

## Antioxidant properties and stability of betalains in beet and prickly pear juices and in dairy foam

## Propriétés antioxydantes et stabilité des bétalaines dans les jus de betterave et de figue de barbarie et dans la mousse laitière

HAYET BEN HAJ KOUBAIER<sup>(1,2)\*</sup>, ISMAHEN ESSAIDI<sup>(3)</sup>, SAOUSSEN BOUACIDA<sup>(1,2)</sup>, AHMED SNOUSSI<sup>(1,2)</sup>, SIWAR KHEMIRI, NABIHA BOUZOUITA<sup>(1,2)</sup>

<sup>1</sup>Université Carthage, Ecole Supérieure des Industries Alimentaires de Tunis, 58 Avenue Alain Savary 1003, Tunis, Tunisie.

<sup>2</sup>Université Tunis EL-Manar, Faculté des Sciences de Tunis, Laboratoire de Chimie Organique Structurale, Tunis, Tunisie.

<sup>3</sup>Université Sousse, Institut Supérieur des Sciences Agronomiques de Chott Mariem, Sousse- Tunis

\*Corresponding author: h.kbaier@gmail.com

**Abstract** - Betalains are water-soluble plant pigments that are widely used as food colorants, and have a wide range of desirable biological activities. In the present study, juices of beetroot (*Beta vulgaris var conditiva* L.) and two prickly pear cultivars (*Opuntia ficus-stricta* L. and *Opuntia ficus-indica* L.) were evaluated for their betalains stability against various pH conditions (4, 7 and 10) and exposure time of heating at 100°C (5, 20 and 35 minutes). The antioxidant activity of juice was tested by means of two different methods: the 2,2'-azinobis(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS<sup>+</sup>) and the ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods. The results showed that the studied juices present a high antioxidant activity associated with a high concentrations of total phenolic compounds, which may have synergistic effects with betalains. Moreover, it showed high concentration of betalains (333.9±47.8; 110.5±5.1; 5.9±0.03 mg/L at 1% DM of juice, respectively) which were stable over a wide pH range (2.8 - 7.0) and were resistant to heating (100°C) up to 20 minutes at acid pH. In cream-cheese mousse, juice addition (20%) improved the sensorial characteristics (Color, odor, smoothness and texture, taste, after taste, overall appreciation). Color retention and antioxidant activity of dyed cheese mousses was influenced by temperature of storage (4, 25 and 37°C). The addition of *Opuntia ficus-indica* juice showed better color retention (87.8%) at 15 days of storage compared with *Opuntia ficus-stricta* and beetroot juices (59.9 and 71.7%, respectively). These results confirm the great potential of beetroot and prickly pears as a natural colorant for functional foods

**Key words:** natural colorant, betalains, beetroot, prickly pear, antioxidant, stability, cream cheese mousse

**Résumé** - Dans la présente étude, les jus de betterave rouge (*Beta vulgaris var conditiva* L.) et deux variétés de figue de barbarie (*Opuntia ficus-stricta* L. et *Opuntia ficus-indica* L.) ont été évalués pour leur stabilité en bétalaines dans différentes conditions de pH (4, 7 et 10) et de temps de chauffage à 100°C (5, 20 et 35 minutes). L'activité antioxydante du jus a été évaluée par le test antiradicalaire sur le radical cation libre ABTS et le pouvoir réducteur du fer (FRAP). Les résultats ont montré que les jus étudiés présentent une activité antioxydante importante associée à des concentrations élevées en composés phénoliques totaux. Les jus de betterave rouge et d'*Opuntia stricta* ont présenté des concentrations élevées en bétalaines (333,9 et 110,5 mg / L à 1% MS de jus, respectivement) et qui ont montré une stabilité à un large intervalle de pH (2,8 - 7,0) et une résistance à la chaleur (100°C) atteignant 20 minutes à un pH acide. La couleur et l'activité antioxydante des mousses laitières préparées avec les jus ont été influencées par la température de stockage (4, 25 et 37 ° C). L'ajout de jus d'*Opuntia ficus-indica* a montré une meilleure stabilité de la couleur (87,8%) à 15 jours de stockage par rapport aux jus d'*Opuntia ficus-stricta* et de betterave rouge (59,9 et 71,7%, respectivement).

Ces résultats confirment l'utilisation de la betterave rouge et de la figue de barbarie comme étant des colorants naturels potentiels dans les préparations alimentaires.

**Mots-clés :** colorant naturel, bétalaines, betterave, figue de barbarie, antioxydant, stabilité, mousse laitière



## 1. Introduction

Ces dernières années, nous avons assisté à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les pigments. Ces derniers, ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires et ce pour leurs effets bénéfiques pour la santé. Contrairement aux autres pigments naturels, les bétalaïnes sont les moins étudiés.

Les bétalaïnes sont des pigments azotés, comprenant deux sous-groupes : les bétacyanines (rouge-violet) et les bétaxanthines (jaune-orange). La distribution des bétalaïnes dans le règne végétal est très limitée, leurs principales sources sont la betterave rouge et la figue de barbarie. On les trouve, aussi, dans l'amarante, le bougainvillier et le pourpier (Forni et al., 1992; Delgado-Vargas et al., 2000; Castellar et al., 2003; Sáenz, 2006).

Le contrôle de la stabilité des bétalaïnes est une étape fondamentale qu'on doit prendre en compte pour assurer une préservation maximale de leur propriété colorante. En effet, en dehors de leur stabilité, une grande diversité de produits de dégradation peut se produire entraînant la perte du colorant et un changement de sa couleur. Parmi les facteurs à prendre en considération pour le contrôle du mécanisme de dégradation des bétalaïnes, on peut citer : les traitements thermiques, la lumière, l'oxygène, la présence des chélateurs, le pH, ... (Delgado-Vargas et al., 2000 ; Herbach et al., 2004 ; Stintzing et Carle, 2004 ; Tang et Norziah, 2007)

Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif de suivre la stabilité des jus de bétalaïnes extraits à partir des figues de barbarie et de la betterave rouge en fonction du pH et du temps de chauffage à 100°C, et en tant que colorant naturel utilisé dans une mousse laitière.

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Matériel végétal et préparation du jus

Au cours de cette étude le matériel végétal utilisé correspond aux (i) racines de betterave rouge (*Beta vulgaris L esculente*) acheté d'un marché local de Tunis en mois de janvier 2016. (ii) fruits de figue de barbarie de deux variétés rouge et jaune : *Opuntia ficus stricta* (OFS) et *Opuntia ficus-indica* (OFI), cueillis en mois de février 2016, respectivement, des régions Borj ElAmri (sud-ouest de Tunis) Bou Argoub (Cap Bon).

Les racines de betterave et les fruits de figue de barbarie ont été lavées, brossés, broyés et centrifugée à l'aide d'une centrifugeuse Moulinex afin d'obtenir un jus.

Les jus obtenus sont, ensuite, conservés dans des bouteilles verre brun au congélateur (-18 °C) jusqu'à utilisation ultérieure

### 2.2. Analyses physico-chimiques des jus

#### 2.2.1. Détermination du pH, des solides solubles totaux et de la densité

Le pH a été déterminé par un pH-mètre (Mettler Toledo, USA) préalablement étalonné (NF T01-013.1974). La mesure des solides solubles a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre manuel (réfractomètre Atago modèle N-50E, USA), à 20 ° C. Les résultats sont exprimés en ° Brix (NF V 05-109.1970).

La densité des jus ( $\rho$ ) a été déterminée par le calcul du rapport de la masse de l'échantillon et son volume à 20°C.

#### 2.2.2. Détermination de la viscosité

La détermination de la viscosité des différents échantillons a été déterminée par un viscosimètre rotatif (Haake, VT5R Viscotester, Thermohaake, Hamburg, Germany). Les calculs effectués dans les viscosimètres à partir des mesures de la force de torsion, de la vitesse de l'axe et de ses caractéristiques donnent une lecture directe de la viscosité en pascals par seconde.

#### 2.2.3. Mesure des paramètres couleur CIElab

Le modèle Lab caractérise une couleur avec un paramètre d'intensité correspondant à la luminance  $L^*$  et de deux paramètres de chrominance  $a^*$  et  $b^*$  qui décrivent la couleur. Les valeurs ont été données à l'aide d'un colorimètre liquide LAVIBAND PFX195.

#### 2.2.4. Quantification spectrophotométrique des pigments bétalaïnes

Pour analyser la concentration en bétalaïnes, les différents jus sont dilués d'une manière à obtenir un extrait sec égale à 1%. Les concentrations totales en pigments ont été calculées selon la formule suivante : Bétalaïnes (mg /l) = (A x MM x 1000 x FD) /  $\epsilon$  x L. (Stintzing et al., 2005).

Avec : A : Absorbance déterminée à une longueur d'onde  $\lambda$  = 538 nm (bétacyanines : pigments rouge) et 480 (bétaxanthines : pigments jaunes) ; MM : masse molaire égale à 550 g/mol pour la bétanine, 308,29 g/mol pour l'indicaxanthine (figue de barbarie) et 339 g/mol pour la vulgaxanthine (betterave rouge) ; FD : facteur de dilution ;  $\epsilon$  : le coefficient d'extinction molaire, avec 65000 L. mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> pour la bétanine et de 48 000 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> pour l'indicaxanthine ; L : longueur de la cuve (1 cm).

#### 2.2.5. Quantification des composés phénoliques

Les phénols totaux des échantillons de jus ont été dosés par une méthode de Yeddes et al. (2013) et al. (2010) avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

#### 2.3. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des échantillons de jus ont été évalués par deux méthodes à savoir le test antiradicalaire sur le radical cation libre ABTS (Re et al., 1999) et le pouvoir réducteur du fer (FRAP) (Yildirim et al., 2001).

#### 2.4. Etude de stabilité des jus à différents pH et différents temps de chauffage

Dans le but de suivre l'effet du pH (4 ; 7 et 10) et du temps du chauffage à une température 100°C (5 ; 20 et 35 min) sur la stabilité des bétalaïnes des jus étudiés, un plan d'expérience composite centré a été réalisé.

#### 2.5. Etude de la stabilité de la mousse laitière

##### 2.5.1. Préparation d'une mousse laitière

La mousse laitière a été préparée suivant une recette de maison dont les ingrédients sont donnés dans le tableau 1.

**Tableau 1 :** Liste des principaux ingrédients utilisé dans la formulation d'une mousse laitière

Ingrédients	Quantité (%)
<b>Sirop</b>	Sucre en poudre (37 %)
	Eau (37 %)
	Jus de betterave / figue de barbarie (20 %)
	Citron (6 %)
<b>Fromage blanc</b>	50
<b>Crème fraîche</b>	42

##### 2.5.2. Etude de la stabilité de la mousse laitière en fonction de la température

La mousse a été mise dans des pots avec couvercle et stockée à trois températures : 4, 25 et 37 °C pendant 15 jours. Aux jours 0 ; 3 ; 7 et 15 du suivi, le pH, la couleur et l'activité antioxydante totale (méthode FRAP) ont été mesurés.

#### 2.6. Analyse statistique

Les calculs de moyenne, d'écart type et l'analyse de variance ANOVA ont été réalisés à l'aide du logiciel STATGRAPHICS® Version 1.6 software (Manugistics Inc, Cambridge, MA).

### 3. Résultats et Discussion

#### 3.1. Analyse physicochimique du jus

L'extraction du jus à partir des racines et des fruits semble être la technique la plus faisable pour l'obtention des bétalaïnes en comparaison avec d'autres méthodes de séparation et de purification conventionnelle, à savoir la macération. En effet, il s'agit d'une méthode peu coûteuse, ne demandant pas l'utilisation d'agents chimiques et n'altérant pas sa composition chimique (Cassano et al., 2010).

Les différentes analyses physicochimiques effectuées sur les jus sont : le pH, les solides solubles totaux, la viscosité, la densité, les paramètres de couleur (L, a\*, b\*) et les concentrations en bétalaïnes et en phénols totaux (Tableau 2)

**Tableau 2** : Paramètres physico-chimiques du jus de betterave rouge et de figue de barbarie des deux variétés jaune et rouge

Paramètres	Betterave rouge	OFS	OFI
pH	6,47±0,05	3,49±0,01	5,20±0,01
Solides solubles totaux (°B)	12,33±0,35	8,16±0,15	6,16±0,05
Densité (g/cm <sup>3</sup> )	1,01±0,01	1,03±0,01	1,14±0,03
Viscosité (Pa.s) à 20°C	0,04±0,00	0,05±0,00	0,05±0,00
<b>Paramètres de couleur</b>			
L	39,14±1,85	31,07±0,28	98,37±0,32
a*	+60,00±1,46	+56,220±2,920	-2,83±0,06
b*	+27,77±5,95	+6,56±0,80	+27,19±0,45
<b>Bétabétaïnes (mg/L)</b>			
Bétacyanines*	214,47±47,83	79,69±5,17	2,70±0,01
Bétaxanthines**	119,94±14,78	30,82±0,00	3,18±0,04
Phénol totaux (meq AG/g MS)	125,14±1,20	157,65±0,60	193,73±5,30

\*bétacyanine : (mg eq bétanine /L par rapport à 1% ES de jus), \*\*bétaxanthine : (mg eq vulgaxanthine /L (betterave rouge), mg eq indicaxathine/L (figue de barbarie)).

D'après le tableau 2, le jus de betterave rouge présente la valeur du pH significativement la plus élevée (6,47±0,05) suivi par le jus d'*Opuntia ficus indica* (5,20±0,01). Le jus d'*Opuntia ficus stricta* est considéré le jus le plus acide ayant un pH de l'ordre de 3,49±0,01. D'après Stintzing et al., (2004), le contrôle du pH est très important pour assurer la stabilité du colorant. Une dégradation des bétalaines est minimale à un pH entre 4 et 6. Ceci dit les jus étudiés peuvent constituer un substitut alimentaire adéquat particulièrement avec les aliments peu acides à savoir les produits laitiers.

Les résultats obtenus montrent aussi que le jus de figue de barbarie (*Opuntia ficus stricta*) est caractérisé par un taux de solides solubles totaux de l'ordre de 8,16±0,15°B significativement supérieure à celui du jus d'*Opuntia ficus indica* (6,16±0,05°B). D'autre part, le jus de betterave rouge a montré la valeur la plus élevée de l'ordre de 12,33±0,35°B. Cela est expliqué par sa richesse en sucres. Selon Albano et al. (2015), la variation des valeurs de taux des solides solubles totaux des jus est considérablement liée aux caractéristiques génotypiques de chaque variété mais aussi au stade de maturité et du métabolisme du fruit.

Les valeurs données dans le tableau 2 montrent que le jus d'OFS possède une viscosité (0,058±0,005 Pa.s) comparable au jus d'OFI (0,057±0,006 Pa.s) et significativement supérieure à celle de jus de betterave rouge (0,040±0,002 Pa.s). Cette différence est due au teneur en fibres solubles. En effet, le jus de figue de barbarie est très riche en mucilage par rapport au jus de betterave ce qui lui donne un aspect visqueux.

La composante L varie d'un jus à un autre : plus sa valeur s'approche de 100 plus l'échantillon étudié est claire, et inversement, plus la valeur d L s'approche de 0 plus l'échantillon est jugé sombre. Dans notre cas, le jus de betterave et le jus d'*Opuntia ficus stricta* ont une valeur, respectivement, égales à 39,14±1,85, et 31,07±0,28, ce qui implique une tendance foncée des jus. Par contre, le jus d'*Opuntia ficus indica* présente une valeur égale à 98,37±0,32 qui s'approche à 100 indiquant une tendance claire. Les valeurs des paramètres a\* et b\* sont positives pour les jus de betterave rouge et d'OFS, cela montre que les jus présentent une note de couleur rouge et jaune. D'autre part, le jus d'*Opuntia ficus indica* présente une valeur négative pour le paramètre a\* et une valeur b\* positive ce qui explique la teinte dominante jaune du jus.

En ce qui concerne la concentration en bétalaines, on note que le jus de betterave rouge possède la teneur la plus élevée (214,47±47,83 meq bétanine /L et 119,94±14,78 meq vulgaxanthine /L). Selon Azeredo (2008), la betanine, appartenant au sous-groupe des bétacyanines, représente 75 à 95% de la matière colorante totale trouvée dans la racine de la betterave rouge.

Le jus d'*Opuntia ficus stricta* montre une concentration en bétacyanines et en bétaxanthines, respectivement, égale à 79,69±5,17 meq bétanine /L et 30,82±0,005 meq indicaxathine/L. Cette valeur est en concordance à celle trouvé par Stintzing et al. (2003). D'autre part, le jus de la variété jaune de la figue de barbarie (OFI) possède une concentration significativement plus faible (2,70±0,01 meq bétanine /L et 3,18±0,04 meq indicaxathine/L). Dans les travaux effectués par Stintzing et al. (2000) sur différentes espèces d'*Opuntia ficus indica*, la teneur en bétalaines varie en fonction de la couleur de fruit. En effet, il a été trouvé une teneur en bétalaines de l'ordre de 0,10 meq bétanine /L pour la variété verte ; 6,60 meq bétanine /L pour la variété rouge et 5,12 mg eq bétanine /L pour la variété orangée. Comme il existe d'autres variétés présentant des valeurs plus élevées à savoir la figue de barbarie pourpre atteignant une valeur de 131,70 ± 1,10 meq bétanine /L pour le bétacyanines, et une valeur de 48,70 ± 0,70 meq indicaxathine/L pour le bétaxanthine (Vergara et al., 2014). La différence des valeurs

peut être expliquée par la différence de mode d'extraction, la variété de fruit, la période de récolte et la nature de plante utilisée.

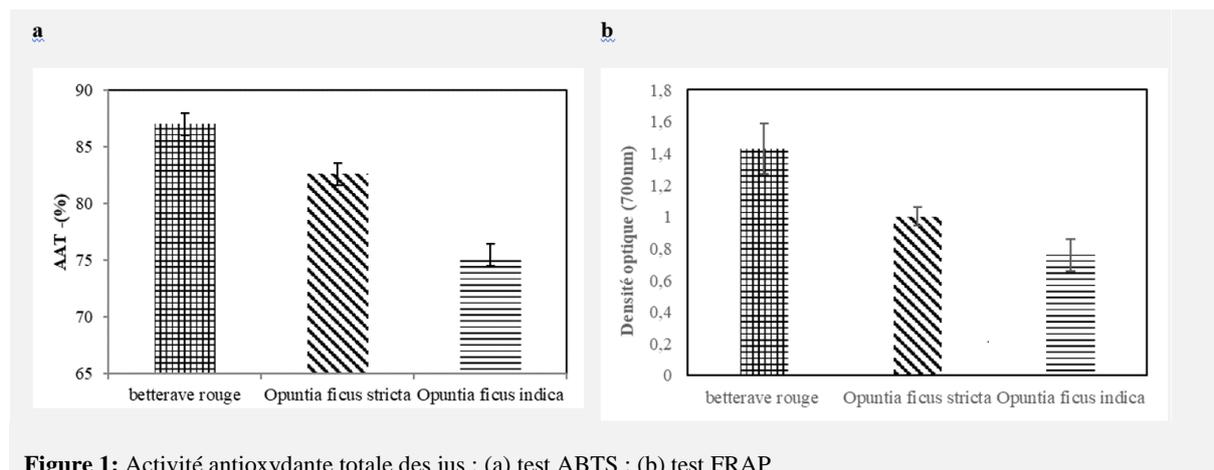
Il est connu que les fruits colorés sont également riches en polyphénols. le jus de betterave rouge a une teneur en polyphénols significativement élevée ( $193,73 \pm 5,3$  mg EAG/g MS). Un certain nombre d'études rapportent que la betterave rouge, sous la forme d'un supplément de jus, protège contre les dommages oxydatifs à des structures d'ADN, de lipides et de protéines *in vitro* (Winkler et al., 2005 ; Kujawska et al., 2009 ; Pietrzowski et al., 2010). Parmi les composés phénoliques contenus dans la betterave rouge qui sont hautement bioactifs, on note la rutine, l'épicatéchine et l'acide caféique, qui sont également connus pour être d'excellents antioxydants (Ben Haj Koubaier et al., 2014). Les composés phénoliques se trouvent souvent sous forme de glycoside ou d'ester au niveau de la plante de la betterave rouge, localisés dans les vacuoles des cellules végétales (Kujala et al., 2000).

Concernant le jus de figue de barbarie, le jus de OFI possède une teneur significativement supérieure ( $157,65 \pm 0,6$  mg EAG/g MS de jus) à celle du jus OFS ( $125,14 \pm 1,2$  mg EAG/g MS de jus). En Comparaison aux jus des autres fruits comme les bananes (11mg EAG / 100g), ananas (15 mg EAG / 100g) et la papaye (26 mg EAG / 100g) (Lako et al., 2007). La figue de barbarie est une source très riche en composés phénoliques, essentiellement en acides phénoliques. Ces derniers sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales (Moure et al., 2001).

### 3.2. Activité antioxydante totale

L'étude du pouvoir antioxydant total des jus est effectué par deux méthodes à savoir le test antiradicalaire sur le radical cation libre ABTS et le test du pouvoir réducteur du fer.

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 1.



**Figure 1:** Activité antioxydante totale des jus : (a) test ABTS ; (b) test FRAP

Le jus de betterave rouge a montré le pourcentage d'inhibition des radicaux  $ABTS^+$  la plus élevée ( $87 \pm 2,98$  %). Ce résultat est justifié par sa richesse en composés bioactifs, connus par leur pouvoir antioxydant intéressant, tels que les composés phénoliques, les bétalaïnes et la vitamine C. Une étude menée par Wootton-Beard et al., (2011) suggère qu'un mécanisme clé par lequel le jus de betterave rouge exerce ses effets antioxydants en piégeant des espèces radicalaires. Ils ont constaté que le jus de betterave rouge a inhibé la formation des radicaux libres *in vitro* dans le DPPH et l' $ABTS^+$ .

Les jus d'*Opuntia* ont montré des pourcentages d'inhibition des radicaux  $ABTS^+$  de l'ordre de  $82,6 \pm 1,92$  % (OFS) et  $75,47 \pm 1,79$  % (OFI). Les fruits d'*Opuntia ficus* de couleur pourpre semblent posséder une activité protectrice contre l'oxydation, plus élevée que ceux de couleur jaune – orange (Zakharova et Petrova, 1998 ; Kanner et al., 2001 ; Gentile et al., 2004).

En ce qui concerne le test FRAP, la présence des réducteurs dans les extraits provoque la réduction de complexe ferricyanide  $Fe^{3+}$  à la forme ferreux  $Fe^{2+}$ . Par conséquent,  $Fe^{2+}$  peut être évalué en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et al., 2002). Plus la valeur de l'absorbance est élevée plus l'activité antioxydante est élevée. Le jus de betterave a montré la densité optique la plus élevée de l'ordre de  $1,43 \pm 0,16$  suivie par la densité optique du jus d'*Opuntia ficus stricta* ( $1,00 \pm 0,06$ ) et la densité optique du jus d'*Opuntia ficus indica* ( $0,76 \pm 0,10$ ).

D'après l'étude de Wootton-Beard et al. (2011) qui ont travaillé sur le jus de betterave rouge sa capacité antioxydante mesurée par le test de la réduction du fer (FRAP) est plus élevée que les autres jus étudiés.

La betterave rouge est également considérée comme étant un aliment « thérapeutique » contre plusieurs maladies associées au stress oxydatif et à l'inflammation. Ses constituants, notamment les pigments de bétalaïnes, présentent une activité antioxydante, anti-inflammatoire et chimio-préventive puissante *in vitro* et *in vivo* (Clifford et al., 2015 ; Clifford et al., 2018).

### 3.3. Stabilité des jus en fonction du pH et du temps de chauffage à 100°C

La stabilité des jus a été déterminé par un plan d'expérience composite centré. 11 expériences ont été réalisées. Chacune permet d'acquérir de nouvelles connaissances en contrôlant un ou plusieurs paramètres d'entrée pour obtenir des résultats validant un modèle avec une bonne économie (Tinsson, 2010). Dans cette partie les paramètres contrôlés sont : les paramètres couleur L a\*b\*, concentration en bétalaïnes. Les analyses statistiques ont été exécutées par le logiciel "Expert design 10".

#### 3.3.1. Stabilité de la composante L

L'analyse de la variance montre que le facteur temps de chauffage a un effet linéaire positif sur la composante L pour les trois jus ( $p < 0,05$ ). Ceci se traduit par le fait qu'une augmentation du temps de chauffage permet une élévation du paramètre L qui peut être expliqué par la dégradation des pigments des bétalaïnes et d'autres substances telles que les fibres qui rendent le milieu limpide. Ceci est en concordance avec les travaux de Mello et al. (2015) qui ont montré que l'augmentation du temps de chauffage est corrélée à une augmentation du paramètre L. Les conditions et la durée de chauffage de cinq minutes sont suffisante pour dégrader la couleur de bétalaïnes.

Les résultats relatifs à l'effet du pH montrent un effet linéaire négatif significatif sur les réponses de L des jus étudiés ( $p < 0,05$ ). Ceci affirme que l'augmentation du pH entraîne une diminution du paramètre L et vice versa. D'après Mello et al. (2015), les bétalaïnes de pitaya sont stables dans l'intervalle de pH de 3,2 à 7. Une dégradation plus élevée est observée à pH 2,4 suivi par un pH de 8.

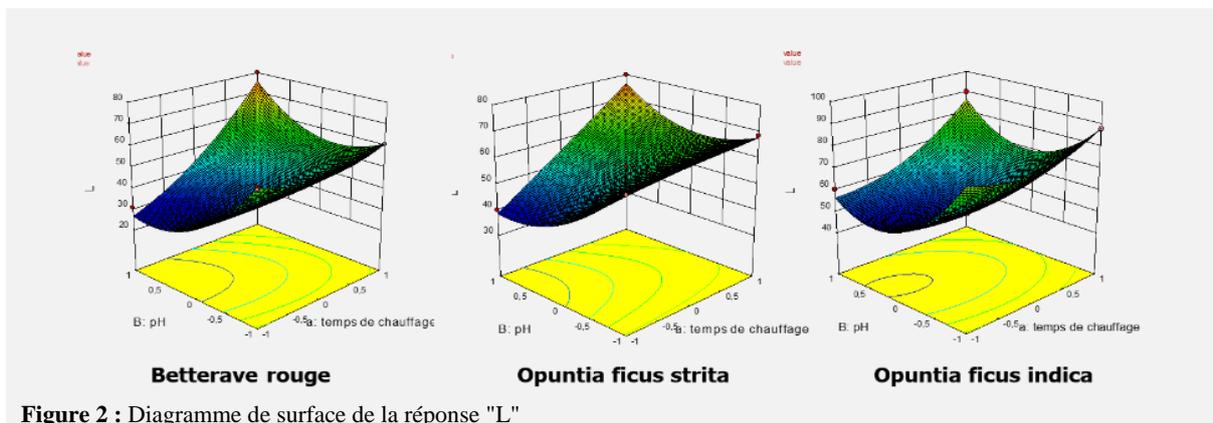


Figure 2 : Diagramme de surface de la réponse "L"

#### 3.3.2. Stabilité des composantes a\* et b\*

L'analyse de la variance indique que le temps de chauffage a un effet positif significatif sur la dégradation de la couleur des jus étudiés ( $p < 0,05$ ). En effet, en augmentant la durée de chauffage est accompagnée d'une augmentation de la valeur b\* et une diminution de la valeur a\*. Ceci conforme aux travaux de Mello et al. (2015) ont trouvé que l'augmentation du temps de chauffage abouti à une diminution du paramètre a\* (du rouge au vert) et une augmentation du paramètre b\* (du bleu au jaune). D'autre part, le pH présente un effet négatif significatif sur les deux paramètres. Cela indique qu'à un pH acide les paramètres a\* et b\* augmentent.

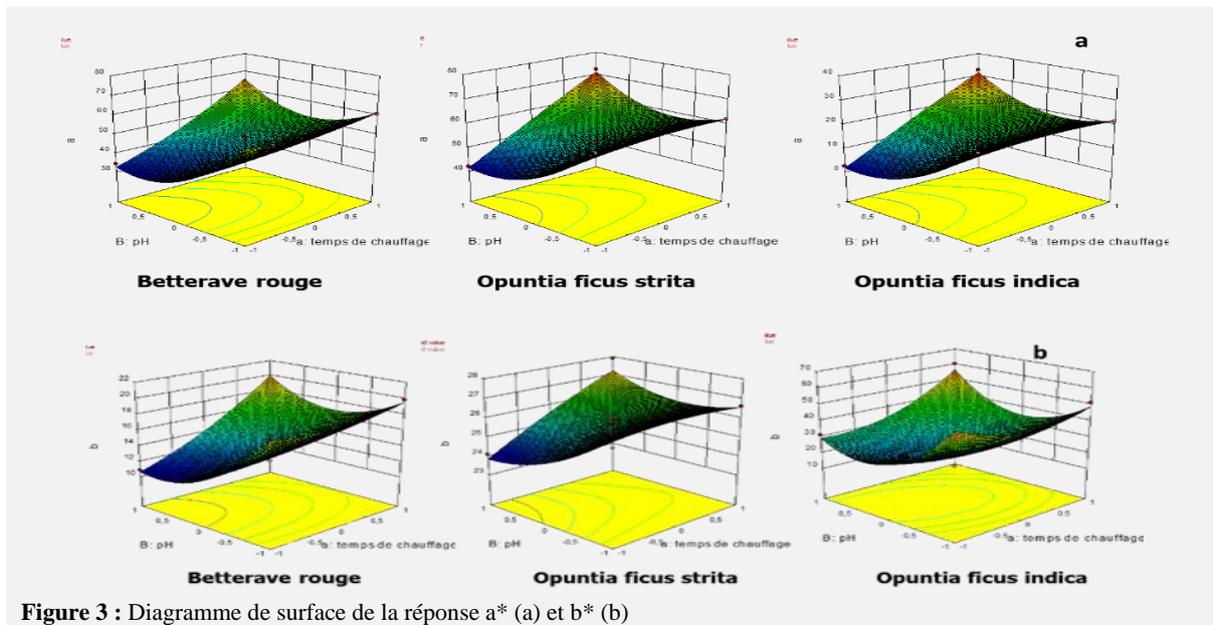


Figure 3 : Diagramme de surface de la réponse  $a^*$  (a) et  $b^*$  (b)

### 3.3.3. Stabilité des concentrations en bétalaïnes

L'effet du temps de chauffage sur la concentration des bétacyanines et des bétaxanthines présente un effet linéaire négatif significatif. En effet une augmentation du temps de chauffage entraîne une diminution des bétalaïnes. Mello et al. (2015) ont expliqué que plus les pigments des bétalaïnes sont exposés au chauffage, plus la dégradation est importante. De même, Herbach et al. (2004) ont reporté que le pic d'absorption à 536 nm (bétacyanines) a été réduite pendant le temps de chauffage (30 minutes).

En ce qui concerne le pH, un effet linéaire positive a été observé : plus pH diminue plus les pigments sont maintenus stables. Stintzing et al. (2003) et Tang et Norziah (2007) ont rapporté que la couleur des bétalaïnes est remarquablement stable dans une plage de pH allant de 3 à 7. Castellar et al. (2003) ont constaté l'absorption maximale de bétalaïnes à un pH de 5,0 à 6,0. Cette caractéristique de stabilité à un pH acide (2,8~3) permet aux bétalaïnes d'être utilisé comme pigment dans les aliments peu acides (Vaillant et al., 2005 ; Castellar et al., 2008).

Selon Mello et al. (2015), les bétalaïnes ont une bonne stabilité dans un large intervalle de pH (3,0-7,0) et une résistance au chauffage pendant 10 minutes à 100 °C. dans notre étude, les bétalaïnes ont montré une résistance à un intervalle de pH allant de 2,8 au 7,0 et une résistance à la chaleur (100°C) atteignant 20 minutes à un pH acide.

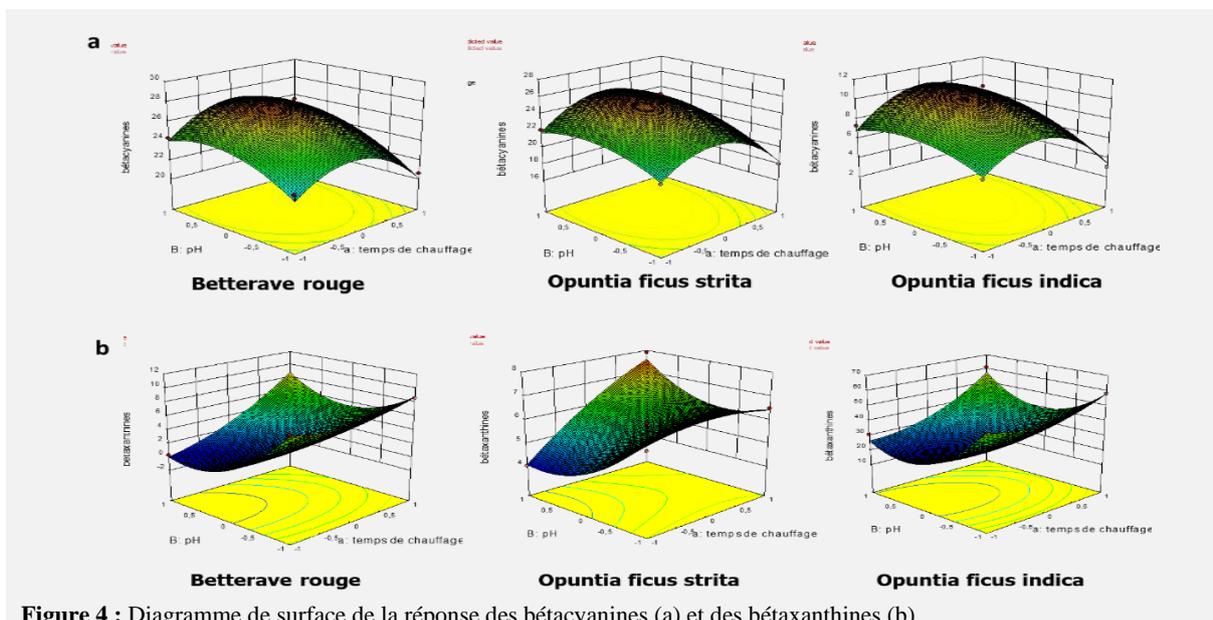


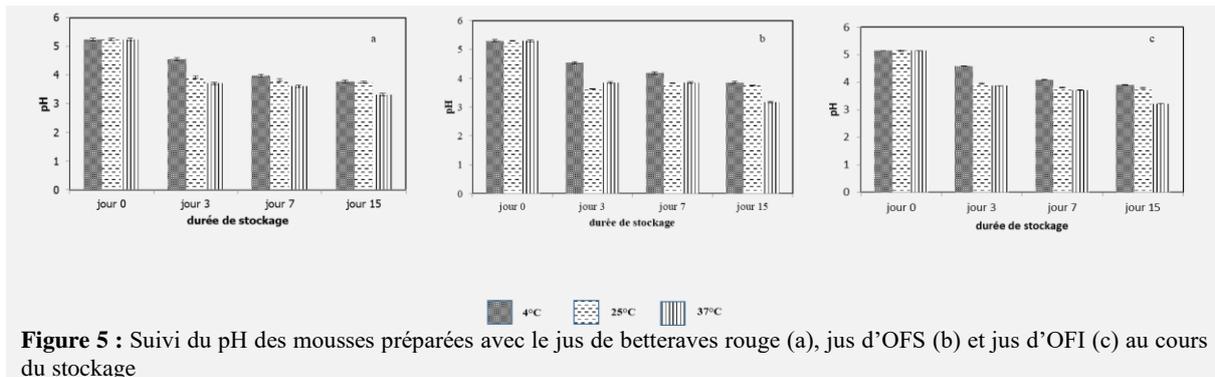
Figure 4 : Diagramme de surface de la réponse des bétacyanines (a) et des bétaxanthines (b)

### 3.4. Stabilité de la mousse laitière préparée avec les jus de betterave rouge et de figue de barbarie

Afin d'étudier la stabilité des colorants ajoutés dans la mousse laitière, les échantillons obtenus ont été conservés à trois températures 4°C, 25 °C et 37 °C pendant 15 jours. Aux jours 0 ; 3 ; 7 et 15, nous avons déterminé le pH, les paramètres de couleur et l'activité antioxydante totale par le test FRAP.

#### 3.4.1. Stabilité du pH

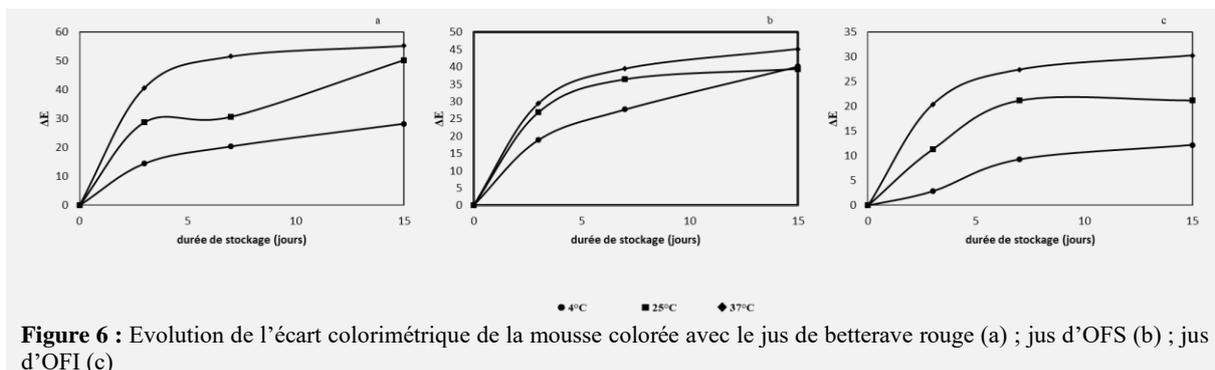
La variation du pH des différents échantillons de mousse au cours de la conservation est donnée dans la figure 5.



D'après la figure 5, on remarque que le pH diminue au cours du temps pour chaque température de stockage. Cette diminution est remarquable pour les températures de stockage 25 et 37 °C dès le troisième jour du stockage. Elle est due à la dégradation des protéines contenues dans le fromage qui donne des acides aminés libres responsable de l'augmentation de l'acidité de la mousse. Cette dégradation est plus élevée à la température 37°C. En effet, l'augmentation de la température engendre une agitation thermique des atomes de la molécule, celle-ci provoque une rupture des interactions intermoléculaires ce qui engendre une dénaturation des protéines et rend par la suite le milieu acide.

#### 3.4.2. Stabilité de la couleur

Les résultats du suivi de la couleur sont exprimés en écart colorimétrique ( $\Delta E$ ) défini par la différence entre deux couleurs au  $t_0$  et  $t_1$  (figure 6).



Le suivi de l'écart colorimétrique de la mousse pendant 15 jours a montré une augmentation de la  $\Delta E$  au cours du temps. Cette augmentation est accentuée au cours de la conservation à 37 °C. En effet, les différents résultats obtenus à cette température durant la période de conservation montrent que la  $\Delta E$  varie de 0 à 40 pour la mousse préparée avec le jus d'OFS, de 0 à 50 pour la mousse préparée avec le jus de betterave rouge, et de 0 à 30 pour la mousse préparée avec le jus d'OFI. Cependant, à la température minimale (+4°C), la  $\Delta E$  est faible pour les trois échantillons. D'où, on peut conclure que la mousse colorée à base de bétalaïnes possède une meilleure résistance de la couleur à une température de stockage faible.

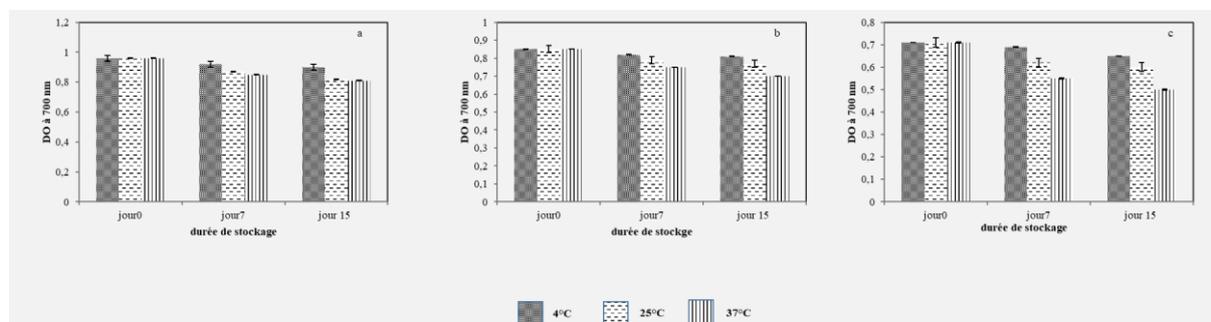
Pour toutes les températures de stockage pendant 15 jours, la mousse préparée avec le jus d'OFI est la plus résistante de point de vue couleur (% de préservation de la couleur = 87,80%), suivi respectivement par les mousses préparées avec le jus de betterave rouge (% de préservation de la couleur = 71,70%) et

le jus d'OFS (% de préservation de la couleur = 59,90%). Il a été rapporté que la stabilité thermique des solutions de bétalaïnes est dépendante du pH et de la température. En effet, La diminution de la température et du pH <3 des bétalaïnes produit une réduction progressive de la couleur rouge (Mello et al., 2015).

### 3.4.3. Stabilité de l'activité antioxydante totale

La mesure de l'activité antioxydante totale des mousses par le test FRAP est évaluée par le suivi de la densité optique à 700 nm (figure 7). Une élevée de l'absorbance indique une meilleure réduction du fer. Les résultats montrent que les densités optiques des différentes mousses au jour 0 sont l'ordre de  $0,96\pm 0,02$ ,  $0,85\pm 0,01$ ,  $0,71\pm 0,02$ , respectivement, pour la mousse avec le jus de betterave rouge, le jus d'OFS et le jus d'OFI (figure 7). On note une diminution de l'activité antioxydante totale au cours de la conservation essentiellement pour les températures de stockage à 25 et 37°C.

Cette diminution est faible pour la température de stockage égale à +4°C°. En effet au 15<sup>ème</sup> jours, la densité optique a atteint une densité optique égale à  $0,94\pm 0,05$  pour la mousse avec le jus de betterave rouge ;  $0,75\pm 0,008$  pour la mousse avec le jus d'OFS et  $0,65\pm 0,02$  à une température 4°C. ce qui implique l'importance du froid pour maintenir une meilleure activité des mousses enrichies en jus de bétalaïnes.



**Figure 7 :** Suivi de la densité optique des mousses préparées avec le jus de betteraves rouge (a), jus d'OFS (b) et jus d'OFI (c) au cours du stockage

## 4. Conclusion

Les jus de betterave rouge et de figue de barbarie sont considérés comme une source potentielle de bétalaïnes, qui en plus d'avoir un effet de colorant naturel, sont riches en composés phénoliques et présentent en outre une activité antioxydante élevée. Les bétalaïnes se caractérisent par une stabilité à pH acide et au chauffage (100°C) jusqu'à 20 minutes. Ce qui encourage d'appliquer ces jus dans les aliments à faible acidité avec un traitement thermique modéré, ou bien d'être ajoutée dans les aliments après chauffage maintenus à un stockage réfrigéré.

## 5. Références

- Albano C, Negro C, Tommasi N, Gerardi C, Mita G, Miceli A, De Bellis L, Blando F (2015).** Betalains, phenols and antioxidant capacity in cactus pear [*Opuntia ficus indica* (L.) Mill.] fruits from Apulia (South Italy) genotypes. *Antioxidants*, 4 : 269–280
- Azeredo H.M.C (2007).** Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science & Technology* Oxford, 44 (12) : 2365-2376,
- Ben Haj Koubaier H, Snoussi A, Essaidi I, Chaabouni M.M, Thonart P, Bouzouita N (2014).** Betalain and phenolic compositions, antioxidant activity of Tunisian Red Beetroot (*Beta vulgaris* L. *conditiva*) and stems extracts. *International Journal of Food Properties*, 17 (9): 1934-1945
- Cassano A, Conidi C, Drioli E (2010).** Physico-chemical parameters of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice clarified by microfiltration and ultrafiltration processes. *Desalination*, 250 (3): 1101-1104
- Castellar M.R, Obon J.M, Alacid M, Fernandez-Lopez J.A (2008).** Fermentation of *Opuntia stricta* (Haw.) fruits for betalains concentration. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 56: 4253-4257.
- Castellar R, Obón J.M, Alacid M, Fernández-López J.A (2003).** Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (9) : 2772-2776

- Chung Y. C, Chang C. T, Chao W. W, Lin C. F, Chou S. T (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50 : 2454 – 2458
- Clifford T, Howatson G, West D.J, Stevenson E.J (2015).** The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, 7(4) : 2801-2822.
- Clifford T, Bowman A, Capper T, Allerton DM, Foster E, Birch-Machin M, Lietz G, Howatson G, Stevenson EJ (2018).** A pilot study investigating reactive oxygen species production in capillary blood 2 after a marathon and the influence of an antioxidant-rich beetroot juice. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 43(3): 303-306
- Delgado-Vargas F, Jimenez A.R, Lopez O.P (2000).** Natural pigments. Carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis processing and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40: 173-289.
- Forni E, Polesello A, Montefiori D, Maestrelli A (1992).** High performance liquid chromatographic analysis of the pigments of blood-red prickly pear (*Opuntia ficus-indica*). *Journal of Chromatography. A*, 593 (1-2) : 177-183.
- Gentile C, Tesoriere L, Allegra M, Livrea M.A, D'Alessio P (2004).** Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1028 (1) : 481-486.
- Herbach K.M, Stintzing F.C, Carle R (2004).** Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya monitored by high-performance liquid chromatography- tandem mass spectrometric analyses. *European Food Research and Technology*, 219: 377-385
- Kanner J, Harel S, Granit R (2001).** Betalains – a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 5178–5185
- Kujala T.S, Loponen J.M, Klika K.D, Pihlaja K (2000).** Betalains and phenolics in red beetroot (*Beta vulgaris*) peel extracts: extraction and characterisation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48: 5338-5342
- Kujawska M, Ignatowicz E, Murias M, Ewertowska M, Mikołajczyk K, Jodynis-Liebert J (2009).** Protective effect of red beetroot against carbon tetrachloride- and N-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress in rats. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57: 2570-2575.
- Lako J, Trenerry V.C, Wahlqvist M.L, Wattanapenpaiboon N, Sotheeswaran S, Premier R (2007).** Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, 101(4):1727-1741
- Mello F.R, Bernardo C, Dias C, Conzaga L.V (2015).** Antioxidant properties, quantification and stability of betalains from pitaya (*Hylocereus undatus*) peel. *Ciência Rural*, 45(2): 323-328
- Moure A, Cruz Freire J.M, Franco Ruiz D.J, Domínguez J.M, Sineiro J, Domínguez H, Núñez M.J, Parajo J.C (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry* 72(2) :145-171
- NF T01-013 (1974).** pH-métrie – mesure électrométrique du pH au moyen d'une électrode de verre. AFNOR.
- NF V 05-109 (1970).** Produits dérivés des fruits et légumes- Détermination conventionnelle du résidu sec soluble (méthode réfractométrique). AFNOR
- Pietrzkowski Z, Nemzer B, Sprna A, Stalica P, Tresher W, Keller R, Jiminez R, Michalowski T, Wybraniec S (2010).** Influence of betalin-rich extracts on reduction of discomfort associated with osteoarthritis. *New Medecine*, 1:12-17
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 : 1231-1237.
- Sáenz C. (2006).** Utilización agroindustrial del nopal. Rome: FAO, 165 p. (Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO, n. 162).

- Stintzing, F.C, Schieber,A, Carle R (2000).** Cactus pear – a promising component to functional food. Fruit, Vegetable and Potato Processing, 85: 40-47
- Stintzing F.C., Schieber A., Carle R (2003).** Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. European Food Research and Technology, 216: 303-311
- Stintzing F.C, Conrad J, Klaiber I, Beifuss U, Carle R (2004).** Structural investigations on betacyanin pigments by LC NMR and 2D NMR spectroscopy. Phytochemistry, 65: 415
- Stintzing F.C, Carle R (2004).** Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. Trends in Food Science & Technology, 15; 19-38.
- Stintzing F.C, Herbach K.M, Mosshammer M.R, Carle R, Yi W, Sellappan S, Akoh C.C, Bunch R, Felker P (2005).** Color, betalain pattern and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 53: 442-451.
- Tang C.S, Norziah M.H (2007).** Stability of betacyanin pigments from red purple pitaya fruit (*Hylocereus polyrhizus*) : influence of pH, temperature, metal ions and ascorbic acid. Indonesian Journal of Chemistry, 7 (3) : 327-331
- Tinsson W. (2010).** Plans d'expérience : constructions et analyses statistiques. Springer, 1st Edition.
- Vaillant F, Perez A, Davila I, Dornier M, Reynes M (2005).** Colorant and antioxidant properties of red-purple pithaya (*Hylocereussp*). Fruits, 60, 1-10
- Vegara S, Martí N, Lorente J, Coll L, Streitenberger S, Valero M, Saura D (2014).** Chemical guide parameters for *Punica granatum* cv. 'Mollar' fruit juices processed at industrial scale. Food Chemistry, 2014, 147, 203–208
- Winkler C, Wirleitner B, Schroecksnadel K (2005).** In vitro effects of beet root juice on stimulated and unstimulated peripheral blood mononuclear Cells. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 1:180
- Wootton-Beard, P.C, Moran, A, Ryan, L (2011).** Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after *in vitro* digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. Food. Research International, 44: 217–224.
- Yeddes N, Chérif J.K, Guyot S, Sotin H, Ayadi M.T (2013).** Comparative study of antioxidant power, polyphenols, flavonoids and betacyanins of the peel and pulp of three Tunisian *Opuntia* forms. Antioxidants, 2: 37-51
- Yildirim A, Mavi A, Kara A (2001).** Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 49 : 4083-4089
- Zakharova N, Petrova T (1998).** Relationships between the structure and antioxidant activity of certain betalains. Applied Biochemistry and Microbiology, 34 : 182-185