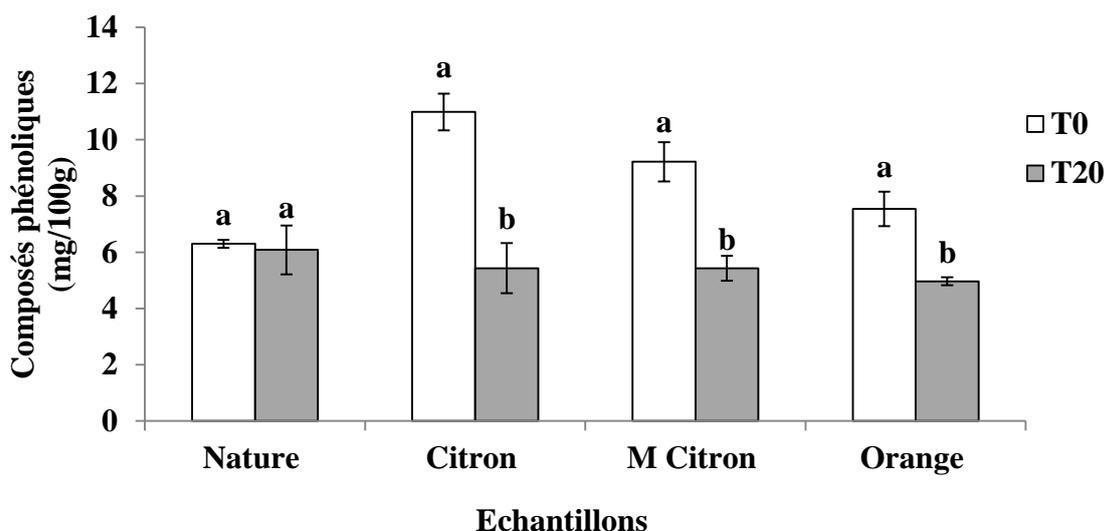


Figure 12 : Evolution des teneurs en composés phénolique des yaourts au cours de la conservation.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b$.

V.2.2 Flavonoïdes

Les résultats de l'analyse statistique montrent des différences significatives durant la conservation pour la plus part des échantillons ; en effet, la différence des teneurs en flavonoïdes se situe pour le yaourt aromatisé Orange, le yaourt aromatisé Citron et le yaourt aromatisé M Citron, pour le yaourt Nature aucune différence significative n'est affichée.

La diminution de la teneur en flavonoïdes peut être due à leur dégradation au cours de la conservation (Del Caro *et al.*, 2004) comme elle peut être attribuée à leurs liaisons avec des oses tel que le galactose.

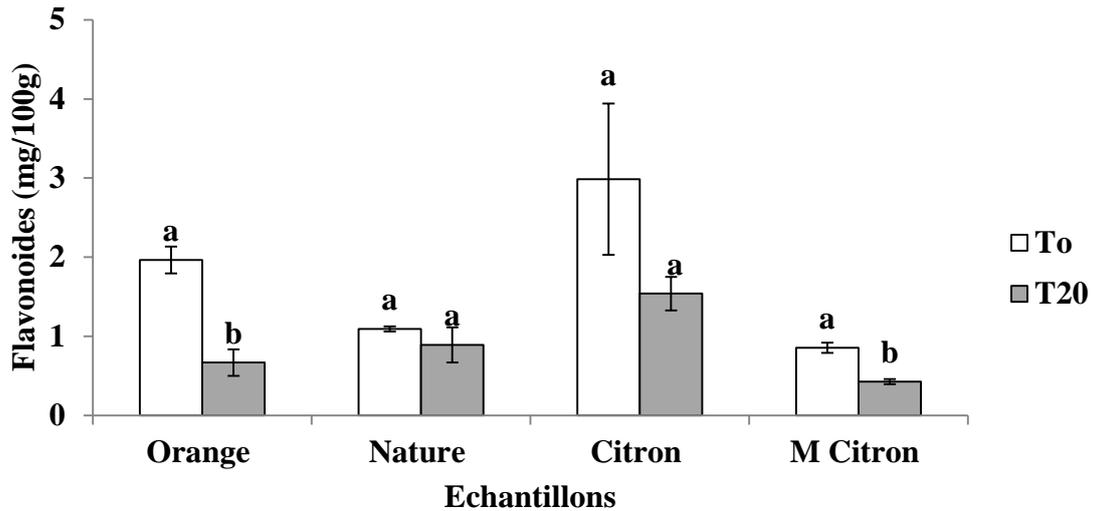


Figure 13 : Evolution des teneurs en flavonoïdes des yaourts au cours de la conservation. Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b$.

V.3. Activités antioxydantes

V.3.1. Activité anti-radicalaire

L'étude statistique montre une augmentation de l'activité anti-radicalaire après conservation des échantillons ; nous notons des différences significatives de trois yaourts (Nature, Citron et Orange) contrairement au yaourt M Citron aucune différence n'est constatée.

L'augmentation de l'activité anti-radicalaire peut être attribuée à l'élévation de la teneur des peptides bioactifs due à la protéolyse au cours de la conservation.

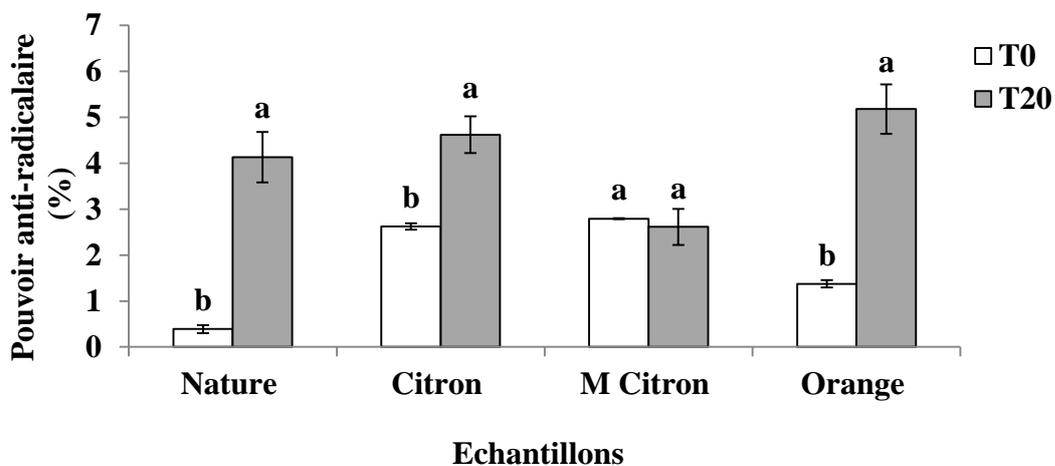


Figure 14 : Evolution de l'activité antiradicalaire des yaourts au cours de la conservation.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b$.

V.3.2. Pouvoir chélateur du fer

Les résultats de l'analyse statistique montrent des différences significatives entre l'ensemble des échantillons analysés ; nous constatons une réduction du pouvoir chélateur après 20 jours de conservation, cette diminution peut être attribuée à la réduction de la teneur en polyphénols.

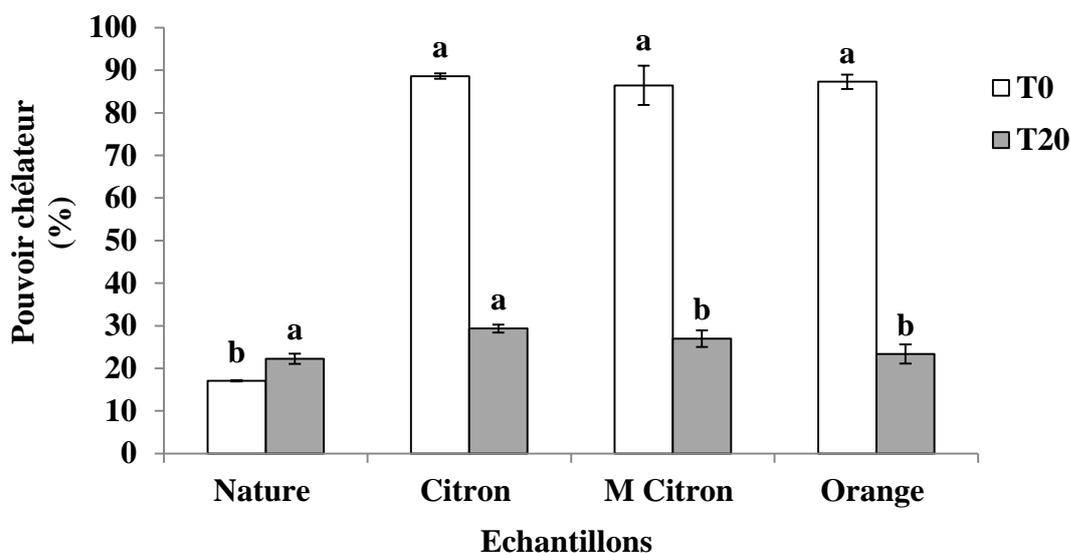


Figure 15 : Evolution du pouvoir chélateur des yaourts au cours de la conservation.

Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b$.

V.3.3. Pouvoir réducteur

Les résultats du pouvoir réducteur sont rapportés dans la figure 14. Des différences significatives ont été notées pour tous les échantillons à l'exception du yaourt Nature, qui au début de la conservation présentait une valeur de 4,2 mg EAA/100g PF puis diminuait jusqu'à une valeur de 1,3 mg EAA/100g PF. Concernant les autres échantillons, aucune activité n'est observée après vingt jours de stockage. Ces variations peuvent être liées aux différences des échantillons quant à leur teneur en composés phénoliques. D'ailleurs le yaourt Nature présente une stabilité dans les composés phénoliques après conservation, cette stabilité est également notée dans son pouvoir réducteur.

Les résultats de la présente étude sont inférieurs à ceux obtenus par Chouchouli *et al.* (2013).

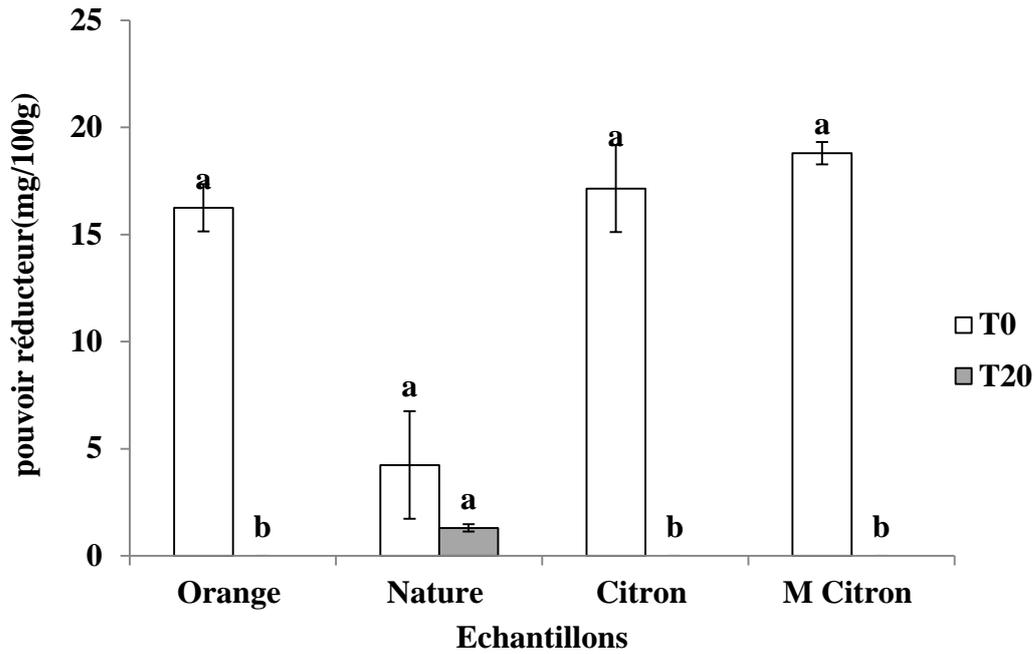


Figure 16 : Evolution du pouvoir réducteur des yaourts au cours de la conservation.
Les barres verticales représentent les écarts-types. Les résultats des échantillons portant des lettres différentes sont significativement différents : LSD, $p < 0,05$, avec $a > b$.

Conclusion

Le présent travail avait pour but, en premier lieu l'étude de l'activité antioxydante de quelques laits fermentés du commerce. En second lieu, l'évaluation de cette activité est effectuée après conservation à basse température durant vingt jours.

A la lumière des résultats obtenus, il ressort que les laits fermentés analysés contiennent des teneurs représentatives en composés phénoliques et en flavonoïdes tout de même majoritaires dans les yaourts comparativement au Lben, et que les activités antioxydantes sont présentes avec des variations significatives d'un échantillon à un autre.

Pour ce qui est de la conservation, une diminution significative est notée pour les teneurs en composés bioactifs concernant tous les échantillons à l'exception du yaourt Nature qui présente une meilleure stabilité.

En ce qui concerne les activités antioxydantes, une augmentation significative est constatée pour l'activité anti-radicalaire tandis que le pouvoir chélateur et le pouvoir réducteur diminuent significativement.

Les laits fermentés sont donc une source non négligeable en antioxydants, leur consommation est préconisée à l'état frais afin de tirer profit d'un meilleur apport en antioxydants.

Dans le but de compléter cette étude, il serait intéressant de :

- *Déterminer l'ensemble des antioxydants présents dans les laits fermentés.
- *Déterminer les peptides bioactifs éventuellement présents.
- *Démontrer l'impact des souches de bactéries lactiques utilisées sur la teneur en antioxydants.
- *D'étudier l'effet des arômes ajoutés sur l'activité antioxydante.
- *Démontrer le potentiel antioxydant des laits fermentés *in vivo*.
- *D'élargir cette étude à d'autres produits laitiers.

Références bibliographiques

-A-

- AFNOR.1985.Contrôle de la qualité des produits laitiers : analyses physiques et chimiques (3^{ème} édition) Association Française de Normalisation.pp.107-251.

-B-

- Belem M.A.F., Gibbs B.F et Lee B.H. 1999. Proposing sequences for peptides derived from whey fermentation with potential bioactive sites. Journal of Dairy Science, 82: 486-493.
- Besle J.M., Viala D., Martin B., Pradel P., Meunier B. et Berlague J.L. 2010.Ultraviolet-absorbing compounds in milk are related to forage polyphenols. Journal of Dairy Science, 93:2846-2856.
- Bourgeois C.M. et Larpent J.P. 1996. La fermentation alimentaire : Microbiologie alimentaire, aliments fermentés et fermentation alimentaire (Tome2).Editions Tec & Doc, Lavoisier. Paris, France. pp : 4-202.
- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E. et Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxydant activity. Lebensmittel-Wissenschaft & Technology, 28: 25-30.
- Buggey L.A. 2001. A review of polyphenolic antioxidants in hops, brewing and beer. The Brewer International, 4: 21-25.

-C-

- Chambre M. et Daurelles J.1997.Le fromage fondu : Le Fromage (Tome 3).Edition Tec & Doc, Lavoisier. Paris, France. pp: 40-110.
- Chouchouli V., Kalogeropoulos N., Konteles S.J., Karvela E., Makris D.P. et Karathanos V.T. 2013. Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. Food Science and Technology, 53: 522-52.
- Christopher M.D., Reddy V.P. et Vonkateswarlu K.2009. Viability during storage of *Bifidobacterium bifidum* strains in set and stered and flavoured yoghurts containing whey protein. Natural Product Radiance,8: 25-31.
- Collin S., Counet C., Callemien D. et Jerkovic V. 2011.Nomonclature et voies de synthèse des polyphénols : Polyphénols et procédés, Edition, Tec & Doc, Lavoisier. Paris, France. pp: 5-25.

-D-

- Decker E.A. et Welch B.1990. Role of ferritin as lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 38: 674-677.
- Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D. 2005. *Free Radicals and Oxidative Stress: Biological and Pathological Aspects*. Tec & Doc Lavoisier.Paris, pp:200-209.
- 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 Chemistry*, 84.1: 99-105.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97: 654-660.
- Dorman H.J.D., Peltoketoa A., Hiltunen R. et Tikkanen M.2003. Characterisation of the antioxidant properties of the de-odourised aqueous extract from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83: 255.262.

-F-

- FAO /OMS. 2003. *Codex Alimentarius. Code d'usages international recommandé – principes généraux d'hygiène alimentaire*, Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture/Organisation mondiale de la santé, CAC/RCP 1-1969, rév.4.
- FAO/OMS.1973, 1977, 1985. *Codex Alimentarius. Code de principes concernant le lait et les produits laitiers. Normes internationales pour les produits laitiers et normes internationales individuelles pour les fromages*.
- Favier A.E., Nève J., Faure P.1994.*Trace elements and free radicals in oxidative diseases: Edition AOCS Champaign. Illinois. pp: 128-132.*
- Favier J.C.1991. *Composition du yaourt. Cahiers de Nutrition et de Diététique des Aliments*, Editions ORSTOM, Fonds Documentaire. pp: 373-378.
- Feiuet P.1998. *Les propriétés de la recherche publique: Aliments et industrie alimentaire. Edition INRA. Paris, France. Pp : 280.*

-G-

- Gaté L., Paul J., Ba G.N., Tew K.D.et Tapiero H. 1999. Oxidative stress induced in pathologies: The role of antioxidants. *Biomedecine & Pharmacotherapy*, 53: 169-180.
- Gobbetti M., Ferranti P., Smacchi E., Goffredi F. et Addeo F. 2000. Production of angiotensin-I-converting-enzyme-inhibitory peptides in fermented milks started by

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* SS1 and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FT4. Applied and Environmental Microbiology, 66: 3898-3904.

-H-

- Hang J., Boursvanons A., Diaz. et Davidstone. 2002. Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. Digestive Diseases Sciences. 47: 2625-34.
- Hennebelle T. 2006. Investigation chimique. Chimiotaxonomique et pharmacologie de lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium pergrinum*, *Ballota*, *psendodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (verbénacées). Thèse de Doctorat. Université de Sciences et technologie de Lille-Lille1. 281p.

-K-

- Kailasapathy K. 2006. Survival and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. Food Science and Technology. 39: 1221-1227.
- Karadag A, Ozcelik B, Saner S. 2009. Review of methods to determine antioxidant capacities. Food Analytical Methods, 2: 41–60.
- Kasimoglu A., Goncuoglu M., Akgun S. 2004. Probiotic White cheese with *Lactobacillus acidophilus*. International Dairy Journal, 14 : 1067-1073.
- Khater F. 2011. Identification et validation fonctionnelle de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans la biosynthèse des composés phénoliques. Thèse de doctorat en sciences des procédés – sciences des aliments. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques -Montpellier supagro. Spécialité Biochimie et Biologie Moléculaire, France. 198p
- Kim S. M., Cho Y. S., Lee S. H., Kim D. G. et Sung S. K. 1999. Effect of ascorbic acid and oxygen species on iron-related lipid oxidation in meat homogenate, Han'guk Ch'uksan Hakhoechi, 40: 89.
- Kinsky S.C., Loader J.E., Benedict S.H. 1989. Phorbol ester activation of phospholipase D in human monocytes but not peripheral blood lymphocytes. Biochemical and Biophysical Research Communication, 146: 618.
- Korhonen H., et Pihlanto-Leppala A. 2003. Food-derived bioactive peptides: opportunities for designing future foods. Current Pharmaceutical Design, 9: 1297-1308.

-L-

- Léonil J. 2014. Les peptides bioactifs du lait et leur intérêt dans la prévention des maladies cardiovasculaires et du syndrome métabolique. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 8 : 495–499.
- Luck G., Liao H., Murray N. J., Grimmer H. R., Warminski E.E. et Williamson M.P. 1994. Polyphenols, astringency and proline-rich proteins. *Phytochemistry*, 37: 357-371.

-M-

- Mainville I. et Acrand Y. 2004. A dynamic model that simulated the human upper gastrointestinal track for the study of probiotics. *International Journal of Food Microbiology* 99: 287–29.
- Martin A. 2003. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Edition Tec et Doc, Lavoisier. Paris, France. pp : 201-209.
- Mechai A. et Kirane D. 2008. Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk “Raïb”. *African Journal of Biotechnology*, 7 : 2908-2914.
- Meucci E., Mordente A. et Martorana G.E. 1991. Metal-catalyzed oxidation of human serum albumin: conformational and functional changes. *Journal Biological Chemistry*, 266 :4692–4699.
- Milane H. 2004. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractères pro oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse présentée en vue d’obtention du grade de Docteur en Science de l’université de Louis Pasteur
Domaine : pharmacochimie. 155p.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26: 211-219.

-N-

- Najgebauer-Lejko D. Sady M., Grega T. et Walczycka M. 2011. The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. *International Dairy Journal*. 21:568-574.
- Nakamura Y., Yamamoto M., Sakai K., Okubo A., Yamazaki S. et Takano T. 1995. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *Journal of Dairy Science*, 78: 777-783.

- Néve J.2013. Nutrition et stress oxydant ; Modulation de l'apport alimentaire en anti-oxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16: 292–300.

-O-

- Ould El Hadj M.D., Sebihi A.H. et Siboukeur O.2001.Qualité hygiénique et caractéristiques physico-chimiques du vinaigre traditionnel de quelques variétés de dattes de la cuvette de Ouargla. *Renewable & Sustainable Energy Reviews: Production et valorisation-Biomasse*:87-92.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of the browning reaction: antioxydative activities of products of browning prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307-316.

-P-

- Parmjit S.P. et Chetan S. 2011. Effect of Storage on syneresis, pH, *lactobacillus acidophilus* count *Bifidobacterium bifidum* count of *aloe vera* fortified probiotic yoghurt. *Current Research in dairy Science*, 10: 1-7.
- Pietta P.G. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035-1042.
- Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B. 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4: 25-39.

-R-

- Rababah T. M., Al-Mahasneh M. A., Kilani I., Yang W., Alhamad M. N. et Ereifej K. 2011. Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity, and anthocyanins of different fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 1096-1102.
- Rawel H. M., Kroll J. et Hohland U. C. 2001. Model studies on reactions of plant phenols with whey proteins. *Nahrung/Food*, 45: 72-81.
- Ribeiro S.M.R., Banbosa L.C.A., Queiroz J.U., Knodlen M. et Schieber A.2008. Phenolic compounds and antioxydant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L) varieties. *Food Chemistry*.110: 620-626.
- Ribéreau-Gayon P. 1968. Propriétés chimiques des phénols. Applications aux produits naturels. In : « Les composés phénoliques des végétaux ». Edition Dunod. pp 28-57.

- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bollwell P.G., Bramley P.M. et Pridham J.B. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22: 375-383.
- Rival S.G., Boeriu, C.G. et Wichers H.J. 2001. Caseins and casein hydrolysates. antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 49: 295-302.

-S-

- Sanchez-Moreno C. 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*, 8: 121-137.
- Suetsuna K., Ukeda H et Ochi H. 2000. Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 11: 128-31.
- Sumaya-Martinez M.T. 2004. Valorisation d'hydrolysats de co-produits de crevettes : étude de l'activité antiradicalaire et antioxydante, fractionnement des substances actives et effet de la glycation. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université de Bretagne Occidentale. France, 188p.
- Sütas Y, Hurme M. et Isolauri E. 1996. Down-regulation of anti-CD3 antibody-induced IL-4 production by bovine caseins hydrolysed with *Lactobacillus GG*-derived enzymes. *Scandinavian Journal of Immunology*, 43: 687-690.

-T-

- Takano T. 2002. Anti-hypertensive activity of fermented dairy products containing biogenic peptides. *Antonie van Leeuwenhoek Kluwer*, 82: 333-340.
- Temple N.J. 2000. Antioxidants and disease: More questions than answers. *Nutrition Research*, 20: 449-459.
- Tenbrink B. et Huis J.H., 1992. Application of metabolic properties of lactic acid bacteria in <<lactic acid bacteria>> ADRIA (Ed.).pp. 67-69.
- The reader's digest association, 2000. Tous savoir sur les vitamines et les minéraux : Guide des vitamines et minéraux pour une bonne santé :Edition Sélection de Reader's Digest.Londre,Angletaire.pp.118-130.

-U-

- Unal G. et Akalin A. S. 2012. Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of yoghurt fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. Dairy Science & Technology, 92: 627-639.

-V-

- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M. et Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions 160: 1-40.
- Veisseyre R .1979. Technologie des laits de consommation en nature. In : << Technologie du lait >>. MAISON RUSTIQUE (Ed.), pp.81-329.
- Vijayalakshmi V., Illupapalayam, Stuart C., Smith et Shirani Gamlath.2014. Consumer acceptability and antioxidant potential of probiotic-yogurt with spices. Food Science and Technology. 55: 255-262.

-W-

- Williamson, G. S. et Manach C.2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. American Journal of Clinical Nutrition, 81:243-255.

-Y-

- Yildirim A., Mavi A., Kara A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 4083-89.
- Yilmaz-Ersan L. et Kurdal E. 2014.The Production of Set-Type-Bio-Yoghurt with Commercial Probiotic Culture. International Journal of Chemical Engineering and Applications, 5: 402-408.

-Z-

- Zou T.B., He T. P., Li H. B., Tang H. W. et Xia E.Q. 2016. The Structure-Activity Relationship of the Antioxidant Peptides from Natural Proteins. Molecules. 21: 72.

Annexes

Annexes I : Courbes d'étalonnage.

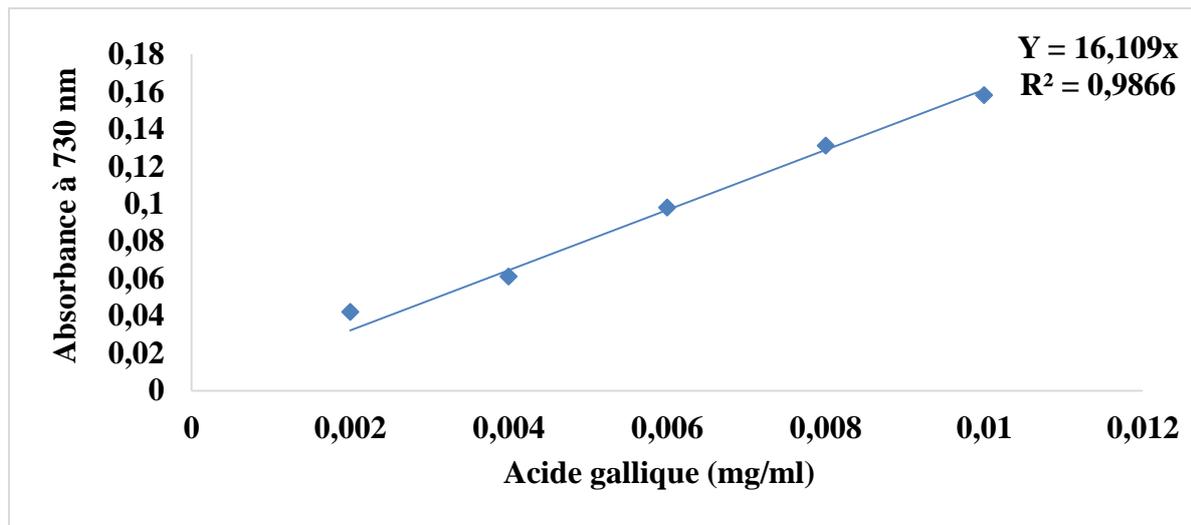


Figure 1: Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.

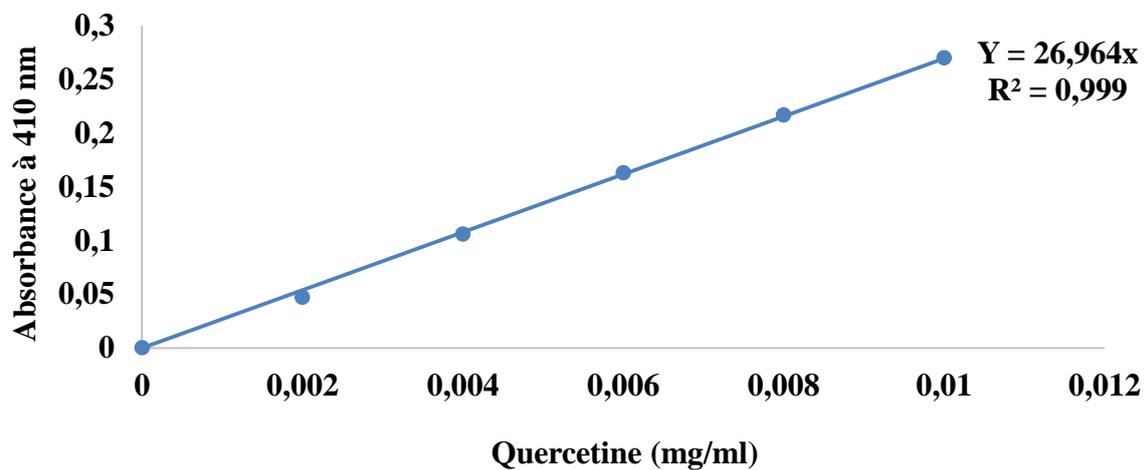


Figure 2: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

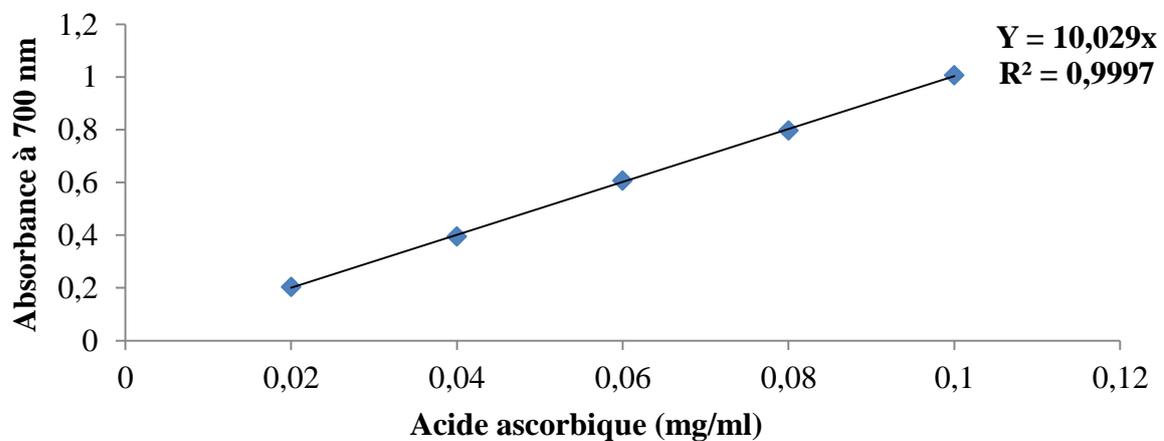


Figure 3: Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.

Annexes II : Matériels et réactifs utilisés

Tableau III : Réactifs.

Réactifs	Marque	Provenance
Méthanol	SIGMA-ALDRICH	Allemagne
Chlorure ferreux	PROLABO chemopharm	Montréal, Québec
Carbonate de Sodium		Montréal, Québec
Trichlorure d'aluminium		Georgia-USA
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)		
Acide Trichloracétique (TCA)	BIOCHEM chemopharm	Montréal, Québec
ferricyanure de potassium		
Ferrozine		
Chlorure ferrique	PROLABO chemopharm	Comité Européen
Le réactif Folin-Ciocalteu		
Tampon phosphate (Na ₂ H ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄)	Fluka	Allemagne
acide ascorbique		
acide gallique		
Quercétine		

Tableau IV : Matériels.

Matériels	La marque	Le pays producteur
Spectrophotomètre (Vis)	VIS-7220G	Royaume Uni
Balance	RADWAG	Pologne
Plaque d'agitation	VELP Scientifica	Italie
Centrifugeuse	NF 200	Turquie
Bain-marie	Memment	Allemagne
Vortex	VELP Scientifica	Europe
Etuve	WTE binder	Allemagne
Balance analytique	RADWAG	Pologne

Distillateur	GFL	Allemagne
pH mètre	pH 211-HANNA instruments	Romanie
Micropipette 100µl	GASY 40	Finlande
Micropipette 50 µl	Soul Finnpipette Step	Finlande
Micropipette 1000 µl		
Réfrigérateur	Condor	Algérie

Les laits fermentés sont des produits laitiers obtenus par fermentation du lait, dont les levains sont vivants, actifs et abondants, distingués par leurs apports nutritionnels capital et leurs effets bénéfiques sur la santé, ces derniers font l'objectif de ce travail qui consiste en premier lieu à déterminer les propriétés physico-chimiques, les teneurs en substances bioactives et les activités antioxydantes des laits fermentés commercialisés composés de dix échantillons (Yaourts étuvés / brassés et Lben). En second lieu l'évolution des paramètres précédemment cités de quatre yaourts étuvés aléatoirement choisis durant vingt jours de conservation. Les résultats indiquent une diminution de 9,5% pour le pH, de 35,64% pour les composés phénoliques, 48,93% pour ce qui est des flavonoïdes, 63,52% pour le pouvoir chélateur et enfin le pouvoir réducteur quant à lui a diminué de 97,7%. Concernant l'acidité et l'activité anti-radical DPPH sont les seuls paramètres qui présentent des augmentations respectives de 5,05% et de 130,43%.

Les résultats de la présente étude confirment que les laits fermentés et précisément les yaourts sont des sources importantes en antioxydants, et que leur consommation est souhaitable lors des premiers jours de leur fabrication afin de minimiser leurs pertes et de renforcer ainsi le statut antioxydant de l'individu.

Mots-clés : laits fermentés, antioxydants, Activités antioxydantes, conservation.

Fermented milks are dairy products obtained by fermentation of milk, the starters are alive, active and abundant, distinguished by their capital nutrient intakes and their beneficial effects on health, these are the objective of this work which consists in first place to determine the physico-chemical properties, the contents of bioactive substances and antioxidant activities of marketed fermented milk compounds ten samples (steamed / brewed Yogurts and Lben). Secondly evolutions of the previews parameters quote of four yoghurts randomly taken during twenty days of storage.

. The results indicate a decrease of 9.5% for pH, 35.64% for phenolic compounds, 48.93% in flavonoids, and 63.52% for the chelating power and finally the reducing power decreased 97.7%. For acidity and anti-radical activity (DPPH) are the only parameters that have shown increases of 5.05% and 130.43%.

The results of this study confirm that the fermented milks and specifically yogurt are an important source of antioxidants, and their in take is indicate in the first days of their manufacture in order to minimize their losses and thus increase the antioxidant status of individual.

Keywords: fermented milks, antioxidants, antioxidant activities, storage.