



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريبريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Analyses et contrôles de qualité des denrées alimentaires

## Thème

**Evolution de la qualité de jus d'orange en fonction des  
conditions de conservation**

Présenté par : - Hassina BERGHEUL

- Mouna HABIS

- Sara LAIB

Devant le jury :

Président : Pr. A. Bentabet

Pr (Univ. El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)

Encadrant: Dr. T. Boubellouta

MCB (Univ. El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)

Examineur : M. N. Sedrati

MAA (Univ. El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)

Année universitaire : 2014/2015

## ملخص

يعتبر عصير البرتقال من بين المشروبات الأكثر استهلاكاً في العالم، لهذا اقتصرنا على تجميع نوعية العصير بدلالة الزمن ودرجة الحرارة، وقد اخترنا لذلك عينتين أ و ب موضوعة في درجتي حرارة مختلفة 4 و 20 °م خلال 15 يوماً .

بينت النتائج الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية تغيرات في الفيتامين س و اللون، كما تتكاثر الفطريات والخمائر، FTAM، و البكتيريا اللبنية ابتداءً من اليوم السابع و les coliformes ابتداءً من اليوم العاشر .

أكدت لنا هذه النتائج وجود انخفاض في الجودة الغذائية و الصحية بعد أسبوع من حفظ العصير .

**الكلمات المفتاحية:** عصير البرتقال الجودة الغذائية، الصحية، الحفظ، الزمن، الحرارة .

## Abstract

Orange juice is considered among the most consumed beverages in the world. We conducted this study to assess the quality of orange juice depending on storage conditions (time and temperature). Two samples A and B were selected and stored at two different temperatures (4 and 20 ° C) for 15 days. Physicochemical and microbiological analyzes were performed on the samples. The results indicate variations in the vitamin C content, browning, viscosity for Ech A which was well above the norm and developments of LAB from 1 to 2.2 x10<sup>4</sup> cfu / ml pour samples stored 20 ° C and 1.2 to 2.9x 10<sup>4</sup>UFC / ml for samples at 4 ° C, FTAM x10<sup>5</sup> 7 for samples stored at 20 ° C and 2.5 x10<sup>5</sup> CFU / ml for samples at 4 ° C. , Yeasts and molds 1x 10<sup>6</sup> CFU / ml for Ech.A and 5x10<sup>5</sup> CFU / ml for Ech.B from 7th day, while coliforms tend to increase from the 10th day. These results show that there is a deterioration in the organoleptic and hygienic quality after a week of conservation.

**Key words:** Orange juice, organoleptic , hygienic quality, conservation, time, temperature

## Résumé

Le jus d'orange est considéré parmi les boissons les plus consommées dans le monde. Nous avons réalisé cette étude pour évaluer la qualité de jus d'orange en fonction des conditions de conservation (temps et température). Deux échantillons A et B ont été choisis et entreposés à deux différentes températures (4 et 20°C) pendant 15 jours. Des analyses physicochimiques et microbiologiques ont été effectuées sur les échantillons. Les résultats obtenus indiquent des variations de la teneur en vitamine C, du brunissement , de viscosité pour l'Ech A qui a était très supérieur à la norme et des développements des LAB de 1 à 2,2 x10<sup>4</sup> UFC/ml pour les échantillons entreposés à 20°C et de 1,2 à 2,9x 10<sup>4</sup>UFC/ml pour les échantillons à 4°C, FTAM de 7 x10<sup>5</sup> pour les échantillons conservés à 20°C et 2,5 x10<sup>5</sup> UFC/ml pour les échantillons à 4°C, Levures et moisissures 1x 10<sup>6</sup> UFC/ml pour l'Ech.A et 5x10<sup>5</sup> UFC/ml pour l'Ech.B à partir de 7<sup>ème</sup> jour, alors que les coliformes ont tendance a augmenter dès le 10<sup>ème</sup> jour. Ces résultats montrent qu'il y a une détérioration de la qualité organoleptique et hygiénique après une semaine de la conservation.

**Mots clés:** Jus d'orange, qualité organoleptique, hygiénique, conservation, temps, température.





## *Remerciement*

*Avant tout, on remercie Dieu le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la force, la persistance et de nous avoir permis de finaliser ce travail dans de meilleurs conditions.*

*On tient à remercier notre promoteur **Dr. Boubellouta T**, pour l'honneur qu'il nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.*

*On adresse notre reconnaissance au **Pr. Ghoul** pour son soutien et ses efforts, au **Dr. Bettache, M. Meribai** qui nous ont beaucoup aidé.*

*A **M. Rebai** chef du laboratoire de phytopathologie, à **M. Makhoukh** chef du laboratoire de biochimie, de nous avoir accueilli, et aussi pour leurs conseils, et leurs implication durant le stage.*

*On adresse nos remerciements les plus sincères à **Pr. Bentabet** pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury.*

*On tient à remercier profondément **M. Saderati**, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*





*Dédicace*

*Je dédie ce mémoire*

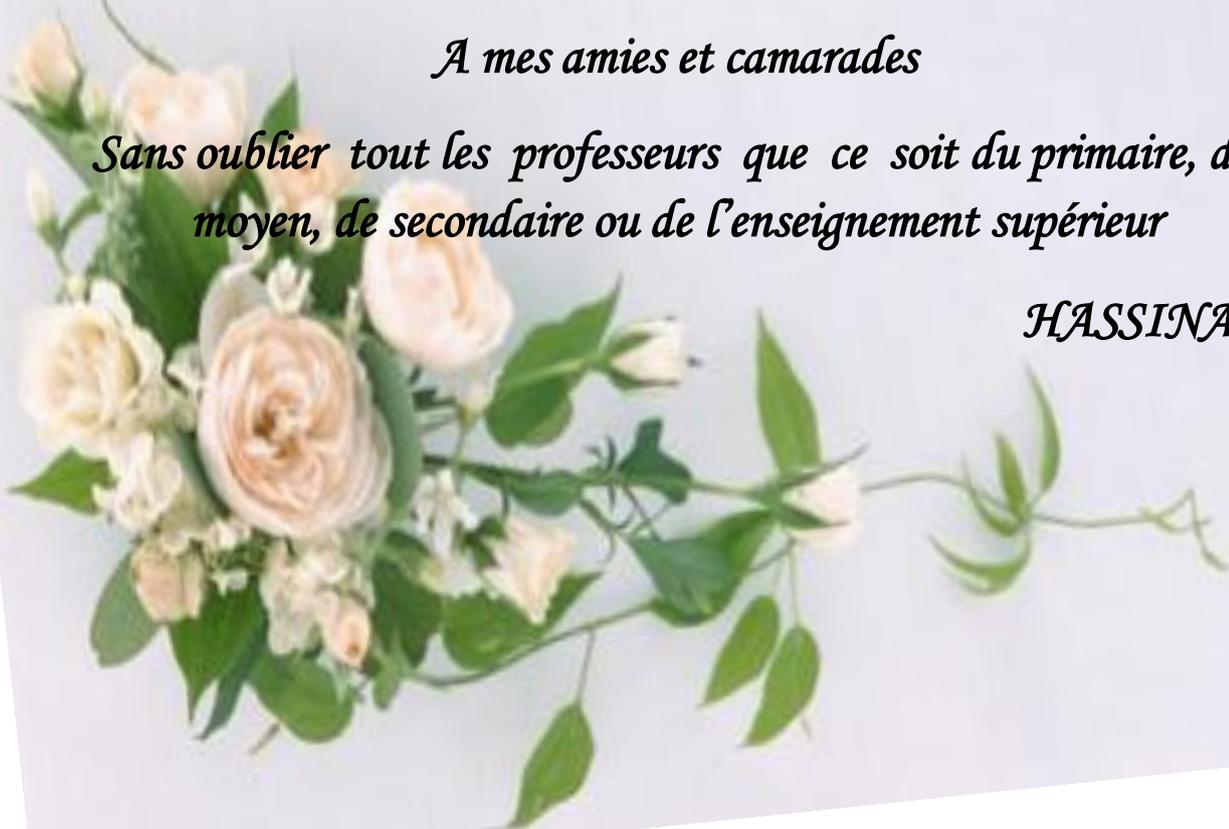
*A mes chers parents, ma mère et mon père  
Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur  
encouragement*

*A mes frères: Ishak et Bilal*

*A mes sœurs: Ibtissem et Nedjma*

*A mes amies et camarades*

*Sans oublier tout les professeurs que ce soit du primaire, du  
moyen, de secondaire ou de l'enseignement supérieur*



*HASSINA ☺*

## *Dédicace*

*C'est avec toute l'ardeur de mes sentiments que je dédie ce  
modeste travail qui est le fruit de ma profonde  
reconnaissance à :*

*Mes parents, que dieu les gardes et les protèges.*

*A mon mari Hamza qui m'encourage et m'aider toujours*

*« MERCI »*

*Mes chère frères Oussama et Aymen.*

*Ma chère sœur Manel.*

*Ma belle-mère.*

*Mes belles sœurs et bons frères.*

*Ma très chère amies : Safya, Imane, Sara, Meriem et*

*Karima.*

*Familles : HABIS, IFTEN et HADDOUCHE.*

*. Mes enseignants et mes amis de l'étude.*

*Tous ceux que j'aime dans le monde.*

*Mouna*



---

## Dédicace

---

*Je dédie ce modeste travail à Mes parents mon trésor dans  
cette vie*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon  
respect, mon amour éternel et ma considération  
pour les sacrifices que vous avez consentis  
pour mon instruction et mon bien être*

***Abbas Laib  
Nouara Mostefai***

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant  
formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices,  
bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.  
Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé,  
bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais  
je ne vous déçoive.*

*A Mon frère **Yacine Laib**  
En témoignage de mon affection  
fraternelle, de ma profonde tendresse et  
reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de  
bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous  
protège et vous garde.*

*A MON CHER grand père  
**Ahemed Mostefai***

***A TOUTE LA FAMILLE LAIB et  
MOSTEFAI***



***Sarah***





## *Sommaire*

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des annexes**

**Introduction générale** 1

---

### **Partie théorique**

#### **Chapitre I. Jus d'orange**

---

I.1. Généralités sur l'orange .....	2
I.2. Compositions biochimiques de l'orange .....	2
I.3. Jus d'orange .....	3
I.3.1. Définition .....	3
I.3.2. Les catégories de jus de fruit .....	3
I.3.3. Compositions chimiques de jus d'orange .....	3
I.3.4. Procédé de fabrication de jus d'orange .....	4
I.3.4.1. Triage et lavage des oranges .....	5
I.3.4.2. Extraction du jus .....	5
I.3.4.3. Raffinage et centrifugation .....	5
I.3.4.4. Pasteurisation .....	5
I.3.4.5. Conditionnement .....	6
I.4. Agents d'amélioration de la qualité de jus d'orange .....	6
I.4.1. Additifs.....	6
I.4.2. Epississants et gélifiants .....	7
I.4.3. Colorants.....	7
I.4.4. Vitamines.....	7
I.4.5. Conservateurs chimiques.....	7
I.5. Innovation dans les outils de gestion de la sécurité et la technologie alimentaires .....	8
I.5.1. Sécurité sanitaire dans le secteur agro-alimentaire en Algérie.....	8

---

I.5.2. Hazard Analysis Critical Control Points (HACCP).....	8
I.6. Caractéristiques de jus d'orange.....	9
I.6.1. Brunissement enzymatique .....	9
I.6.2. Brunissement non enzymatique.....	9
I.6.3. Influence des conditions de stockage sur la qualité de jus d'orange.....	9
I.6.3.1. Influence des conditions de stockage sur la teneur en vitamine C et la production du furfural .....	10
I.6.3.2. Effet du procédé de fabrication et du stockage sur la stabilité de la vitamine C .....	10
I.6.3.3. Influence des conditions de stockage sur le flaveur de jus d'orange .....	11
I.6.3.4. Effet de la température sur la qualité de jus d'orange.....	12
I.6.4. Scalping.....	12
I.6.5. Altération microbienne.....	13

---

**Partie expérimentale**  
**Chapitre II. Matériel et méthodes**

---

II. Matériels et méthodes .....	16
II.1. Choix de variété de jus d'orange.....	16
II.2. Compositions nutritionnelle des jus.....	16
II.2. 1. Compositions de l'Ech A.....	16
II.2.2. Compositions de l'Ech B.....	16
II.3. Echantillonnage .....	17
II.3.1. Préparation des échantillons.....	17
II.4. Méthodes d'analyses .....	18
II.5. Analyses physico-chimiques.....	18
II.5.1. Détermination du pH. ....	18
II.5.2. Détermination de la densité .....	19
II.5.3. Détermination de conductivité .....	19
II.5.4. Détermination de la viscosité .....	19
II.5.5. Détermination de degré de Brix .....	19
II.5.6. Détermination de l'acidité titrable .....	19

---

II.5.7. Détermination de la vitamine C .....	19
II.5.8. Détermination de la teneur en sucres totaux.....	19
II.5.9. Détermination de degré de brunissement.....	20
II.5.10. Détermination de taux de cendres .....	20
II.6. Analyses microbiologiques.....	20
II.6.1. Intéret de la bactériologie alimentaire .....	20
II.6.2. Préparation des échantillons et cultures microbiennes .....	20
II.6.2.1. Techniques de dilution .....	20
II.6.2.2. Préparation des milieux de culture .....	21
II.6.3. Numération des germes.....	21
II.6.3.1. Numération de la flore totale aérobie mésophile.....	21
II.6.3.2. Dénombrement des levures et moisissures.....	21
II.6.3.3. Dénombrement des bactéries lactiques.....	22
II.6.3.4. Numération des coliformes totaux.....	22
II.6.3.5. Numération des <i>Clostridia</i> sulfito-réducteurs.....	23
II.6.3.6. Recherche de <i>Salmonella</i> spp.....	23
II.7. Analyses statistiques.....	24

---

### Chapitre III. Résultats et discussions

---

III.1. Qualité physico-chimique.....	25
III.1.1. Détermination du pH.....	25
III.1.2. Détermination de la densité.....	25
III.1.3. Détermination de la conductivité .....	25
III.1.4. Détermination de la viscosité.....	26
III.1.5. Détermination du degré de Brix.....	27
III.1.6. Détermination de l'acidité.....	27
III.1.7. Détermination de la vitamine C.....	28
III.1.8. Détermination de la teneur en sucres totaux.....	28
III.1.9. Détermination du degré de brunissement.....	29

---

III.1.10. Détermination de la teneur en cendres.....	30
III.2. Analyses statistiques.....	30
III.2.1. Viscosité.....	30
III.2.1.1. Comparaison entre l'échantillon A et B à 20°C.....	30
III.2.1.2. Comparaison entre l'échantillon A et B à 4°C.....	31
III.2.2. Conductivité.....	31
III.2.2.1. Comparaison entre l'échantillon A et B à 20°C.....	31
III.2.2.2. Comparaison entre l'échantillon A et B à 4°C.....	31
III.3. Analyses microbiologiques.....	32
III.3.1. Effet de la température et du temps sur le développement des microorganismes.....	32
III.3.1.1. Levures et moisissures.....	32
III.3.1.2. Bactéries lactiques.....	33
III.3.1.3. Flore Totale Aérobie Mésophile.....	33
III.3.1.4. Colifotmes totaux.....	34
III.3.1.5. <i>Clostridia</i> sulfito-réducteurs.....	35
III.3.1.6. <i>Salmonella</i> spp.....	35
<b>Conclusion générale</b>	<b>36</b>
<b>Glossaire</b>	
<b>Références bibliographiques.</b>	
<b>Annexes</b>	

## Liste des abréviations

### Acronymes :

**AFNOR:** Association Française de Normalisation

**APAB :** Association des Producteurs Algériens de boissons.

**CMMEF:** Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods,

**d:** dilution

**Ech :** Echantillon

**FMC:** Food Machinery Corporation **FAO :** Food and Agriculture Organisation

**HACCP:** Hazard Analysis Critical Control Point

**J.O :** Journal officiel.

**MDC :** Moyenne des carrées

**NPP :** Nombre le Plus probable

**OMS :** Organisation Mondiale De la Santé

**Pb :** Probabilité

**pH :** Potentielle d'hydrogène.

**PME :** Pectine méthylestérase.

**PPO :** Polyphénol oxydase

**S. V :** Source des variations

**SCE :** Somme des carrées.

**SCE<sub>r</sub>:** Variabilité intrer- groupes

**SCE<sub>i</sub>:** Variabilité intra -groupes

**TIA :** Toxi-infection-alimentaire.

**UIJFN :** Union Interprofessionnelle des Jus de Fruits et Nectars

### Milieus de cultures :

**BCPL :** Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol.

**EPT:** Eau peptoné tamponée

**MRS:** Man Rogosa Sharpe

**PCA:** Plate Count Agar

**VF :** Viande- Foie

**VRBG :** violet cristal, rouge neutre, bile, glucose

### Noms de genres bactériens :

**CF :** Coliformes fécaux

**CT :** Coliformes totaux

**LAB:** Lactic Acid Bacteria

**S:** *Salmonella*



## *Liste des figures*

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>Figure 01:</b>	Coupe équatoriale d'une orange.....	2
<b>Figure 02:</b>	Procédé de fabrication du pur jus et du concentré d'orange. ....	4
<b>Figure 03:</b>	Filtration des échantillons.....	17
<b>Figure 04:</b>	Procédure expérimentale adoptée .....	18
<b>Figure 05:</b>	Variation de la conductivité en fonction de la température et du temps.....	26
<b>Figure 06:</b>	Variation de la viscosité en fonction de la température et du temps.....	26
<b>Figure 07:</b>	Variation de l'acidité en fonction de la température et du temps.....	27
<b>Figure 08:</b>	Variation e la vitamine C en fonction de la température et du temps.....	28
<b>Figure 09:</b>	Variation de degré de brunissement en fonction de la température et du temps...	29
<b>Figure 10:</b>	Variation de taux de cendre en fonction de la température et du temps.....	30
<b>Figure 11:</b>	Evolution des numérations fongiques en fonction de la température et du Temps .....	32
<b>Figure 12:</b>	Evolution des numérations de la flore lactique en fonction de la température et du temps.....	33
<b>Figure 13:</b>	Evolution des numérations de FTAM en fonction de la température et du temps .....	34
<b>Figure 14:</b>	Evolution des numérations des coliformes totaux en fonction de la température et du temps.....	35

## ***Liste des tableaux***

<b>Tableaux</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>Tableau 01</b>	Compositions biochimiques de l'orange.....	3
<b>Tableau 02:</b>	Compositions chimiques de jus d'orange.....	4
<b>Tableau 03:</b>	Les valeurs nutritionnelles de jus A et B.....	17
<b>Tableau 04:</b>	Variation du pH en fonction de la température et du temps.....	25
<b>Tableau 05:</b>	Valeurs de la densité en fonction de la température et du temps.....	25
<b>Tableau 06:</b>	Degré de Brix des échantillons en fonction du temps.....	27
<b>Tableau 07:</b>	Teneur en sucres totaux en fonction du temps.....	29
<b>Tableau 08:</b>	Analyse de variances de l'échantillon A et B à 20°C.....	30
<b>Tableau 09:</b>	Analyse de variances de l'échantillon A et B à 4°C.....	31
<b>Tableau 10:</b>	Analyse de variances de l'échantillon A et B à 20°C.....	31
<b>Tableau 11:</b>	Analyse de variances de l'échantillon A et B à 4°C.....	31

## Liste des annexes

---

<b>Annexes</b>	<b>Titres</b>
<b>Annexe N° 01</b>	Textes réglementaires.
<b>Annexe N° 02</b>	Préparation des solutions chimiques.
<b>Annexe N° 03</b>	Détermination du pH.
<b>Annexe N° 04</b>	Détermination de la densité et de la conductivité.
<b>Annexe N° 05</b>	Détermination de la viscosité.
<b>Annexe N° 06</b>	Mesure de degré de Brix.
<b>Annexe N° 07</b>	Détermination de l'acidité.
<b>Annexe N° 08</b>	Détermination de la vitamine C.
<b>Annexe N° 09</b>	Taux de sucre.
<b>Annexe N° 10</b>	Degré de brunissement.
<b>Annexe N° 11</b>	Détermination de taux de cendre.
<b>Annexe N° 12</b>	Fiche technique des bactéries lactiques.
<b>Annexe N° 13</b>	Fiche technique des <i>Leuconostocs</i> .
<b>Annexe N° 14</b>	Fiche technique des Coliformes.
<b>Annexe N° 15</b>	Fiche technique des <i>Clostridium</i> .
<b>Annexe N° 16</b>	Fiche technique des Salmonelle.
<b>Annexe N° 17</b>	Milieux de cultures.
<b>Annexe N° 18</b>	Préparation des dilutions.
<b>Annexe N° 19</b>	Préparation des milieux de cultures.
<b>Annexe N° 20</b>	Dénombrement des FTAM.
<b>Annexe N° 21</b>	Dénombrement des levures et moisissures.

**Annexe N° 22** Dénombrement des bactéries lactiques.

**Annexe N° 23** Dénombrement des coliformes totaux.

**Annexe N° 24** Dénombrement des *Clostridia* sulfito-réducteurs.

**Annexe N° 25** Dénombrement des salmonelles.

**Annexe N° 26** La numération bactérienne.

## ***Introduction générale***

Les fruits ont une place importante dans notre alimentation quotidienne. Ils nous apportent de nombreux éléments indispensables au bon fonctionnement de notre organisme.

Les jus de fruits conservent une majeure partie de ces propriétés, ils peuvent remplacer un fruit lors d'une collation ou d'un repas.

Ils sont appréciés et recommandés à tout âge tels que : nourrissons, enfants, personnes âgées, y compris les sportifs, et pour chacun, le plaisir d'une boisson délicieuse et vitale (Anonyme, 2000).

Le jus d'orange est le jus prédominant fabriqué par l'industrie agroalimentaire dans le monde entier et il est consommé en quantités relativement élevées dans de nombreux pays, en raison de son agréable goût et teneur élevée en acide ascorbique.

Toutefois, le jus est moins stable au cours de sa conservation et sa qualité peut devenir non acceptable. Il est soumis à un certain nombre de réactions de détérioration, y compris le changement de couleur, de texture, la dégradation de la vitamine C, la contamination microbienne, qui contribuent toutes à une perte importante de la qualité marchande aussi bien hygiénique (Djadi, 1987).

Cependant, le consommateur souhaite de plus en plus des jus de haute qualité, qui ressemblent au niveau organoleptique au jus frais pressé chez soi, et qui lui garantissent une bonne qualité nutritionnelle.

Les industriels de l'agro-alimentaire doivent répondre aux préoccupations et aux exigences des consommateurs. Pour cela, ils cherchent à améliorer la qualité de la matière première tout en utilisant un procédé et un conditionnement qui préservent cette qualité, allant du procédé de fabrication jusqu'à l'évolution du produit au cours de son stockage (Berlinet, 2006).

L'industrie peut suivre le produit jusqu'à leur distribution et leur arrivée au consommateur, le rôle de consommateur commence après l'achat du produit. Comment doit-il le conserver pour qu'il puisse le consommer ?

Nous nous sommes intéressés dans notre travail au suivi de la conservation de deux jus d'orange ouverts, un plus cher dans le marché noté A et l'autre moins cher noté B, dans des conditions domestiques (temps et température) afin d'évaluer leur qualité organoleptique et sanitaire en fonction des températures de conservation (4 et 20°C).

## I.1. Généralités sur l'orange

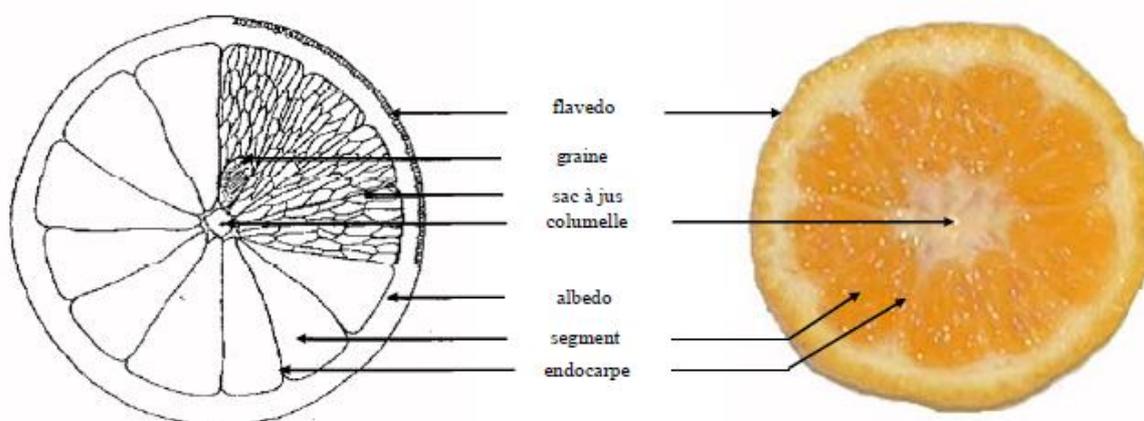
L'orange fait partie du genre *Citrus* de la famille des *Rutaceae*. Le genre *Citrus* contient deux espèces d'orange. La première (*Citrus sinensis*(L.) Osbeck, 1765), correspond aux oranges douces, la deuxième (*Citrus aurantium* (L.), 1753) correspond aux oranges amères (Kimball, 1999).

Les oranges douces (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck, 1765) sont les plus consommées. Elles sont utilisées « en fruits » et certaines variétés servent à l'élaboration des jus. Parmi cette espèce, trois catégories principales sont communément dénombrées: Oranges navels, oranges blondes, oranges sanguines.

L'orange est un agrume qui peut aussi être appelé hesperidium. L'hesperidium diffère de fruits comme la tomate ou le raisin car il possède une peau dure et solide qui protège la partie comestible du fruit (Davies et Albrigo, 1994).

L'orange constitue de :

- une couche extérieure colorée, le flavedo, rappelant le mot « flaveur » car elle contient les glandes à huiles essentielles.
- une couche intérieure blanche et spongieuse, l'albedo (ou mésocarpe), riche en pectines.
- une partie comestible, l'endocarpe ou épiderme interne (Fig. 01).



**Figure 01:** Coupe équatoriale d'une orange (Huet, 1991).

## I.2. Compositions biochimiques de l'orange

Avec plus de 85% d'eau l'orange est un fruit désaltérant. C'est dans cette eau de constitution que se trouvent sous forme dissoute les principaux éléments nutritifs (Tab. 01) (Albrigo, 1970).

**Tableau 01:** Compositions biochimiques de l'orange (Albrigo, 1970).

Composants	Contenance
Glucides	8.5 à 12%
Acides organiques	1.2 % (acide citrique et un peu d'acide malique).
Vitamines	dominé par une teneur en vitamine C
Minéraux	40mg/ 100g
Pigments	Anthocyanes

### I.3. Jus d'orange

#### I.3.1. Définition

Un jus de fruit est le jus obtenu à partir de fruits par des procédés mécaniques fermentescibles mais non fermentés, possédant la couleur, l'arôme et le goût caractéristiques des fruits dont il provient (Cailhol et Grosselin, 2004).

#### I.3.2. Les catégories de jus de fruit

Dans le dernier décret français n° 2003-838 du premier septembre 2003 qui reprend la directive européenne 2001/112/CE, les différentes appellations réglementées de jus de fruits sont :

- Pur jus.
- Jus de fruits obtenu à partir d'un concentré.
- Jus de fruits concentré.
- Jus de fruits déshydraté/en poudre.
- Nectar de fruits.

#### I.3.3. Compositions chimiques de jus d'orange

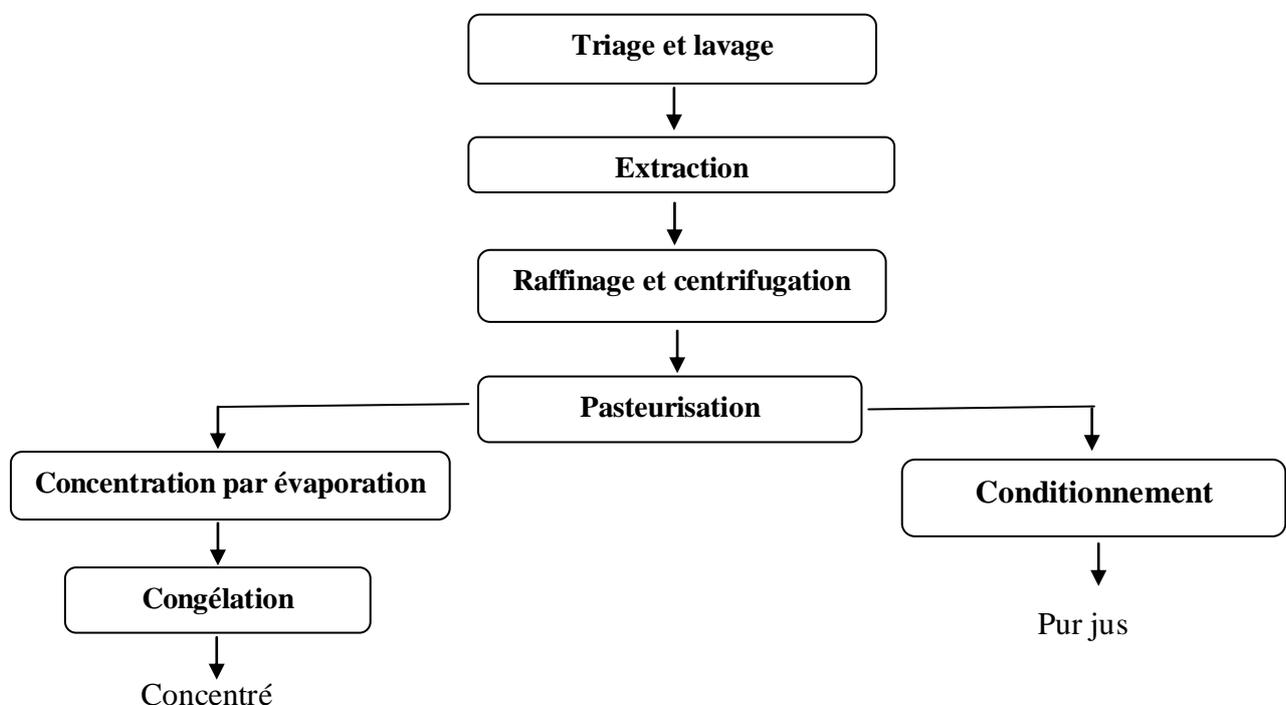
Le jus d'orange est contenu d'environ 76% de la matière sèche hydrosoluble, Il est constitué principalement par des glucides et 21% d'acides organiques, d'acides aminés, de sels minéraux, de vitamines et de lipides. Le 3% restant est constitué par un grand nombre de composés divers: les flavonoïdes, les composés volatiles, les caroténoïdes, etc., qui ont une influence importante sur les propriétés sensorielles de ce produit (Tab. 02) (Hendrix et Redd, 1995).

**Tableau 02:** Compositions chimiques de jus d'orange (Ahmed et al., 1978).

Constituants	Quantité en g par 100g de jus
Glucides	10,0 – 12,0
Protéines	0,58 – 1,29
Lipides	0,00 – 0,56
Cendres	0,25 – 0,48
Composés volatils	$30,0 \cdot 10^{-3}$ – $45,0 \cdot 10^{-3}$
Flavonoïdes	$80,0 \cdot 10^{-3}$ – $118,0 \cdot 10^{-3}$
Acide ascorbique	$44,5 \cdot 10^{-3}$ – $68,8 \cdot 10^{-3}$
b-carotène	$0,04 \cdot 10^{-3}$ – $0,37 \cdot 10^{-3}$
Acide citrique	0,5 – 1,1
Sels minéraux	des traces

### I.3.4. Procédé de fabrication du jus d'orange

L'industrie de jus d'orange comporte un grand nombre d'opérations qui peuvent se regrouper en trois filières: la production agricole, l'industrie d'extraction et de conditionnement et la filière de stockage, transport et commercialisation de jus conditionné. La Figure 02 représente les différentes étapes de fabrication d'un pur jus d'orange et d'un concentré (Berlinet, 2006).

**Figure 02:** Procédé de fabrication du pur jus et du concentré d'orange (Berlinet, 2006).

#### **I.3.4.1. Triage et lavage des oranges**

Les fruits destinés à la production de jus seront propres et sans maturité excessive. Le rendement en jus que l'on peut obtenir oscille entre 60 et 80%. Il peut être différent d'une variété à l'autre, mais dépendra surtout du degré de maturité des fruits. Des fruits trop mûrs feront sensiblement chuter le rendement.

Les opérations de broyage et de pressurage se succéderont rapidement afin de limiter au maximum l'oxydation des fruits broyés (Anonyme, 2000).

#### **I.3.4.2. Extraction du jus**

Deux technologies d'extraction de jus adaptées sont le plus souvent utilisées: l'extracteur Brown et le procédé FMC (Food Machinery Corporation).

Dans le procédé Brown, les oranges sont coupées en deux puis pressées à l'aide de deux demi-sphères perforées, l'une concave et l'autre convexe. L'extracteur Brown effectue un « fraisage » de chaque partie du fruit.

Dans le procédé FMC, une coupelle supérieure descend et pousse le fruit sur le couteau circulaire inférieur. Les coupelles maintiennent le fruit. Les constituants intérieurs du fruit sont aspirés dans le tube tamis par le mouvement descendant du piston. Les particules trop grosses (pépins...) sont éliminées par le centre, creux, du piston. Le procédé FMC est le procédé le plus utilisé: son intérêt majeur est qu'il permet la récupération des huiles essentielles pendant le procédé d'extraction du jus (Berlinet, 2006).

#### **I.3.4.3. Raffinage et centrifugation**

Le jus d'orange, après extraction, est très pulpeux et contient des morceaux de pépins et autres impuretés. Il passe alors par une étape de raffinage, appelée en anglais « finishing ». Enfin, avant le traitement thermique, le jus est chauffé à 50°C dans des échangeurs de chaleur tubulaires puis soumis à un procédé de désaération dans des tanks sous vide. Cette opération présente l'intérêt pour l'industriel d'éviter la formation de mousse et d'éviter l'oxydation du produit. Le jus une fois dégazé ne doit pas être stocké plus d'une heure avant l'étape suivante de pasteurisation (Berlinet, 2006).

#### **I.3.4.4. Pasteurisation**

Utilisation d'un traitement thermique visant à inactiver les enzymes (comme la pectine méthylestérase (PME) ou lipolyphénoloxydase) et à tuer les microorganismes qui pourraient altérer le jus. Les levures, responsables de la fermentation, sont détruites à la température de 68° C. Cependant, afin de pallier à un défaut de l'homogénéité de température du jus ou de la

précision du thermomètre, le jus se chauffe à la température de 75°C. Une élévation supérieure de la température dénaturerait le jus qui perdrait alors ses qualités gustatives et nutritionnelles (Anonyme, 2000).

Les conditions traditionnelles de pasteurisation commerciales pour restreindre la croissance microbienne dans les jus de fruits varient selon les installations et le type de jus. En général, on applique une gamme entre 85 à 95°C pendant 15 à 60 secondes pour une pasteurisation sévère et entre 66 à 75°C pendant 10 à 16 secondes pour une pasteurisation légère.

Après le traitement thermique, le jus est refroidi rapidement par un système d'échange de chaleur et il est porté à une température de 2°C.

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

#### **I.3.4.5. Conditionnement**

Le jus décontaminé est conditionné en emballage individuel (produit fini), ou bien en vrac: fûts (aseptiques ou congelés), bins (emballages aseptiques de 1000 litres), cuves, citerne. Les jus en vrac seront livrés aux élaborateurs de produits finis qui effectuent le conditionnement final, suite à une re-pasteurisation du jus (Aurélié, 2010).

Le mode de conditionnement aseptique a été de plus en plus adopté par les producteurs. Pour augmenter la longévité des produits finis et réduire les pertes, les jus de fruits peuvent être conditionnés aseptiquement ou entreposés et distribués dans des conditions réfrigérées proche du point de congélation du produit jusqu'à sa commercialisation au détail. Les jus de fruits sont conditionnés dans des emballages variés: le contenant en verre (malléable), la bouteille en plastique (composé de polyéthylène ou de polychlorure de vinyle) ou en combinaison de plastique, de papier et d'aluminium.

Les matériaux utilisés pour le conditionnement sont fabriqués de manière à pouvoir garantir une stabilité et une protection aux aliments (Claveau, 2009).

### **I.4. Agents d'amélioration de la qualité de jus d'orange**

**I.4.1. Additifs:** Sont des substances ajoutées en petite quantité, permettent notamment d'aider à la conservation en empêchant la présence et le développement de microorganismes indésirables (par exemple moisissures ou bactéries responsables d'intoxications alimentaires).

Ils permettent:

- D'éviter ou de réduire les phénomènes d'oxydation qui provoquent entre autres le

rancissement des matières grasses ou le brunissement des fruits et légumes coupés. On les appelle anti-oxygène ou antioxydants.

- D'améliorer la présentation ou la tenue, on les appelle agents de texture (émulsifiants, stabilisants, épaississants, gélifiants).
- De conférer ou de renforcer une coloration aux aliments. Les additifs s'appellent dans ce cas les colorants.

**1.4.2. Épaississants et gélifiants:** épaissir, gélifier, stabiliser font appel, dans l'industrie agroalimentaire, à une série de composés hydro colloïdes qui constituent une gamme complète sur le marché international. Ces polysaccharides ont une origine très variée, mais présentent des fonctions identiques: rétention d'eau, structuration du milieu environnant, propriétés mécaniques et rhéologiques.

**1.4.3. Colorants:** caroténoïdes (E160a): il s'agit de pigments de couleur jaune, orange et rouge précurseurs de la vitamine A. Rencontrés dans les végétaux: fruits (orange), légumes (carottes), ou chez certains animaux (homards).

**1.4.4. Vitamines:** l'ajout des vitamines dans les boissons aux fruits peut avoir plusieurs objectifs:

- Ajout pour restaurer dans la boisson la qualité initialement présente et perdue.
- Lors du processus de fabrication.
- Ajout pour enrichir la boisson en vitamine et communiquer sur cette valeur.
- Ajout auprès du consommateur (impact marketing).
- Ajout de vitamine en tant que colorant.
- Ajout de vitamine en tant qu'antioxydant pour assurer une meilleure conservation de la boisson au cours de son vieillissement (Apab, 2011).

**1.4.5. Conservateurs chimiques:** il existe différentes sortes de conservateurs chimiques qui peuvent être ajoutés au jus de fruits. L'acide sulfurique (0.005-0.2 %) inhibe les levures, les champignons et les bactéries. Le dioxyde de soufre est généralement utilisé pour conserver la couleur des fruits pendant le séchage. L'acide ascorbique et le sorbate de potassium sont généralement utilisés pour inhiber la prolifération des champignons et de levures. L'acide benzoïque (0.03-0.2 %), sous la forme de benzoate de sodium, est un conservateur couramment utilisé, et il est bien adapté pour des utilisations dans des aliments acides. Il est souvent utilisé en association avec de l'acide ascorbique, à des taux de 0.05-0.1 % du poids. L'acide citrique est largement utilisé dans les boissons gazeuses, mais aussi comme acidifiant dans les aliments. C'est un des agents anti microbiens les moins efficaces parmi les autres acides (Azam-Ali, 2008).

## **I.5. Innovations dans les outils de gestion de la sécurité et la technologie alimentaires**

### **I.5.1. Sécurité sanitaire dans le secteur agro-alimentaire en Algérie**

Le secteur des industries agroalimentaires est en renouvellement permanent sous l'effet conjugué des exigences du consommateur en matière de qualité des produits alimentaires et de l'évolution continue de la législation en matière de sécurité sanitaire des denrées alimentaires.

Diverses entreprises relevant des filières de boisson, ont bénéficié d'une assistance technique du programme. L'appui a été principalement axé sur:

- La mise en place de dispositifs, Hazard Analysis Critical Control Point / Analyse des dangers - points critiques pour leur maîtrise) (HACCP).
- La mise en place de systèmes de management de la qualité selon le référentiel ISO 9001-2008.
- La mise en place de système de management de la sécurité sanitaire en vue d'une certification ISO22000.
- La définition de nouveaux processus de fabrication.

Dans le but de mieux informer les entreprises concernées sur les enjeux de la sécurité sanitaire des denrées alimentaires, le programme leur a dédié plusieurs journées de sensibilisation organisées à travers le territoire national (Apab, 2011).

### **I.5.2. Hazard Analysis Critical Control Point: HACCP**

HACCP désignant: analyse des dangers et points critiques pour leur maîtrise, est un système préventif désigné pour l'élimination ou la miniaturisation des dangers biologiques, chimiques et physiques basé sur une approche de la gestion de la sécurité alimentaire axée sur le bon sens. Il recherche les dangers, puis prévoit des contrôles pour que le produit ne soit pas nuisible pour le consommateur.

Bien qu'il requière l'acquisition d'un certain niveau d'expertise, l'HACCP n'est qu'une démarche logique fondée sur une compréhension approfondie du produit, matière première et procédés, ainsi que les facteurs environnants.

Ce système prévient les dangers pour la salubrité des aliments grâce à l'exercice d'un contrôle tout au long du processus de fabrication, à des étapes critiques, permettant aux exploitants de détecter et de maîtriser les dangers avant que leurs produits ne soient distribués.

Le secteur des agrumes comme tout autre secteur de l'industrie agro-alimentaire a

connu des grands progrès ces dernières années en passant du simple fruit, aux produits de plus en plus élaborés et valorisés. Pour cette raison, il était nécessaire d'implanter un système rigoureux et efficace, permettant aux industriels d'atteindre une production maximale tout en maîtrisant la sécurité et l'innocuité de leurs produits. (Lombard, 2004).

## **I.6. Caractéristiques du jus d'orange**

### **I. 6.1. Brunissement enzymatique**

Correspond la transformation par l'intermédiaire de système spécifique des composés phénoliques en polymère colorés, le plus souvent en brun ou noir sous l'action d'une enzyme: le polyphénol oxydase (PPO) (Djadi, 1987).

### **I.6.2. Brunissement non enzymatique**

Le brunissement non enzymatique ou la réaction de Maillard se produisent au cours de traitements thermiques ou durant la conservation prolongée des aliments. Ces réactions ont une importance considérable dans l'industrie alimentaire, car elles sont responsables de la formation de pigments bruns et des modifications de l'arôme et de la saveur des aliments (Richard, 1992). La réaction de Maillard est l'ensemble des interactions résultant de la réaction initiale entre un sucre réducteur et un groupement aminé. Elle peut aussi donner naissance à des composés cancérigènes et également réduire la valeur nutritionnelle des aliments en dégradant des acides aminés essentiels (Machiels et Istasse, 2002).

Yu et coll, (1974) ont étudié le brunissement non enzymatique de l'acide ascorbique stocké à des températures de 44 à 72°C. Les résultats de cette étude ont montré que la perte en vitamine C est minimisée par l'addition de la cystéine. Dans une autre étude, Friedman et Molnar-Perl, (1990) ont trouvé que la cystéine, la N-acétyl-cystéine et le glutathion sont des inhibiteurs efficaces contre le brunissement de la réaction de Maillard à partir des concentrations respectives de 0,02 ; 0,05 et 0,2 moles par mole de D-glucose. Molnar-perl et Friedman, (1990) ont rapporté que ces mêmes acides aminés sont efficaces contre le brunissement enzymatique des jus frais, des jus de fruits traités notamment le jus d'orange chauffé à 100°C pendant 120 minutes et dont le pH est ajusté à 7 stocké à différentes températures.

### **I.6.3. Influence des conditions de stockage sur la qualité du jus d'orange**

La température et le temps de stockage sont deux facteurs responsables de la perte de la qualité du jus d'orange et les modifications qui en sont les conséquences. Le jus d'orange est sujet à des variations de température et de temps de stockage pendant l'entreposage et le

transit dans les marchés en détail. Une fois acheté par le consommateur le jus peut être soumis à des différentes conditions de stockage pouvant affecter d'avantage sa qualité, dans ce cas les conditions de stockage doivent être prises par l'industrie en considération afin d'allonger «sheft life de son produit» (Djadi, 1987).

### **I.6.3.1. Influence des conditions de stockage sur la teneur en vitamine C et la production du furfural**

Une étude menée par Kefrod et *al.*, (1992) a révélé que les conditions de stockages influencent d'une manière importante la production du furfural dans le jus d'orange entreposé. Il a montré que la teneur en furfural augmente par l'effet de la température et la durée de stockage. Après une analyse de régression de la teneur en furfural sur la teneur de l'acide citrique .Nagy et Dinsmore, (1974) ont trouvé que 87 % de la variation de la teneur en furfural peuvent être expliqués par le pourcentage de l'acide citrique dans le jus. Sinclair et *al.*, (1974), ont montré que le pH du jus d'orange est directement liée à la teneur en acide libre qui est principalement de l'acide citrique Swift, ( 1974) a montré que les jus d'agrumes qui ont neutralisé ou alcalinisé ne forment aucune teneur en furfural libre, ainsi que la production du furfural varie d'une variété à une autre et d'une saison à une autre et chaque jus peut avoir des propriétés intrinsèques responsables de la différence dans le taux de la formation du furfural.

En tout état de cause, la teneur maximale du furfural pour l'acceptabilité ou le rejet ne peut pas être avancée que sur la base des essais sur chaque unité de production du jus d'orange et que cette limite peut être aussi servie comme moyen de contrôle de la qualité du jus puisque le taux de la production du furfural a été trouvé avec la dissipation de certains principes utiles (vitamine C) par exemple dans le jus d'orange.

### **I.6.3.2. Effet du procédé de fabrication et du stockage sur la stabilité de la vitamine C**

La vitamine C, ou acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble, elle a un intérêt thérapeutique très important tel que ; fabrication du collagène, vitamine C et anémie, vitamine C et hypertension etc.

La vitamine C joue un rôle actif et important dans la prévention du cancer et qu'une teneur faible en vitamine C double le risque statistique de cancer. Elle atténue les conséquences des effets secondaires de la chimiothérapie et de radiothérapie. Tout en participant elle-même à la destruction des cellules malignes, en empêchant leur multiplication .L'effet thérapeutique de la vitamine C est large qu'on ne l'imagine.

L'oxydation de l'acide ascorbique est favorisée par la température, la présence d'ions métalliques (fer et cuivre), et la teneur en oxygène dissous. Ainsi, pour la fabrication du jus à base de concentré, la qualité de l'eau utilisée (ions métalliques) est de première importance. Lors de la dilution du concentré et lors de l'ajout des fractions aromatiques, l'agitation et la vitesse de pompage doivent être soigneusement contrôlées afin de limiter l'incorporation d'oxygène dans le jus. Gil-Izquierdo et *al.*, (2002) ont mesuré les teneurs en vitamine C (acide ascorbique et déhydroascorbique) d'un jus avant et après pasteurisation à l'échelle industrielle et n'ont pas observé de pertes après un traitement à 95°C pendant 30 s. Naim et *al.*, (1997), pilote ont observé une dégradation d'acide L-ascorbique de 11 % après une pasteurisation à 90- 92°C pendant 30s. Rassis et Saguy, (1995) observent les mêmes teneurs en vitamine C avec des pasteurisations à 84, 87 et 90°C pendant 72 s. Il s'avère donc que les teneurs en vitamine C sont peu affectées par le traitement de flash-pasteurisation. L'effet de l'exposition à la lumière sur la stabilité de la vitamine C reste controversé.

Satar et *al.*,(1989) ont montré que la lumière artificielle (lumière fluorescente d'intensité 540-650 lux) avait un effet sur les pertes en vitamine C dans des jus d'orange modèles (contenant de l'acide citrique, du sucre, de l'acide ascorbique et de l'eau) stockées dans des bouteilles de verre à température ambiante (25-30°C) pendant 32 jours. Au contraire, Mottar, (1989) ne trouvait aucune influence de l'exposition à la lumière naturelle comparée à une conservation à l'obscurité totale sur la teneur en acide ascorbique du jus d'orange à 5°C et à 20°C pendant 3 mois, aussi bien avec des emballages en polypropylène qu'avec des briques en cartons. En conclusion, la température et la durée du stockage semblent être les facteurs les plus critiques favorisant la dégradation de la vitamine C. Les jus d'orange flash-pasteurisés et proposés en rayon réfrigéré puis conservés au réfrigérateur domestique pendant des temps courts permettent donc de limiter considérablement les pertes en vitamine C et l'apparition du brunissement non-enzymatique. Le brunissement des jus d'orange est l'une des réactions qui influe le plus sur les changements de qualité pendant le stockage prolongé des jus d'agrumes (Berlinet, 2006).

### **I.6.3.3. Influence des conditions de stockage sur le flaveur de jus d'orange**

De nombreuses études ont été menées pour le changement dans les composés volatils responsables de la flaveur de jus d'orange pendant le stockage à des températures variantes. Kirchner et *al.*, (1986) ont analysé le jus d'orange à des températures variantes 7° C et 20° C et 35° C et ils ont conclu que pendant le stockage au dessous de 21°C qu'il y a eu une d'hydratation de la D-limonéne et autres terpones hydrocarbonés produisant du terpinol, terpinoléne , diols et éther. Kirchner, (1986) a trouvé que lorsque la température était à 7°C, la

réaction rédominante était l'hydrolyse des ester pour former l'acide organique soluble dans la phase huileuse. Kirchner et *al.*, (1986) après une série de travaux ont conclu que les terpènes, composés volatils sont dégradés pendant le stockage produisant des alcools et des produits non volatils. Après une étude sur les produits volatils du jus d'orange. Ils ont trouvé que la teneur en furfural augmentait quand celle de linalole et d-limonène diminuait (Djadi, 1987).

#### **I.6.3.4. Effet de la température sur la qualité de jus d'orange**

Dans certains cas on peut procéder à l'élimination des substances responsables de brunissement non enzymatiques par exemple l'oxydation du glucose en acide gluconique au moyen de glucose oxydase; un reconditionnement ou l'entreposage à 20°C pendant 2 semaines qui provoque la ré-synthèse d'amidon aux dépend de sucres réducteurs. Le jus d'orange particulièrement riches en vitamine C (un des facteurs actifs du brunissement) et dont la teneur en sucres totaux et sucres réducteurs varie respectivement entre 116 à 128 g/l et de 76 à 87 g/l. Alors que, la seule solution envisageable est de ne pas soumettre le jus à des températures trop sévères et veuillez à les entreposer à des températures modérés en raisons de faibles d'énergies d'activation de certaines des réactions de brunissement non enzymatiques (Djadi, 1987).

#### **I.6.4. Scalping**

La sorption d'arôme par les emballages en plastique qui sont en contact avec le jus est dénommé " scalpage ". En raison de sa nature lipophile, la fraction d'huile de jus d'orange sera absorbée par de nombreux polymères d'emballage non polaires. Les arômes de jus ont démontré être absorbé à différents degrés, en commençant par des composés d'hydrocarbures, qui ont la plus haute affinité pour le polyéthylène basse densité (LDPE ), suivi par les cétones, les esters, les aldéhydes, et des alcools .

Les facteurs qui affectent l'absorption comprennent la taille moléculaire des composés aromatiques et des propriétés de polarité et de solubilité à la fois du polymère et les composés aromatiques. Le composé aromatique plus largement étudié par rapport à sa sorption par des polymères est limonène. Limonène est un hydrocarbure insaturé terpène présent dans le jus d'orange; il est fortement apolaire et à une haute affinité pour de nombreux matériaux d'emballage polymères. Une diminution de la teneur en limonène dans le jus d'orange stocké est attribuée à son caractère lipophile et, par conséquent, la facilité de sa diffusion dans le polymère (Gomez et *al.*, 2011).

### I.6.5. Altération microbienne

L'analyse microbiologique des produits alimentaires industriels, tels que les jus de fruits, implique la détection des contaminants spécifiques et potentiellement dangereux basés sur l'analyse des bactéries, des moisissures et des levures.

Les jus d'agrumes sont des boissons acides (environ pH 3-4) avec teneur élevée en sucre. Dans ces conditions, les bactéries, les moisissures, et levures comprennent le microbiote typique présent dans les jus d'agrumes. Les moisissures et les levures tolèrent des conditions de haute osmotiques et à faible pH et de croître à des températures de réfrigération et peuvent donc provoquer la détérioration dans le produit. Les espèces de levures typiques trouvés dans les jus d'agrumes sont *Candida parapsilosis*, *Candida stellata*, *Saccharomyces cerevisiae*, bien que les espèces du genre *Rhodotorula*, *Pichia*, *Hanseniaspora* sont également fréquents (Covadonga et al., 2002).

Le stockage de jus concentré (environ 66°Brix) dans des conditions adaptées inhibe la détérioration. Néanmoins, après reconstitution avec de l'eau (environ 11°Brix), le produit devient sensible à la contamination et à l'action de microorganismes. Quand le jus reconstitué est pasteurisé dans les dernières étapes avant l'embouteillage, la grande majorité des formes végétatives de micro-organismes sont éliminés. Cependant, les formes dormantes (spores) de certaines bactéries sont résistantes à la pasteurisation et peuvent fréquemment associées aux jus d'orange (pH acide alimentaire <4.5) incluent les microorganismes du genre *Clostridium*.

Les bactéries lactiques comprennent le groupe le plus important dans le processus de détérioration du jus de fruits; ce sont des bactéries d'altération primaire dans les boissons aux fruits; Cependant, leur nombre sont considérablement réduites après pasteurisation, la concentration et la réfrigération. Plusieurs espèces inscrites dans les genres *Lactobacillus* et *Leuconostoc* ont été signalés comme responsable de la production d'une saveur et odeur désagréable, semblable au «beurre acide ou du lait. A l'heure actuelle, il a été établi que le diacétyle produite par les bactéries lactiques est en partie responsable de cette saveur et une odeur indésirable dans le jus d'orange. Les conditions de traitement en vertu de laquelle cette substance est formée par les bactéries ne sont pas connues. Il est supposé, cependant, que l'environnement dans un certain stade de processus d'évaporation doit être particulièrement favorable pour la synthèse et l'accumulation de diacétyle. A l'appui de cette hypothèse, Hays et Riester, (1952) ont décrit les caractéristiques culturelles des espèces *Lactobacillus* et *Leuconostoc* dans le jus d'orange concentré altéré et ils ont rapporté que *Lactobacillus* est

la bactérie la plus prédominante responsable de la détérioration dans les jus très acides, et les *Leuconostoc* dans les jus moins acides les moins tolérants à l'acidité.

Les formes sporulées ont un rôle distinct dans la détérioration des aliments. Cela est dû à la forte thermique résistance des spores, qui dans certaines espèces sont encore viables après la haute température des traitements associés au procédé de pasteurisation. Toutefois, en raison du faible pH du jus d'orange, quelques espèces qui peuvent croître dans un tel substrat sont principalement du genre *Bacillus*: *Bacillus coagulans*, *Bacillus polymyxa*.

Les bactéries acétiques, présentes sur la surface des plantes et des fruits, produisent également diacétyl, l'indicateur principal de la détérioration du jus d'orange. Ce groupe, en raison de ses caractéristiques strictement aérobies et fastidieux.

Les microorganismes anaérobies strictes, tels que *Propionibacterium cyclohexanicum*, a récemment isolée à partir de jus d'orange pasteurisé (Kusano et al., 1997), Ce micro-organisme connu par son aptitude de survivre aux températures de pasteurisation et de croître dans des pH acide à des pH neutre (3,2 à 7,5) à la plage de température mésophile.

*Alicyclobacillus acidoterrestris*, est une espèce, acidophiles, thermophile, cela signifie qu'elle tolère l'acidité et elle est également capable de survivre à des températures élevées, ce qui rend inutiles les procédés de traitement thermique traditionnels utilisés dans l'industrie alimentaire.

Les bactéries *Butyrique* du genre *Clostridium*, qui présente le métabolisme de fermentation anaérobie et forment des spores résistantes à la chaleur, comprennent un groupe d'organismes potentiellement dangereux pour la santé publique (Hsu et Beuchat, 1986). Les espèces associées à des aliments acides comprennent *Clostridium pasteurianum* (croît à pH 3,8 à 5,0) et *Clostridium butyricum* (croît à pH 3,8 à 4,0).

Les organismes appartenant au groupe des entérobactéries sont très rarement trouvés dans les jus de fruits acides, parce qu'ils ne peuvent pas survivre dans un pH bas. Cependant, quand il y a des défaillances au cours du traitement ou la conservation des produits sont trop prolongés, ces bactéries potentiellement pathogènes peuvent se développer.

Plusieurs facteurs peuvent agir en tant que source de contamination telles que l'utilisation de l'eau non hygiénique pour dilution, pansement avec de la glace, la conservation prolongée sans réfrigération. Ces jus peuvent abriter des agents pathogènes, notamment *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. , *Shigella* spp. et *Staphylococcus aureus* (Rashed et al.,2012). Des éclosions de *Salmonella* spp.ont été imputées au jus non pasteurisé. En 1995, en Floride, du jus d'orange non pasteurisé dans lequel *S. Gaminara* et *S. Rubislaw* ont été

Mémoire de fin d'études master ACQDA .Présenté par H Bergeul, M Habis, S Laib. juin 2016

détectées a été mis en cause dans 63 cas de maladie documentés. Dans ce cas particulier, les mêmes sérotypes ont été isolés dans des bouteilles de jus d'orange non ouvertes, à la surface de fruits non lavés et chez des amphibiens vivant à proximité de l'usine (Mihajlovic et *al.*, 2013).

L'eau utilisée pour la préparation de jus peut être une principale source des contaminants microbiens, y compris des coliformes totaux, coliformes fécaux, Streptocoques fécaux, etc. Les variations de pH peuvent également promouvoir la croissance des pathogènes. Tandis que la qualité des jus de fruits est strictement maintenue (Rashed et *al.*, 2012).

## II. Matériels et méthodes

### II.1. Choix de variété de jus d'orange

Deux variétés de jus d'orange ont été choisies, l'une est la prédominante dans le marché algérien notée Echantillon A « Ech. A » et l'autre moins connue et moins chère que la première, notée Echantillon B « Ech. B ».

L'objectif de notre étude consisté à évaluer la qualité de jus (produit fini) après l'ouverture des bouteilles en fonction des conditions de conservation (température et temps). Deux échantillons de même lot ont été achetés pour chaque variété. Les bouteilles sont ouvertes en même temps le **20/03/2016** (t=0) à température ambiante. Une bouteille de chaque variété est analysée sur place (analyses physicochimiques et microbiologiques) puis conservée à température ambiante (environ 20°C), les deux autres bouteilles conservées juste après l'ouverture à une température de 4°C (une température conseillée) afin de déterminer les changements de leur qualités organoleptiques et sanitaires après le premier jour d'ouverture (t=1), le quatrième jour (t=4), le septième jour (t=7), le dixième jour (t=10) et enfin le quinzième jour (t=15). L'expérience a été réalisée selon les conditions du laboratoire.

### II.2. Compositions nutritionnelles des jus

Toutes les informations sont illustrées sur l'étiquette des deux bouteilles (**A et B**).

#### II.2.1. Compositions de l'Ech. A

Jus à la pulpe d'orange contenu de l'eau traité, sucre, ( concentré de jus et pulpe d'orange, cellules naturelles d'orange) minimum 20%, arôme d'orange, additifs alimentaire SIN300 : régulateur d'acidité, SIN( 415,466) : stabilisant, SIN 300 : anti oxydant, SIN( 160a, 160a (ii)): colorant, SIN (414,444,445): émulsifiant, SIN900a: antimoussant, cocktail de vitamines (A, E, B1, B2, B6, C).

Date de fabrication **31/01/2016** et la date limite de consommation **31/07/2016**.

#### II.2.2. Compositions de l'Ech. B

Cette marque est une boisson à base de concentré et pulpe d'orange, riche en vitamine C, Eau, sucre, pulpe d'orange, concentré d'orange, additifs des fins alimentaires : (SIN330) régulateur d'acidité, (SIN 160a) colorant alimentaires, arôme d'orange, acide ascorbique (SIN300).

Date de fabrication **25/12/2015** et la date limite de consommation **25/06/2016**.

Les valeurs nutritionnelles pour les deux variétés sont mentionnées dans le (Tab. 03)

**Tableau 03:** Les valeurs nutritionnelles de jus A et B

Informations nutritionnelles	Teneur dans 100 g de produit	
	Jus A	Jus B
Glucides	12,4g	12.5g
Protéines	00g	0.8g
Lipides	00g	0.1g

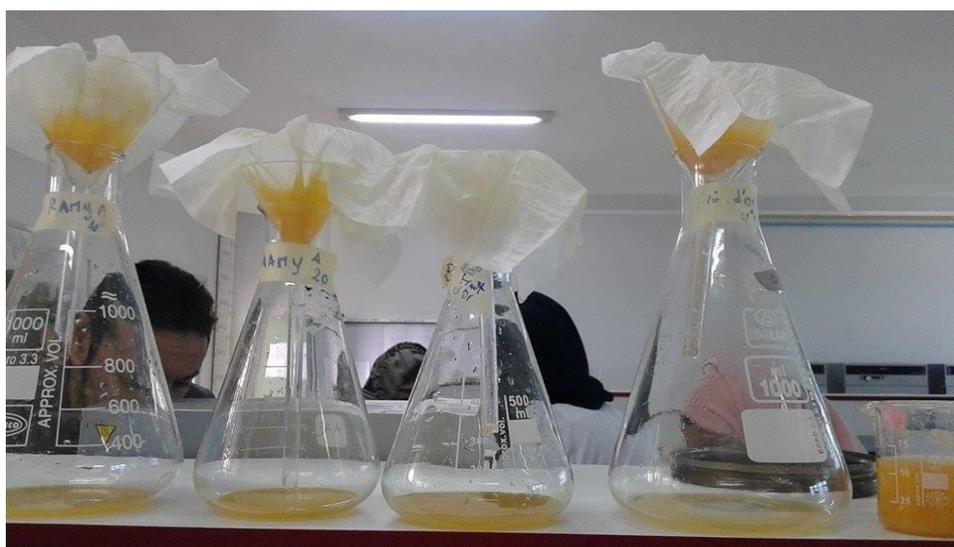
### II.3. Echantillonnage

Les échantillons du jus d'orange sont parvenus de la même chaîne de fabrication, après la réception des échantillons nous avons placés certaines bouteilles dans le réfrigérateur fonctionnant à 4° C et d'autre à une température ambiante à 20°C pendant 15 jours.

Avant l'entreposage à des différentes températures nous avons déterminé différents paramètres (dosage du sucre, pH, acidité, dosage de la vitamine C et les analyses microbiologiques) dans le jus de départ. La détermination de la composition initiale avec laquelle nous avons suivi l'évolution de la qualité en fonction du temps à des différentes températures, s'est faite de la façon suivante. Deux bouteilles pour chaque variété sont prises au hasard parmi les six qui constitue nos échantillons, dont le contenu est mélangé et soumis aux différents analyses.

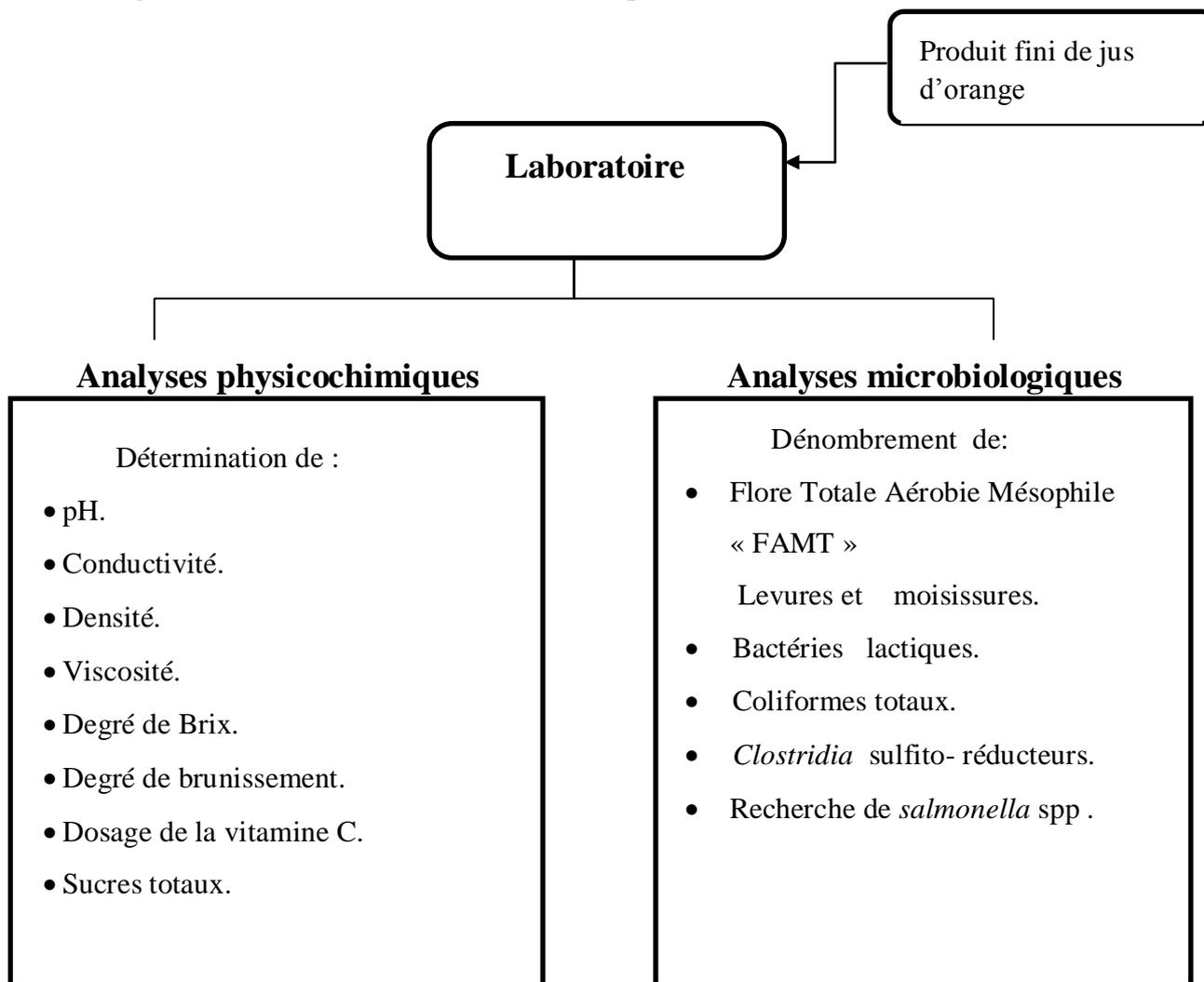
#### II.3.1. Préparation des échantillons

Avant toute expérience, les échantillons de jus d'orange sont filtrés à l'aide d'un papier filtre (Fig. 03) et tous les instruments utilisés sont stérilisés.

**Figure 03:** Filtration des échantillons

## II.4. Méthodes d'analyses

La figure 04 résume la méthode de travail adoptée dans cette étude.



**Figure 04:** Procédure expérimentale adoptée.

## II.5. Analyses physicochimiques

### II.5.1. Détermination du pH (AFNOR, 1970)

Le pH est l'unité de mesure de l'acidité. Il varie de 0 à 14. Plus la valeur du pH est faible, plus le produit est acide. Le jus d'orange a un pH moyen de 3,5. Pour une bonne conservation, le pH du jus doit être inférieur à 4.

Le pH est effectué par une mesure directe à l'aide d'un pH-mètre préalablement étalonné, le mode opératoire est figuré dans l'annexe n°03.

### **II.5.2. Détermination de la densité**

La densité d'un liquide est le quotient de la masse volumique du liquide par la masse volumique d'eau. C'est un nombre sans unité (FAO, 2015), le mode opératoire est figuré dans l'annexe n°04.

### **II.5.3. Détermination de la conductivité**

La conductivité électrique nous renseigne sur la teneur en sels solubles. Elle est mesurée à l'aide du conductimètre (Messaid, 2007), le mode opératoire est figuré dans l'annexe n°04.

### **II.5.4. Détermination de la viscosité**

La viscosité est une grandeur indiquant le degré de fluidité d'un fluide. Plus la viscosité est importante, plus le fluide est épais ; plus la viscosité est faible, plus il est liquide. Pour un liquide (au contraire d'un gaz), la viscosité tend généralement à diminuer lorsque la température augmente (Julie, 2008), le mode opératoire est figuré dans l'annexe n°05.

### **II.5.5. Détermination de degré de Brix (AFNOR, 1970)**

La mesure de poids en gramme de la matière sèche soluble (principalement du sucre pour les pulpes de fruit) contenue dans 100 g de produits. Pour les boissons aux fruits, le degré de Brix varie entre 11 et 15° selon les pays. Le mode opératoire est figuré dans l'annexe n°06.

### **II.5.6. Détermination de l'acidité titrable (AFNOR, 1974)**

Elle est exprimée en teneur d'acide citrique par unité de volume et elle est déterminée par titrimétrie à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N, en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré, le mode opératoire est figuré dans l'annexe n°07.

### **II.5.7. Détermination de la vitamine C**

La détermination de la vitamine C a été réalisée par un dosage en retour en présence de diiode et de thiosulfate de sodium selon la méthode décrite par (Pourmaghi-Azar et Ojani, 1997), le mode opératoire est figuré dans l'annexe n°08.

### **II.5.8. Détermination de la teneur en sucres totaux**

La détermination de la teneur en sucres permet de voir la quantité de sucre présente dans le jus d'orange (Jacques et Jérôme, 2008), le mode opératoire est figuré dans l'annexe n°09

### **II.5.9. Détermination de degré de brunissement**

L'indice de brunissement correspond à l'absorbance mesurée à 420 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Euloge et al., 2013), le mode opératoire est figuré dans l'annexe n°10.

### **II.5.10. Détermination de taux de cendres (AFNOR, 1972)**

La mesure de la teneur en cendre permet de connaître et d'évaluer la minéralité des différents échantillons de jus et le mode opératoire est figuré dans l'annexe n°11.

## **II.6. Analyses microbiologiques**

### **II.6.1. Intérêt de la bactériologie alimentaire**

Dans ce contexte, l'analyse microbiologique traditionnelle des produits finis reste encore indispensable car elle permet avec une certaine inertie d'éviter, dans le cas où des produits dangereux ou non conformes seraient fabriqués, leur commercialisation ou leur consommation.

Les méthodes d'analyses mises en œuvre doivent être rapides, fiables, reproductibles et si possible simples (et peu coûteuses) ; elles consistent en une recherche et/ou une numération des principaux germes microbiens rencontrés dans nos aliments afin d'en maîtriser leur présence ou absence (dans le cas de germes dangereux responsables de maladies infectieuses) et leur nombre (dans le cas des germes peu dangereux, contaminants ou hôtes normaux des matières premières composant la denrée) (Cuq, 2008).

### **II.6.2. Préparation des échantillons et cultures microbiennes**

Les échantillons sont amenés au laboratoire dans leur emballage d'origine. Le premier traitement auquel sont soumis la plupart consiste, en une homogénéisation, cette opération doit permettre la mise en suspension homogène des microorganismes présents dans le produit à analyser en évitant cependant toute contamination externe ou une inactivation des germes par des conditions trop drastiques.

Ces prélèvements doivent avant tout respecter des règles d'asepsie et de représentativité.

#### **II.6.2.1. Techniques de dilution**

Elles nécessitent la présence de cinq tubes à essais pour chaque échantillon contenant le plus souvent 9 ml de diluant stérile (eau physiologique) et de nombreuses pipettes stériles de 1 ml. Les pipettes peuvent être remplacées par des systèmes de pipetage automatique munis de cônes à usage unique.

Toutes les manipulations sont à effectuer avec toutes les précautions d'asepsie exigées en microbiologie. L'introduction éventuelle d'un contaminant ou la contamination de

l'opérateur doivent ne jamais se produire. Le récipient contenant le liquide à diluer est agité manuellement avec précaution pour éviter les projections pendant une dizaine de secondes. On prélève stérilement 1 ml de jus d'orange que l'on introduit dans un tube contenant 9 ml de l'eau physiologique. Le tube est agité par des mouvements de rotation ou au moyen d'un Vortex. On obtient ainsi une dilution au 1/10. Avec une nouvelle pipette de 1 ml on prélève 1 ml de cette dilution que l'on introduit dans un nouveau tube de diluant de 9 ml ; on obtient une dilution au 1/100 et ainsi de suite jusqu'au niveau de dilution recherché (annexe n°18) (Boradjah, 2011).

### **II.6.2.2. Préparation des milieux de culture**

En fonction des besoins et de germes à rechercher, les milieux de culture sont préparés suivant le mode opératoire indiqué sur l'étiquette de la boîte de chaque milieu de culture (annexe n°19).

### **II.6.3. Numération des germes**

#### **II.6.3.1. Numération de la flore totale aérobie mésophile**

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile (FAMT, flore « totale » ou « globale ») Cette flore appelée aussi « flore aérobie mésophile revivifiable » est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que la qualité (propreté) des installations (Baumgart, 1994).

#### **a) Mode opératoire**

- Une prise de 15 ml de gélose PCA (Plate Count Agar) (annexe n°17) coulée dans des boîtes de pétri vides pour le dénombrement liquéfiée à 45°C, mélanger soigneusement et laisser solidifier.
- Après solidification, ces boîtes sontensemencées avec 0,1 ml des dilutions en surface
- Incuber 72 heures à 30 °C. Compter les colonies sur les boîtes comportant entre 20 et 300 colonies, le protocole est figuré dans l'annexe n° 20.

#### **II.6.3.2. Dénombrement des levures et moisissures**

La contamination des aliments par les moisissures est actuellement considérée avec beaucoup d'attention en raison des mycotoxines que ces microorganismes sont capables de synthétiser. Les moisissures sont très largement répandues dans la nature (air, sol...) et elles peuvent très facilement contaminer les aliments en cours de fabrication .

Les levures acidophiles, psychrotrophes ou osmophiles peuvent induire des altérations profondes dans les aliments (structure, propriétés organoleptiques etc.). La plupart d'entre elles ne sont pas pathogènes (Baumgart, 1994 ).

**a) Mode opératoire**

- Le dénombrement de la flore fongique a été réalisé sur Sabouraud (annexe n°17). Une prise de 10 ml de Sabouraud est coulée dans des boîtes de pétri vides.
- Après solidification, ces boîtes sontensemencées avec 0,1 ml des dilutions en surface puis incubées à la température (25-30°C) pendant 3 à 5 jours.
- La lecture permet d'apprécier trois types de colonies:

Les levures dont l'aspect rappelle celui des colonies bactériennes. Elles sont rondes à contours réguliers, opaques, plates en surface et lenticulaires en profondeur; les oïdiums d'aspect velouté font penser aux moisissures; les moisissures souvent pigmentées, d'aspect velouté, plus ou moins proéminents, le protocole est figuré dans l'annexe n°21.

**II.6.3.3. Dénombrement des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques (LAB) occupent une place importante parmi les auxiliaires de fabrication alimentaire leurs caractères variés et leurs multiples propriétés sont largement exploités dans l'agroalimentaire. Elles sont responsable de la fermentation des produits alimentaires c'est pourquoi on les appelle des ferments lactiques.

**a) Mode opératoire**

- Transférer 1 ml du produit à analyser et de ses dilutions décimales dans des boîtes de Pétri stériles.
- Couler 15 ml de milieu MRS (annexe n°17).
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Placer les boîtesensemencées dans les conditions spécifiées dans le mode opératoire choisi.
- Incuber 48h à 30°C (Chamba, 1981), le protocole est figuré dans l'annexe n°22.

**II.6.3.4. Numération des coliformes totaux**

La présence des coliformes totaux dans les aliments indique un traitement thermique inefficace ou une contamination subséquente au traitement. Elle traduit également une défaillance technologique ou hygiénique. Le dénombrement a été réalisé en milieu liquide (AFNOR, 1974).

**a) Mode opératoire**

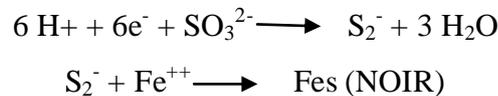
- La numération des coliformes est réalisée par ensemencement de 1 ml de l'aliment (ou de sa suspension mère) et de ses dilutions dans un bouillon BCPL (Bouillon lactose au

pourpre de bromocresole) .Les essais sont effectués en double et les résultats analysés par la méthode de Mac Gray (annexe n°26).

- Chaque tube est préalablement muni d'un petit tube à essai renversé (cloche de DURHAM) destiné à piéger la formation éventuelle de gaz.
- L'incubation est réalisée pendant 24 heures à 37°C. Les tubes positifs (trouble et gaz, changement de la couleur) peuvent être soumis au test de Mac KENZIE, le protocole est figuré dans l'annexe n°23.

#### II.6.3.5. Numération des *Clostréidia* sulfito-réducteurs

Ce dénombrement est réalisé en anaérobiose (en tube) et repose sur l'appréciation de la réduction du sulfite en H<sub>2</sub>S dont la mise en évidence est obtenue par addition au milieu de sels de fer. La réaction est la suivante :



##### a) Mode opératoire

- Préparer le milieu Viande- Foie (annexe n°17) et le stériliser 15 minutes à 110°C.
- A 130 ml de milieu régénéré et ramené à 50° C, ajouter 1,3 ml d'une solution de sulfite de sodium et 1,3 ml d'une solution d'alun de fer.
- Le jus à analyser est chauffée à 80°C pendant 10 minutes au bain marie. Il y a dans ces conditions la destruction des formes végétatives. 1 ml de milieu ou de ses dilutions est introduit dans le tube en surfusion à 45°C. Le tube est alors vissé et mélangé par retournement lent. Il faut éviter d'oxygéner le milieu au cours de cette phase. Dès qu'un tube est ensemencé, il faut ajouter l'huile de vaseline. Les tubes sont alors incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures (Abgrall et al., 1985), le protocole est figuré dans l'annexe n°24.

#### II.6.3.6. Recherche de *Salmonella* spp.

La salmonelle est une bactérie qui contamine les aliments lorsque les règles d'hygiène ne sont pas respectées, Il s'agit là d'un problème très important en microbiologie alimentaire La salmonellose reste la toxi-infection d'origine alimentaire la plus répandue dans le monde.

##### a) Mode opératoire

La recherche des salmonelles se fait dans 25 ml du produit suivant les quatre phases : le pré-enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et l'identification.

- Pré-enrichissement : La prise d'essai est directement mise dans 10 ml d'eau peptonée tamponnée, puis placée à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Ceci permet aux salmonelles (éventuellement présentes) de se multiplier en abondance.
- Enrichissement: Dans 10 ml de bouillon d'eau peptonée tamponnée contenus dans chaque tube à vis stérile, nous mettons 1 ml de subculture à l'aide d'une pipette stérile. Les bouillons sont ensuite incubés à l'étuve à 37 °C pendant un temps de 24 heures. La sélectivité du bouillon et la température d'incubation relativement élevée entraînent l'élimination d'une grande partie de la flore d'accompagnement et favorisent la croissance des salmonelles.
- L'isolement: se fait sur un milieu Hektoen , les boîtes de pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C. Les colonies verdâtres ou bleuâtres à centre noir sont repiquées pour être soumises à une identification plus fine (Secke, 2007), le protocole est figuré dans l'annexe n°25.

## II.7. Analyses statistiques

Les analyses statistiques (Analyse de variance:ANOVA) ont été réalisés sous Excel. Le but de ces analyses de variance est d'étudier l'effet de la variété de jus d'orange et de la température de conservation sur la qualité physico chimique des échantillons. Le seuil de signification,  $\alpha$ , est fixé à 5%.

Les valeurs utilisées pour le traitement statistique sont les moyennes des trois répétitions réalisées (n=3).

### III.1. Qualité physico-chimique

#### III.1.1. Détermination du pH

Les résultats issus de cette étude (Tab. 04) donnent une indication sur la qualité physicochimique des deux échantillons de jus d'orange analysés. Les valeurs du pH vont de 3,3 à 3,96 durant la période de conservation. Ces valeurs oscillent au tour de la norme (AFNOR ,1970) fixée à 3,5.

**Tableau 04:** Variation du pH en fonction de la température et du temps.

Echantillons	t= 0 j	t= 1 j	t= 4 j	t= 7 j	t= 10 j	t= 15 j
Ech. A 4 °C	3,6	3,7	3,86	3,6	3,8	3,56
Ech. A 20 °C	3,6	3,6	3,8	3,66	3,96	3,56
Ech. B 4 °C	3,9	3,53	3,73	3,48	3,77	3,3
Ech. B 20 °C	3,9	3,78	3,62	3,66	3,71	3,44

Ech. A : Echantillon A

Ech. B : Echantillon B

#### III.1.2. Détermination de la densité

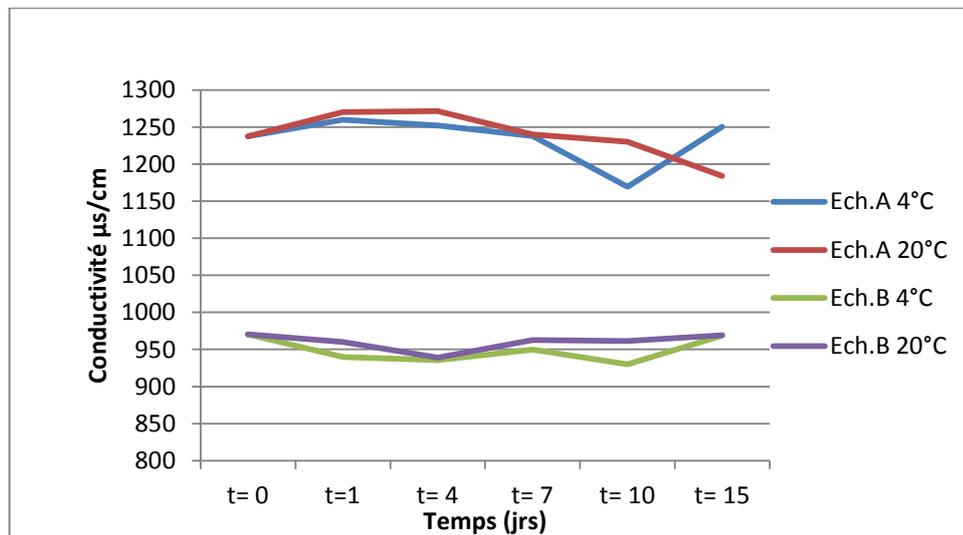
La densité des échantillons (Tab. 05) reste stable. Elle est de 1,06 pour Ech. A et de 1,05 pour Ech. B. Ces deux valeurs sont dans les normes (1,04) (AFNOR V 76-005).

**Tableau 05 :** Valeurs de la densité en fonction de la température et du temps.

Echantillons	t= 0 j	t= 1 j	t= 4 j	t= 7 j	t= 10 j	t= 15 j
Ech. A 4°C	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06
Ech. A 20°C	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06
Ech. B 4°C	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05
Ech. B 20°C	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05

#### III.1.3. Détermination de la conductivité

La conductivité de l'Ech. A est environ de 1250  $\mu\text{s}/\text{cm}$  par contre elle est de 950 $\mu\text{s}/\text{cm}$  pour l'Ech. B quel que soit la température de conservation (Fig .05). Cela signifie que l'Ech.A est plus riche en ions (cations et anions).

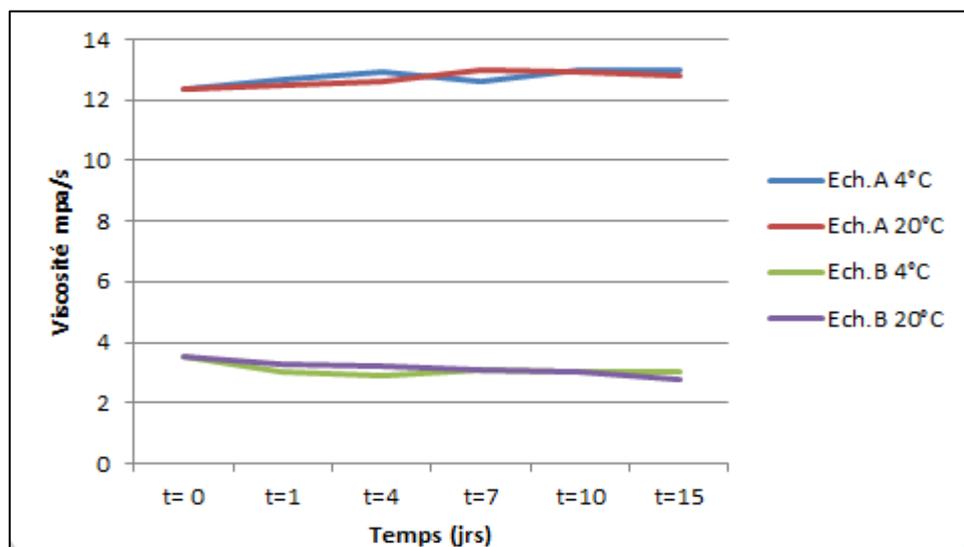


**Figure 05:** Variation de la conductivité en fonction de la température et du temps.

### III.1.4. Détermination de la viscosité

La viscosité des deux échantillons ne change pas au cours de la conservation à 4 et à 20°C. Elle est d'environ 13 mpa/s pour Ech. A et d'environ 3 mpa/s pour Ech. B ( Fig.06) .

La norme pour un jus à base de concentré selon Alain B et *al.*, (2009) est de 1,1 à 1,3. la valeur de l'Ech. A est donc plus supérieure que la norme (fluide). Cette supériorité s'explique soit par sa richesse en pulpes, riche en éléments nutritive ou bien par l'existence d'une substance inconnue ajouté par le fabriquant responsable de cette viscosité. Par contre pour l'Ech. B, sa viscosité est un peu proche à la norme.



**Figure 06 :** Variation de la viscosité en fonction de la température et du temps.

### III.1.5. Détermination du degré de Brix

Le degré de Brix varie de 11,3° à 11,34° pour tous les échantillons (Tab. 06). Ces valeurs proches aux valeurs 11,2° – 11,8° et conforme à la législation nationale du pays importateur mais pas inférieure à 11,2° (CODEX STAN 247).

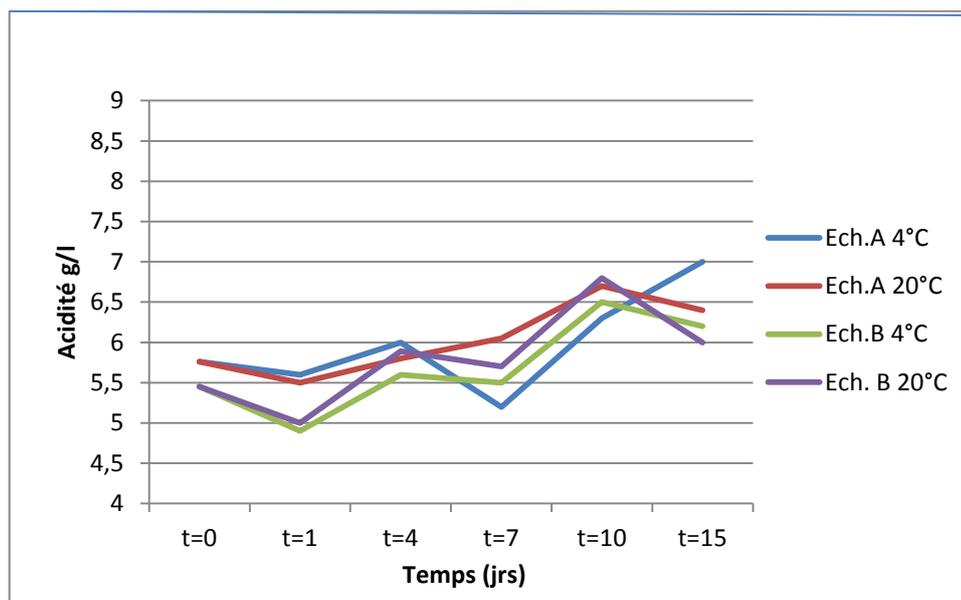
La teneur en sucre est autour de 11 ,3° g par 100 g du mélange.

**Tableau 06** : Degré de Brix des échantillons en fonction de la température et du temps.

Echantillons	t= 0 j	t= 1j	t= 4 j	t= 7 j	t= 10 j	t= 15 j
Ech. A à 4°C	11,34	11,33	11,32	11,34	11,31	11,34
Ech. A à 20°C	11,34	11,32	11,3	11,34	11,32	11 ,32
Ech. B à 4°C	11,32	11,34	11,34	11,32	11,32	11,34
Ech. B à 20°C	11,32	11, 32	11,34	11,3	11,34	11,34

### III.1.6. Détermination de l'acidité

L'acidité est exprimée conventionnellement en grammes d'acide citrique par litre de jus. L'acidité des quatre échantillons reste dans les normes pendant tous les jours de conservation. L'acidité ou bien l'acide citrique varie de 5 à 7 g/l (Fig. 07). Ces valeurs proches à la norme d'AFNOR (V 76-005) fixé entre 6,3 et 17 g/l d'acide citrique. Le pH et l'acidité sont inversement proportionnels, mais dans notre cas nous avons observés que les deux indices restent presque stables pendant les 15 jours. Cela est peut être expliqué par la présence d'un système tampon constitué principalement par l'acide citrique, l'acide malique et leurs sels. (Djadi,1987).

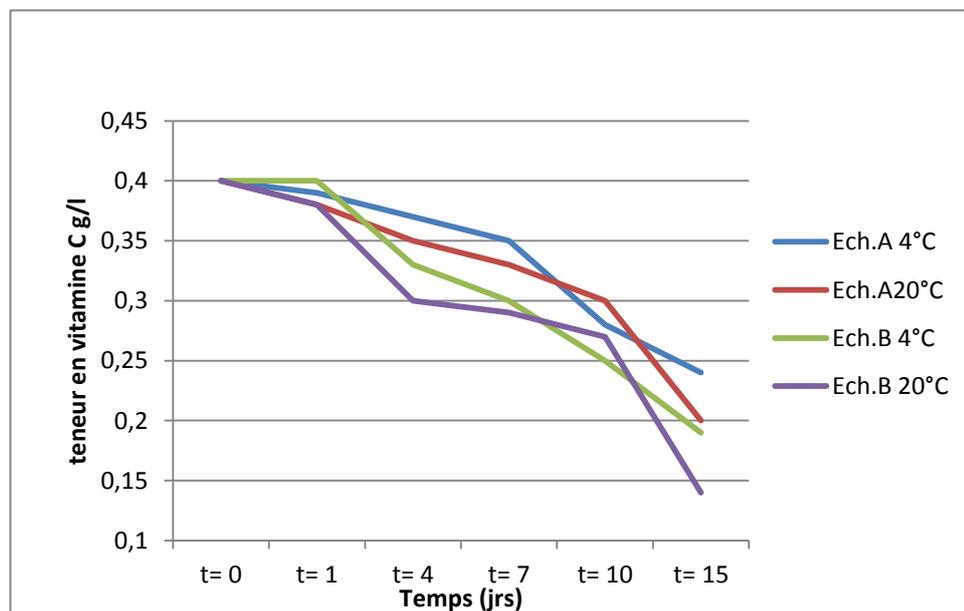


**Figure 07**: Variation de l'acidité en fonction de la température et du temps.

### II.1.7. Détermination de la vitamine C

D'après les résultats obtenus (Fig. 08) la quantité de l'acide ascorbique (vitamine C) a diminuée au cours de la conservation. Ce qui indique une dégradation de la vitamine C depuis le premier jour d'ouverture de la bouteille du jus. Mais malgré cette dégradation, l'acide ascorbique reste dans la norme ( $> 0,2$  g/l) durant tout le temps de la conservation (AFNOR V 76-005) sauf pour l'Ech.B à  $20^{\circ}$  la valeur est de  $0,15$  g/l  $< 0,2$  g/l. Cette faible dégradation due principalement au faible contact avec l'oxygène (ouverture puis fermeture des bouteilles) pour les quatre échantillons avec une légère forte dégradation pour les échantillons conservés à  $20^{\circ}\text{C}$ .

L'acide ascorbique peut aussi se dégrader en milieu acide et à chaud, ainsi qu'en absence d'oxygène, il subit une déshydratation et une décarboxylation qui conduisent à la formation de produits intermédiaires, de gaz carbonique et de furfural. Cette dégradation anaérobie a été observée dans les jus d'orange au cours de leur stockage. Dans le cas où le jus d'orange contient encore de l'oxygène dissous, une dégradation rapide de l'acide ascorbique par l'oxygène est observée suivie d'une dégradation plus lente et anaérobie (Huelin *et al.*, 1971).



**Figure 08:** Variation de la teneur en vitamine C en fonction de la température et du temps.

### III.1.8. Détermination de la teneur en sucres totaux

La teneur en sucre des échantillons varie de 11,88 à 12,5 (Tab. 07). Ces valeurs n'ont montré aucune variation significative, et reste dans la norme AFNOR entre 10 g/l et 20 (AFNOR V 7-005).

**Tableau 07 :** Teneur en sucres totaux en fonction de la température et du temps.

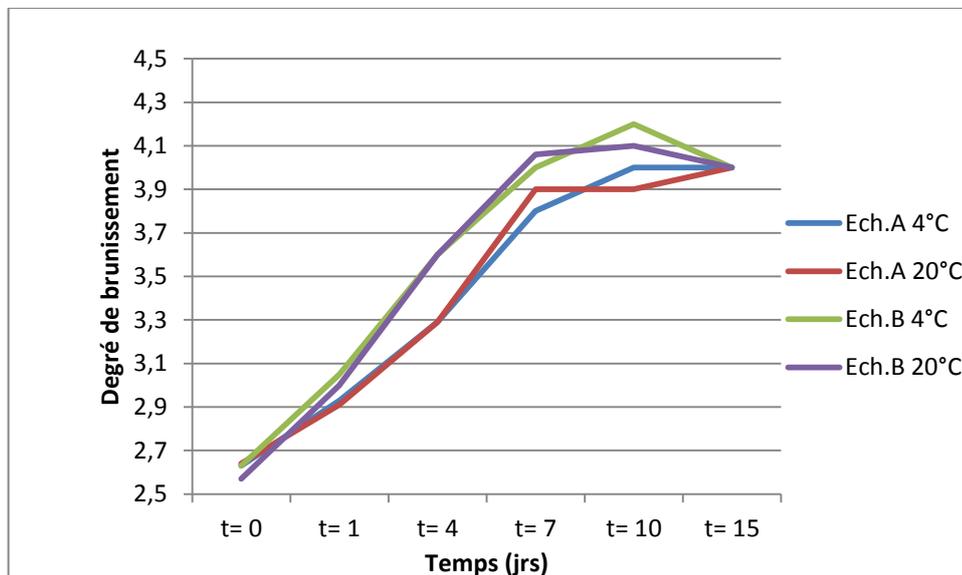
Echantillons	t= 0 j	t= 1 j	t= 4 j	t= 7 j	t= 10 j	t= 15 j
Ech. A à 40C	12,15	12,45	12,24	12,33	12,42	12,24
Ech. A à 20°C	12,15	12,33	12,3	12,06	12,06	12,15
Ech. B à 4°C	12,15	12,29	12,24	11,88	11,88	12,24
Ech. B à 20°C	12,15	12,5	11,9	12,06	12,15	12,24

### III.1.9. Détermination du degré de brunissement

Au début le degré de brunissement des échantillons est entre 2,5 et 3 puis commence à augmenter à partir du premier jour de conservation et il atteint la valeur 4,3 après 15 jour de conservation (Fig. 09).

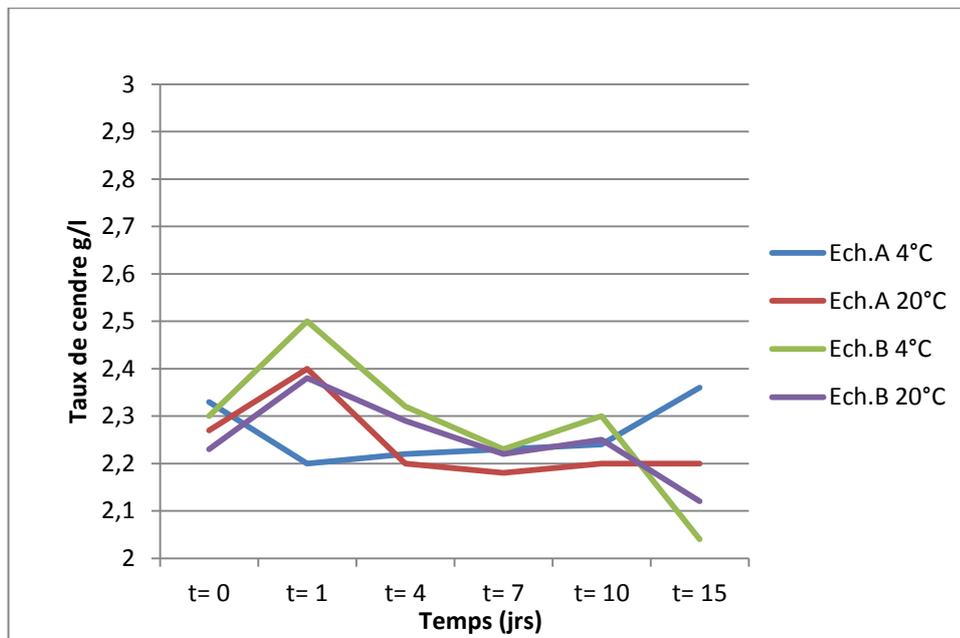
A partir des résultats qu'on a trouvé il y a une diminution de la teneur en vitamine C et une augmentation de degré de brunissement ce qui signifie la dégradation de la vitamine C dans le jus d'orange provoque une perte de qualité nutritionnelle mais aussi l'apparition de composés volatils odorants à impact négatif et la formation de composés bruns responsables d'une modification de couleur (Huelin *et al.*, 1971).

Le jus d'orange qui a un pH alentour de 3,4 n'a pas une tendance rapide au brunissement, il se brunira moins vite. Le brunissement est inversement proportionnel au pH.

**Figure 09:** Variation de degré de brunissement en fonction de la température et du temps.

### III.1.10. Détermination de la teneur en cendres

Le taux en cendre représente la quantité totale en sels minéraux présent dans l'échantillon. Les valeurs obtenus pour les échantillons varient de 2,2 à 2,5 g/l (Fig.10) et elles sont toutes inférieures à la norme AFNOR (de 2,8 à 5 g/l) (AFNOR V 76-005).



**Figure 10:** Variation de taux de cendre en fonction de la température et du temps.

### III.2. Analyses statistiques

Dans le but de comparer les résultats obtenus et étudier l'effet de la température de conservation et de la variété de jus d'orange sur les différents paramètres physicochimique, des analyses de variance (ANOVA) ont été réalisées.

#### III.2.1. Viscosité

##### III.2.1.1. Comparaison entre l'échantillon A et B à 20°C.

**Tableau 08:** Analyses des variances de l'échantillon A et B à 20 °C.

S.V	SCE	ddl	MDC	F <sub>obs</sub>	P <sub>b</sub>	F <sub>c</sub>
SCEf		1	272,46	3961,55	2,49 E -14	4,964
SCEi	6,8	10	0,68			
Total	273,15	11				

SV: Source de variation –  
SCE: Somme des carés

SCEi: Variabilité intra groupe –  
F<sub>obs</sub>: Facteur observé

SCEf: Variabilité inter groupes  
P<sub>b</sub>: Probabilité      F<sub>c</sub>: Facteur critique.

D'après les résultats de l'ANOVA, le F<sub>obs</sub> est supérieur à F<sub>c</sub>, cela veut dire qu'au seuil  $\alpha = 5\%$  et avec les données disponibles, Il existe une différence significative entre la viscosité de l'Ech.A et de l'Ech. B à 20 °C.

### III.2.1.2. Comparaison entre l'échantillon A et B à 4°C

**Tableau 09:** Analyses des variances de l'échantillon A et B à 4°C.

S.V	SCE	ddl	MDC	F <sub>obs</sub>	Pb	F <sub>c</sub>
SCEf	272,46	1	272,46	3961,55	2,49E-14	4,96
SCEi	0,68	10	0,06			
Total	273,15	11				

D'après les résultats de l'ANOVA, le F<sub>obs</sub> est supérieur à F<sub>c</sub>, cela veut dire qu'au seuil  $\alpha = 5\%$  et avec les données disponibles, Il existe une différence significative entre la viscosité de l'Ech.A et de l'Ech. B à 4°C.

### III.2.2. Conductivité

#### III.2.2.1. Comparaison entre l'échantillon A et B à 20°C

**Tableau 10:** Analyses des variances de l'échantillon A et B à 20°C .

S.V	SCE	ddl	MDC	F <sub>obs</sub>	Pb	F <sub>c</sub>
SCEf	245702,70	1	245702,70	377,91	2,83 E 09	4,96
SCEi	6501,50	10	650,150			
Total	252204,20	11				

D'après les résultats de l'ANOVA, le F<sub>obs</sub> est supérieur à F<sub>c</sub>, cela veut dire qu'au seuil  $\alpha = 5\%$  et avec les données disponibles, Il existe une différence significative entre la conductivité de l'Ech.A et de l'Ech. B à 20 °C.

#### III.2.2.2. Comparaison entre l'échantillon A et B à 4°C

**Tableau 11:** Analyses des variances de l'échantillon A et B à 4°C .

S.V	SCE	ddl	MDC	F <sub>obs</sub>	Pb	F <sub>c</sub>
SCE <sub>f</sub>	245236,44	1	245236,44	342,10	4,60 E -09	4,96
SCE <sub>i</sub>	7168,55	10	716,85			
E G	252404,99	11				

D'après les résultats de l'ANOVA, le F<sub>obs</sub> est supérieur à F<sub>c</sub>, cela veut dire qu'au seuil

$\alpha = 5\%$  et avec les données disponibles, Il existe une différence significative entre la conductivité de l'Ech.A et de l'Ech. B à 4°C.

### III. 3. Analyses microbiologiques

#### III.3.1. Effets de la température et du temps sur le développement des microorganismes

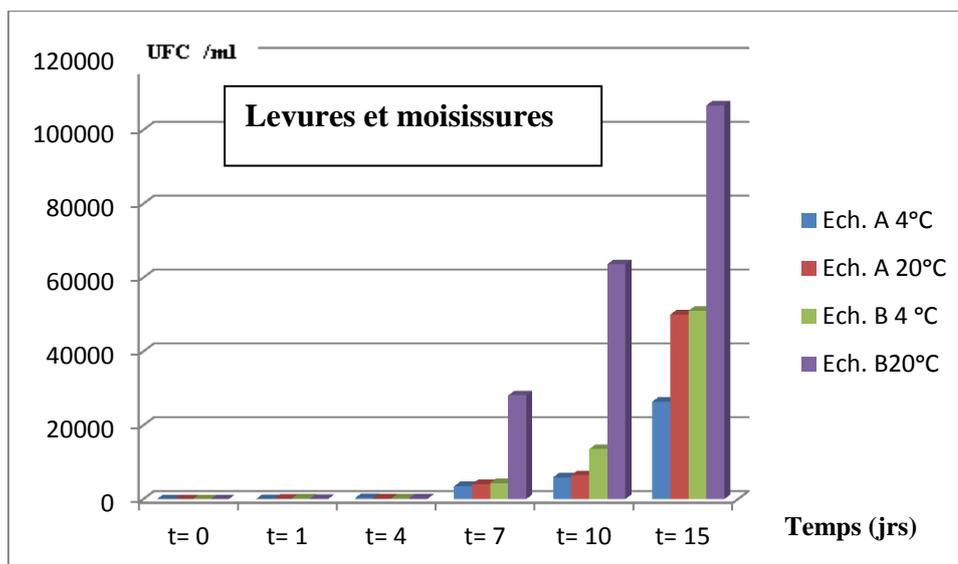
##### III.3.1.1. Levures et moisissures

Après ouverture des bouteilles et durant les 15 jours (le dénombrement des levures et moisissures révèle une augmentation progressive jusqu'à  $1.06 \times 10^6$  UFC/ml pour l'Ech. A et  $5 \times 10^5$  UFC /ml pour l'Ech.B à température ambiante (20°C). Les jus entreposés à 4°C sont sensiblement les mêmes et équivalent que les précédents échantillons (Fig. 11).

Il est bien établi que les levures et les moisissures préfèrent un milieu acide, d'où ces numérations élevées. (Guirand et Galzy, 1980 ; Cheftel et Cheftel, 1948).

Au terme du 7<sup>ème</sup> jours, au vu des résultats obtenus, la qualité des échantillons analysés n'est pas acceptable (la réglementation nationale (J.O.N°35, 1998) et internationale (UIJFN, 2009) préconisent des numération  $< 10^3$  UFC/ml).

La croissance des levures s'accompagne généralement de la turbidité, floculation, l'agglutination et la formation des pellicules. Elles sont, en outre capable de produire des estérases, les acétaldéhydes organiques, qui conduisent à une «saveur fermentée» (Guirand et Galzy, 1980 ; Cheftel et Cheftel, 1948). Ceci concorde totalement avec nos observations au terme du 15 jour.



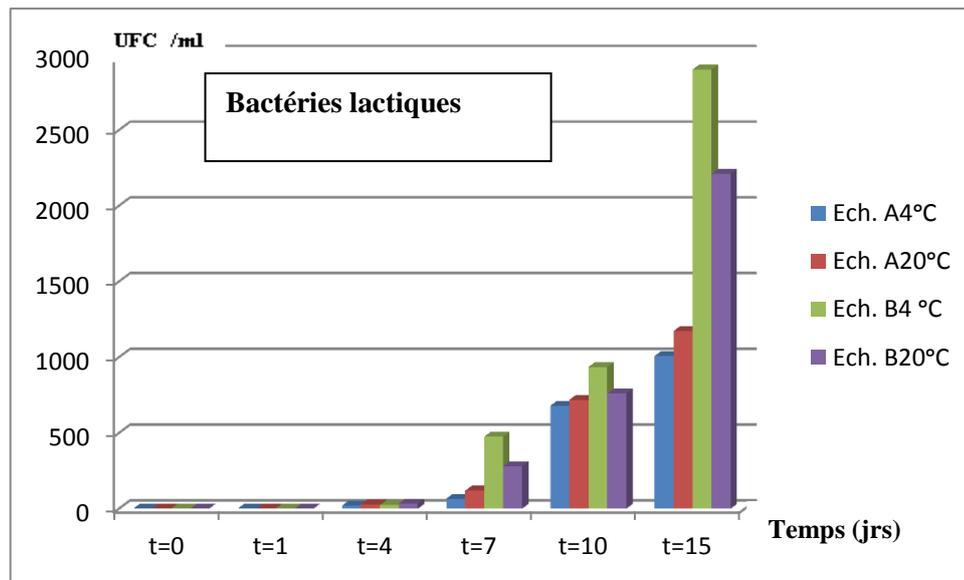
**Figure 11:** Evolution des numérations fongiques en fonction de la température et du temps.

### III.3.1.2. Bactéries lactiques

L'évolution de la flore lactique des Ech. A et B cultivée sur milieu MRS est faible et relativement lente pendant les premiers jours de l'entreposage. Au terme du 7<sup>ème</sup> jour, leur nombre, à 4°C, amorce une augmentation et atteint  $1,0 \times 10^4$  UFC /ml et  $2,2 \times 10^4$  UFC /ml. A 20°C, il est de  $1,2 \times 10^4$  UFC /ml,  $2,9 \times 10^4$  UFC /ml respectivement (Fig.12).

Au-delà du 10<sup>ème</sup> jour, les jus d'orange analysés sont impropres à la consommation (qualité non satisfaisante, numérations  $>10^3$  UFC/ml selon la réglementation internationale (UIJFN, 2009). En effet, les faibles valeurs de pH permettent la croissance des bactéries lactiques (pH 2,9 à 3,5), et acétiques (pH 3,0 à 4,5) (Chamba *et al*, 1994) et peuvent expliquer les valeurs des numérations obtenues.

De plus certaines bactéries lactiques (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*) peuvent également se développer lorsque la teneur en nutriments présents dans les boissons (jus de fruits) est suffisante. Ces bactéries sont aussi résistantes aux acides benzoïque et sorbique (CMMEF, 2001).



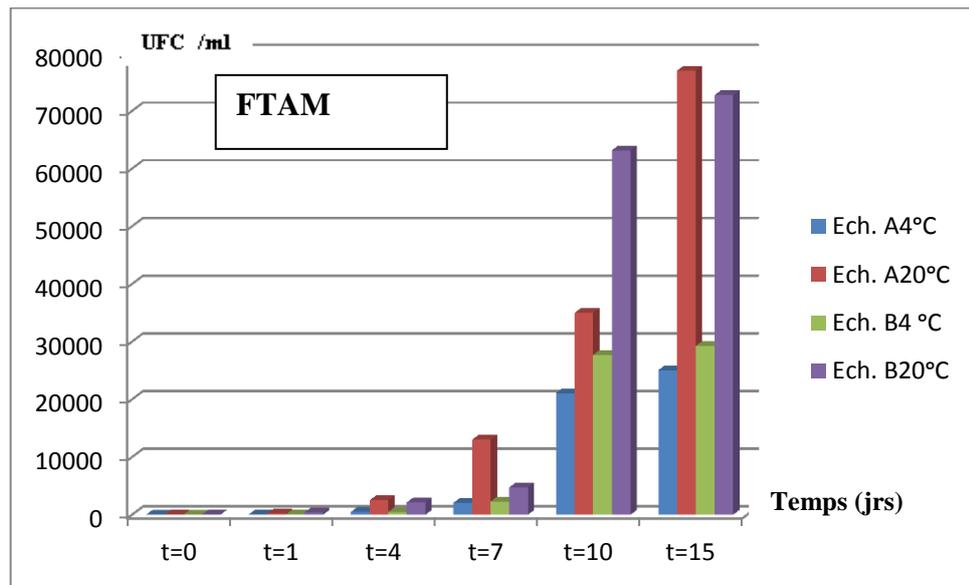
**Figure 12:** Evolution des numérations de la flore lactique en fonction de la température et du temps.

### III.3.1.3. Flore totale aérobie mésophile

Selon la courbe d'évolution des germes totaux à température ambiante, un développement de la FTAM est observé, le nombre atteint respectivement  $7,7 \times 10^5$  UFC/ml et  $7,2 \times 10^5$  UFC pour les Ech. A et B. La charge microbienne est donc élevée et largement supérieure à celle des échantillons à 4°C ( $2,5 \times 10^5$  et  $2,9 \times 10^5$  UFC /ml) (Fig.13).

Cette charge élevée due à la croissance des levures et des bactéries lactiques, ces bactéries utilisent les métabolites de la fermentation des levures comme substrats pour le développement.

Un nombre élevé de germes (bactéries et levures) est constaté lorsque les échantillons sont conservés à température ambiante par rapport à ceux réfrigérés. Bien évidemment, il est bien connu que le froid inhibe la croissance microbienne, permet une meilleure conservation et retarde fortement les processus fermentaires.



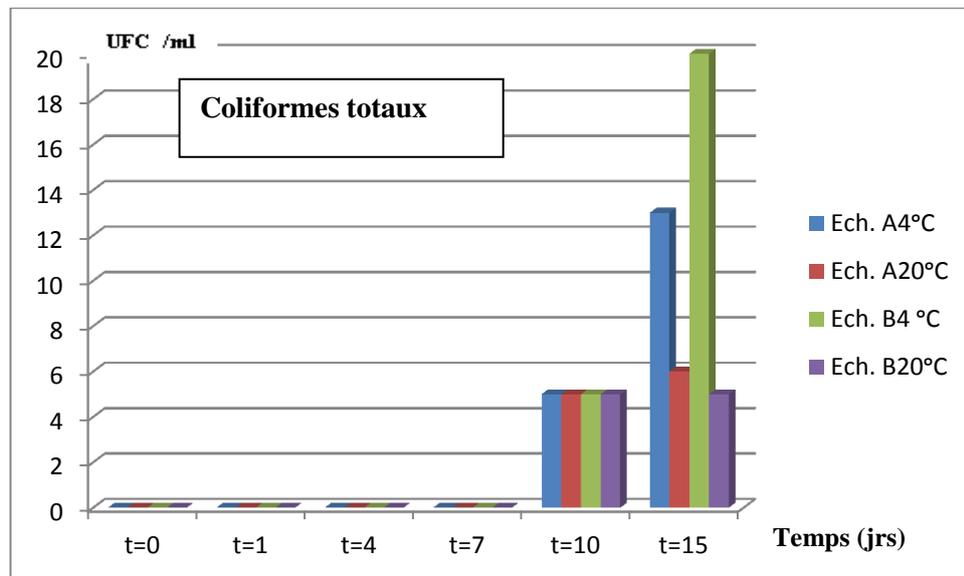
**Figure 13:** Evolution des numérations FTAM en fonction de la température et du temps.

### III.3.1.6. Coliformes totaux

Au terme du 10<sup>ème</sup> jour, Les coliformes cultivés sur milieu BCPL sont présents dans l'échantillon des jus à l'ordre de  $1,3 \times 10^1$  et  $2,0 \times 10^1$  UFC/ml pour les Ech. A et B entreposés à température 4°C et à 20°C, il est de 6 UFC/ml et 5 UFC/ml respectivement. Il n'en demeure pas moins que cela témoigne d'un niveau élevé de contamination (Fig.14).

Au-delà du 10<sup>ème</sup> jour, la qualité de jus d'orange devient inconsommable pour les deux échantillons (qualité non satisfaisante (présence) selon la réglementation nationale (J.O.N° 35, 1998).

L'apparition et la détection des coliformes dans un environnement acide (jus) après 10 et 15 jours serait attribuée selon Rai Aneja et al., (2014) à leur capacité à réguler leur pH interne et maintenir à pH neutre par une combinaison de mécanismes d'homéostasie passive et active. Elle est la conséquence probable d'une contamination due à un manque d'hygiène (manipulation).



**Figure 14:** Evolution des numérations des coliformes totaux en fonction de la température et du temps.

### III.3.1.5. *Clostridia* sulfito-réducteurs

Le dénombrement des *Clostridia* sulfito-réducteurs cultivé sur milieu Viande-Foie n'a été pas détecté pendant les 15 jours, ce qui est conforme aux normes préconisées par la réglementation nationale (J.O. N°35, 1998) et internationale (OMS et FAO, 2009).

*Clostridia* sulfito-réducteurs à un pH autour de 7 (neutre), ce qui explique son absence dans le jus (milieu acide).

### III.3.1.6. *Salmonella* spp.

Aucune salmonelle n'a été détectée sur milieu Héктоën pendant les 15 jours, ce qui est conforme à la réglementation nationale (J.O. N°35, 1998) et internationale (OMS et FAO, 2009).

Les valeurs minimales de pH permettant la croissance des bactéries des acides lactique (pH 2,9 à 3,5), et acétique (pH 3,0 à 4,5). L'aptitude des bactéries lactiques à se développer à pH bas et à produire simultanément des substances actives (acides lactique et acétique, eau oxygénée et bactériocines...) explique leur rôle bactériostatique ou bactéricide vis-à-vis d'espèces nuisibles responsables des défauts sensoriels des aliments fermentés ou présentant des risques pour la santé publique (*Salmonelles*, *Clostridium*) (Chamba et al, 1994).

## CONCLUSION GÉNÉRALE

La qualité des laits et de ses produits dérivés représente une notion complexe parce qu'elle possède plusieurs dimensions telles que la qualité physicochimique et microbiologique.

Les connaissances scientifiques sur les effets de l'alimentation sur la qualité des laits en vue de la transformation ont progressé ces dernières années et des techniques relativement simples d'emploi ont été développées pour caractériser plus complètement les laits et les produits qui en sont issus.

Au cours de cette étude, nous avons atteint un certain nombre des objectifs qui ont été fixé au début de notre travail. Nous avons pu, d'une part, côtoyer le monde industriel au niveau de la laiterie de Medjana et d'autre part, bien maîtriser tout le procédé de fabrication de la crème maturée en passant par les analyses physico-chimiques de la matière première et en arrivant à la maîtrise de la qualité physicochimique et microbiologique du produit fini. Les analyses physico-chimiques de la matière première (le lait) ont confirmé la très bonne conformité aux normes algériennes alors que les analyses microbiologiques de la crème élaborée ont montré une absence totale de la flore pathogène comme le *Staphylococcus aureus* ou les salmonelles.

Cette qualité microbiologique confirme la conformité du produit fini aux normes microbiologiques fixées par la réglementation nationale. Ce bon résultat est assuré grâce à l'activité de la flore lactique et d'une bonne pratique d'hygiène lors de la fabrication.

En conclusion, la production de la crème permet de valoriser la matière grasse du lait, en tirant profit des qualités nutritionnelles intéressantes de la crème obtenue. En outre, les connaissances acquises par les industriels restent toutefois encore partielles notamment vis à vis de la composition fine des laits et des caractéristiques sensorielles et technologiques des produits élaborés.

Ce travail mérite donc d'être approfondi dans le cadre de l'optimisation de la production et de la formulation de la crème maturée en prenant en compte les aspects rendement et qualités nutritionnelles et hygiéniques du produit fini ainsi que la recherche de la satisfaction d'un consommateur de plus en plus exigeant.

## Glossaire

**Acide ascorbique :** L'acide oxo-3-gulofuranolactone, est un acide organique ayant des propriétés antioxydantes. Il est présent sous une forme énantiomériquement pure dans les citrons, les jus de fruits et les légumes frais.

**Acide benzoïque :** L'acide benzoïque, de formule chimique  $C_6H_5COOH$  est un acide carboxylique aromatique dérivé du benzène. Il est utilisé comme conservateur (E 210) dans certains aliments tels que les jus de fruits.

**Acide citrique :** L'acide citrique (ou citrate) est une molécule biologique dont le nom provient du citron, dans lequel il est très abondant (95% de l'acidité du fruit).

**Acide malique :** l'acide malique est un acide alpha hydroxylé présent dans le raisin, il sera transformé en acide lactique au cours de la fermentation malactique sous les actions des bactéries.

**Acide sulfurique :** L'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) est un liquide dense et épais à température ambiante. C'est un acide biprotique, c'est-à-dire qu'en solution aqueuse, il conduit à la formation de deux ions hydronium ( $H_3O^+$ ), responsables du caractère acide.

**Anthocyanes :** ont des pigments naturels des feuilles, des pétales et des fruits, situés dans les vacuoles des cellules, solubles dans l'eau, allant du rouge orangé.

**Antioxydants :** Les antioxydants sont des molécules qui empêchent l'oxydation de certaines substances chimiques. Ils jouent un rôle de rempart protecteur contre les radicaux libres qui peuvent être source de nombreux problèmes de santé s'ils prolifèrent dans l'organisme.

**Citrus aurantium (L.) :** Le Bigaradier ou Oranger amer (*Citrus aurantium* L., 1753) est une espèce d'arbres de la famille des Rutacées (agrume). Le fruit, les feuilles, les rameaux et la fleur ont de nombreuses applications alimentaires et en parfumerie.

**Citrus sinensis( L.) Osbeck, 1765:** L'oranger (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck, 1765) est une espèce d'arbustes fruitiers de la famille des Rutacées. Cultivé dans les régions chaudes, comme les pays méditerranéens par exemple, cet hybride ancien est probablement un croisement entre le pamplemousse et la mandarine.

**Décret :** Un décret est un acte exécutoire émis par le pouvoir exécutif. C'est une décision qui ordonne ou règle quelque chose. Le décret, dont les effets sont analogues à ceux d'une loi, est l'une des manifestations du pouvoir réglementaire de l'exécutif.

**Diacétyl :** ou butanedione, est une molécule organique de formule brute  $C_4H_6O_2$ . On la trouve dans les produits lactés où elle est produite par la fermentation réalisée par des bactéries du genre *Lactococcus*.

**Dioxyde de soufre :** Le dioxyde de soufre, autrefois également appelé anhydride sulfureux, est un composé chimique de formule  $\text{SO}_2$ . Il s'agit d'un gaz incolore, dense et toxique, dont l'inhalation est fortement irritante.

**Extracteur Brown :** utilise un tuyau perforé qui est inséré dans les oranges et l'extraction du jus est assurée par un dispositif qui rappelle les doigts d'une main.

**Extracteur FMC :** les oranges sont coupées en deux moitiés et ensuite elles sont pressées à l'aide de deux demi-sphères perforées, l'une concave et l'autre convexe.

**Flash pasteurisation :** Le flash pasteurisé consiste à porter très rapidement le jus à  $95-97^\circ\text{C}$ , à le maintenir une douzaine de secondes à cette température, puis à le refroidir tout aussi rapidement jusqu'à  $82-85^\circ\text{C}$ . Le chauffage et le refroidissement sont réalisés dans des échangeurs de chaleur, à plaques tubulaires dans lesquelles le jus circule en couche mince. Puis, ils ont mis au point des échangeurs pouvant fonctionner sous pression, et, ainsi, porter le jus au-dessus de  $100^\circ\text{C}$ . Il est possible de pasteuriser le jus d'orange en 3 secondes à  $107^\circ\text{C}$ .

**Flavonoïdes :** sont des substances naturellement présentes dans de nombreux fruits et légumes, Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits.

**Furfural :** est un aldéhyde hétérocyclique, avec la structure cyclique (furane) indiquée à droite. Sa formule chimique est  $\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2$ . À l'état pur, c'est un liquide huileux incolore à l'odeur d'amandes, mais il jaunit rapidement au contact de l'air.

**Glucose oxydase :** La glucose oxydase est une enzyme oxydo-réductase qui catalyse l'oxydation du glucose en peroxyde d'hydrogène et en D-glucono- $\delta$ -lactone.

**Hydro colloïdes :** sont des agents de texture présents dans la majeure partie des produits de grande consommation. Ils apportent au produit sa structure (l'ossature du produit) qui se traduit sur le plan sensoriel par sa texture.

**Innocuité :** Qualité d'une chose qui n'est pas nuisible.

**Limonène :** est un hydrocarbure insaturé terpène présent dans le jus d'orange ; il est fortement apolaire et a une haute affinité pour de nombreux matériaux d'emballage polymères.

**Linalole :** est un alcool terpénique, alcool tertiaire, insaturé à l'odeur de muguet.

**Mycotoxines :** Les mycotoxines sont des toxines élaborées par diverses espèces de champignons microscopiques telles que les moisissures.

**Polychlorure de vinyle :** Le polychlorure de vinyle est un matériau obtenu chimiquement sous l'action de la chaleur, composé de macromolécules de sel (57 % ) et de (43 % )pétrole, qui est utilisé comme matière plastique de grande consommation.

**Polyéthylène :** Le polyéthylène est une des résines thermoplastiques les plus répandues dans le monde. Il possède une excellente résistance aux agents chimiques et aux chocs.

**Polyphénol oxydase** : c'est une enzyme qui catalyse l'oxydation des phénols.

**Rhéologie** : Branche de la mécanique qui étudie les rapports entre la viscosité, la plasticité et l'élasticité de la matière, ainsi que le comportement de celle-ci sous l'influence des pressions. La rhéologie est la science qui étudie les déformations et l'écoulement de la matière.

**Salubrité** : Caractère de ce qui est salubre (hygiène).

**Sorbate de potassium** : Le sorbate de potassium est un additif alimentaire, plus précisément un agent conservateur. Chimiquement, c'est un sel de potassium de l'acide sorbique.

**Terpinolène** : Hydrocarbure monoterpénique extrait de l'huile d'oranger.

**Terpène** : Nom générique d'hydrocarbures; ils entrent dans la composition des huiles essentielles naturelles de plantes.

**Toxi-infection d'origine alimentaire** : Une toxi-infection alimentaire (TIAC, en langage courant, intoxication alimentaire) est une maladie, souvent infectieuse et accidentelle, contractée à la suite de l'ingestion de nourriture ou de boisson contaminées par des agents pathogènes qu'il s'agisse de bactéries, virus, parasites ou de prions.

**Traçabilité** : La traçabilité est aujourd'hui une technique indispensable qui permet de connaître toutes les informations d'un produit liées à sa fabrication jusqu'à sa destruction (consommation).

## Références bibliographiques

- Abgrall B., Bourgeois C., Bourva F. (1985)**. Dénombrement des spores de *Clostridium tyrobutyricum* par filtration sur membrane et culture sur milieu gélosé. INRA Editions, pp.45-53.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). (1970)**. Détermination du pH.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). (1970)**. Détermination de degré de Brix.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). (1972)**. Détermination de la teneur en cendres.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). (1974)**. Détermination de l'acidité titrable).
- AFNOR (Association Française de Normalisation). (1974)**. Numération des coliformes totaux.
- Ahmed E.M., Dennison R A., Shaw P E. (1978)**. Effect of selected oil and essence volatile components on flavour quality of pumpout orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26 (2), 368-372.
- Alain B., Marie-madeleine R., Sébastien R. (2009)**. Alimentation processus technologiques et controles, 27 :87999-21079.
- Albrigo L.G., Carter D. (1970)**. *Citrus science and technology*. Ed Nagy.
- Anonyme. (2000)**. Guide pour l'élaboration et la pasteurisation des jus de fruits. Ed : crp : centre Romand de pasteurisation.
- Apab (Association des producteurs algérien des boissons). (2011)**. Guide de bonne pratique d'hygiène, Programme d'Appui aux PME/PMI et à la Maîtrise des Technologies d'information et de Communication (PME II). Industrie algérienne des jus de fruits, nectars et produits dérivés.
- Aurélié R. (2010)**. Influence des phénomènes d'oxydation lors de l'élaboration des moûts sur la qualité aromatique des vins de Melon B. et de Sauvignon Blanc en Val de Loire .Thèse : Montpellier Supagro.
- Baumgart W. (1994)**. La biosécurité au laboratoire de *microbiologie*, *Manual of Clinical Microbiology*.
- Berlinet C. (2006)**. Etude de l'influence de l'emballage et de la matrice sur la qualité du jus d'orange. Thèse : Sciences Alimentaires. Life Sciences. ENSIA (AgroParisTech).
- Bordjah A. (2011)**. Analyse physico-chimique et microbiologique du lait UHT demi écrémé dans le but d'obtention du diplôme de Brevet de Technicien Supérieure en Contrôle de Qualité dans les Industries Agro-alimentaire, centre de formation professionnelle El Hidhab Sétif Algérie - BTS en contrôle de qualité dans les industries agroalimentaires.

- Brahimi S. (2015).** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olive « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de Magister ; Biodiversité des microorganismes ; Univ :Oran 1 Ahmed Ben Bella.
- Cailhol et Grosselin. (2004).** Etude sur les boissons, cocktails, technologie et gestion, Éditions BPI , ISBN 978-2-85708-088-6, pp:248.
- Chamba J F. (1981).** Comparaisons de diverses méthodes de dénombrement de la flore acidifiante, INRA, édition, 61 (609 610), pp.555-567.
- Chamba J F., Duong C., Fazel A., Prost F. (1994).** Sélection des souches de bactéries lactiques In Bactéries Lactiques, vol. 1 , Eds H. De Roissart et F.M. Luquet.
- Claveau D. (2009).** Activités antimicrobiennes de différentes préparations de ZnO, CaO et MgO et leur potentiel comme agents de conservation dans les jus de fruits. Science de l'agriculture et de l'alimentation ; Mémoire Univ: Laval Québec.
- Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. (2001).** American public health association, Edited by; Frances pouches downs.
- Covadonga A ., Burns JK ., Friedrich LM ., Goodrich RM ., Parish ME. (2002).** Yeast species associated with orange juice: evaluation of different identification methods .Applied and Environmental Microbiology, pp: 1955-1961.
- Cuq J L. (2008).**Contrôle de qualité des aliments, Microbiologie alimentaire, Science et technologie des industries alimentaires ; Univ : Montpellier.
- Davies F S., Albrigo L G. (1994).** Fruit quality, harvesting and postharvest technology. In Citrus.Atherton J., Rees, A., Eds. Crop Production Science in Horticulture. CAB International.
- Delarras C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures.
- Djadi k. (1987).** Influence des conditions de stockage sur la qualité de jus d'orange. Mémoire de second cycle, technologie alimentaire .Institut agronomique et vétérinaire Hassan II.
- Euloge S., Adjou., Hospice A., Fidèle P., Tchabo., Vahid M., Aissi., Mohamed M. (1991).** Extraction assistée par enzyme du jus de la pulpe fraîche du rônier (*Borassus aethiopum* Mart) acclimaté au Benin : caractérisation physico-chimique et microbiologique.
- FAO (Food and Agriculture Organization). (2015).** Détermination de la densité.
- Friedman M., Molnar-PerII. (1990).** Inhibitiono of browning by sulfure amino acids.2: Fruits juice sand proteinc ontaining foods, Volume. 8, pp: 1648-1651.
- Gil-Izquierdo A ., Gil MI., Ferreres F. (2002).** Effect of processing techniques at industrial scale on orange juice antioxidant and beneficial health compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vo 50, pp 5107-5114.

**Gomez MA ., Chumillas MR ., Yulissa Y., Belisario-S. (2011).** Food Engineering and Agricultural Equipment Department Technical University of Cartagena, Spain Packaging and the Shelf Life of Orange Juice.

**Guirand J., Galzy P. (1980)., Cheftel J C., Cheftel H. (1948).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires ; Collection Génie alimentaire ; Edition de l'Usine ; pp: 240

**Hamzaoui A ., Fellah M. (2014).**Qualité du l'eau destinée à la production de lait IFKI Ben Badis (Sidi Bel Abbés). Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en agroforesterie ;Univ: Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.

**Hendrix CM et Redd J B (1995).** Chemistry and Technology of Citrus Juices and By Products In Ashurst P R (Ed) 1995 Production and Packagign of Non Carbonated Juices and Fruit Beverages Blakie Academic & Professional p: 53-87.

**Hsu EJ ., Beuchat LR. (1986).** Factors affecting microflora in processed fruits Commercial fruit processing.

**Huelin F.E., Coggiola I M., Sidhu G S., Kennett B H. (1971).** The anaerobic de composition of ascorbic acid in the pH range of foods and in more acid solutions. Journal of the Science of Food and Agriculture, 22 (10), 540-542.

**Huet R. (1991).** Les huiles essentielles d'agrumes. D-Technologie d'extraction. Fruits, 46,551-564.

**Jacques M et Jérôme R. (2008).** 100 manipulations de chimie générale et analytique ;Univ : Claude Bernard LYON1.

**Journal Officiel N° 35. (1998).** Critères microbiologiques des eaux et boissons, convention et accords internationaux loi- décrit – décision – avis et annonce, République algérienne.

**Julie P. (2008).** Etude de l'effet de la consommation d'un jus enrichi en fibres alimentaires sur la satiété et la réponse glycémique ; Univ: Laval.

**Kefrod D., Jose L., Gordan H. (1992).** Concentration and stability of ascorbic acid in reconstituate orange juice , Food chem , Vol: 27.

**Kimball D.A. (1999).** Citrus processing a complete guide, second édition. Kimball D.A., Ed. Gaithersburg : An Aspen publication.

**Kirchner R., Dinision RA., Wolved RW., (1986).** Orange in volatils flavor constituents of canned single orange juice as influenced by storage temperatures, food technologie; Vol: 12; pp: 592-595

**Kusano k ., Yamada H ., Niwa M ., Yamasato K. (1997).** Propionibacterium cyclohexanicum sp.nov., a New Acid-Tolerant, Cyclohexyl Fatty Acid-Containing Propionibacterium Isolated from Spoiled Orange Juice.

**Lombard B. (2004).** Les essaies inter-laboratoires en microbiologie des aliments.Thèse de doctorat. Ecole dortorale ABIES.

**Machiels ., Istasse. (2002).** La réaction de Maillard : importance et applications en chimie des aliments Service de Nutrition des Animaux Domestiques, Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Belgique,pp : 43.

- Makhloudfi K M. (2011).** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université Pierre et Marie Curie.
- Messaid H. (2007).** Optimisation du processus d'immersion-réhydratation du système dattes séchées – jus d'orange. Université M'hamed Bougara- Boumerdes.
- Mihajlovic H B., Brent D., Couture H., Farber J. (2013).** Évaluation qualitative des risques microbiologiques que comportent les jus non pasteurisés de pomme et d'autres fruits. Direction des aliments, Direction générale des produits de santé et des aliments, Santé Canada, Ottawa, ON, Canada.
- Mottar J. (1989).** The usefulness of polypropylene for the aseptic packaging of orange juices. pp: 119-122.
- Nagy S., Dismore H. (1974).** Relation of furfural to temperature abuse and flavor change in commercially canned single, Journal of food science, Vo3, pp: 1116 1119.
- Naim M., Schutz O., Zehavi U., Rouseff R L., Haleva-Toledo E. (1997).** Effects of orange juice fortification with thiols on p-vinylguaiacol formation, ascorbic-acid degradation, browning, and acceptance during pasteurization and storage under moderate conditions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vo 45, pp: 1861-1867.
- OMS et FAO. (2009).** Programme FAO/OMS mixte sur les normes alimentaires comité exécutif de la commission du codex alimentaire, Soixante-troisième session Siège de l'OMS (Genève), 8-11.
- Pourmaghi-Azar MH, Ojani R. (1997).** A selective catalytic voltammetric determination of vitamin C in pharmaceutical preparations and complex matrices of fresh fruit juices .Talanta, 44: 297-303.
- Rai Aneja K ., Dhiman R., Kumar N., Aggarwal B., Vikas K., Kaur M. (2014).** International Journal of Food Science Microbes Associated with Freshly Prepared Juices of Citrus and Carrot Volume 2014 (2014), Article ID 408085, pp:1-7.
- Rashed N., Aftab U., Azizul H., Saurab K. M., Mrityunjoy A ., M Majibur R. (2012)** .Microbiological study of vendor and packed fruit juices locally available in Dhaka city, Bangladesh1 Department of Microbiology, Stamford University Bangladesh.
- Rassis D., Saguy I S. (1995).** Kinetics of aseptic concentrated orange juice quality changes during commercial processing and storage. International Journal of Food Science and Technology, Vo 30, pp: 191-198.
- Richard H. (1992).** Connaissance de la nature des arômes. In : *Les arômes alimentaires*. Multon , Ed ; Lavoisier, Paris, 1992, pp : 21-37.
- Riester DW., Hays G L. (1952).** The control of spoilage in frozen concentrated orange juice. Food Technol., Vo. 6, pp: 386-389.



**Satar A., Durrani M J., Khan R N., Hussain B H. (1989).** Effect of packaging materials and fluorescent light on HTST-pasteurized orange drink. pp: 430-433.

**Secke C. (2007).** Contribution à l'étude de la qualité bactériologique des aliments vendus sur la voie publique de Dakar. Doctorat d'état en médecine vétérinaire. Université Cheikh Anta Diop.

**Sinclair M., Swift K. (1974).** Effects of storage conditions on totals vitamine C, Agric food chem; Vol: 28; pp: 417-421.

**Union Interprofessionnelle des Jus de Fruits et Nectar. (2009).** Chartes d'engagement volontaires du progrès nutritionnels, Version grand public.

**Yu, M.H., Cull N. (1974).** Enzymatic browning in synthetic systems containing ascorbic acid, amino acids. Organic acids. Volume 7. pp : 279-282.

<b>Annexe N°01</b>	<b>Textes réglementaires</b>	
	<b>Textes réglementaires</b>	

✓ **Textes réglementaires de la république algérienne démocratique et populaire**

– **Protection des consommateurs**

- ❖ Loi algérienne n° 09-03 du 29 Safar 1430 correspondant au 25 février 2009 relative à la protection du consommateur et à la répression des fraudes.

– **Etiquetage**

- ❖ Décret exécutif n°05-484 du 20 Dhou el Kaada 1426, correspondant au 22 décembre 2005, modifiant et complétant le décret exécutif n°90-367 du 10 novembre 1990, relatif à l'étiquetage et à la présentation des denrées alimentaires.

– **Additifs**

- ❖ Le Décret exécutif n° 92-25 du 13 janvier 1992 fixe les conditions et modalités d'utilisation des additifs dans les denrées alimentaires. La liste des additifs autorisés est quant à elle publiée dans l'arrêté interministériel du 2 Dhou El Hidja 1422 correspondant au 14 février 2002 et les conditions d'utilisation des édulcorants sont fixées par l'arrêté interministériel du 7 Ramadan 1420 correspondant au 15 décembre 1999.

– **Microbiologie**

- ❖ Arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif à la spécification microbiologique de certaines denrées alimentaires.
- ❖ Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

✓ **Textes réglementaires de l'union européenne**

- ❖ Règlement (CE) 178/2002 du Parlement Européen et du Conseil Européen du 28 janvier 2002, établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité Européenne de Sécurité des aliments et énonçant des exigences relatives à la sécurité des alimentaires.

- ❖ Règlement (CE) n° 852/2004 du Parlement Européen et du Conseil Européen du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.
- ❖ Directive 2000/13/CE du Parlement Européen et du Conseil Européen du 20 mars 2000 relative au rapprochement des législations des États membres concernant l'étiquetage et la présentation des denrées alimentaires ainsi que la publicité faite à leur égard.
- ❖ Directive 2001/112/CE du Conseil Européen du 20 décembre 2001 relative aux jus de fruits et à certains produits similaires destinés à l'alimentation humaine.
- ❖ Règlement (CE) n° 1333/2008 du Parlement Européen et du Conseil Européen du 16 décembre 2008 sur les additifs alimentaires.

<b>Annexe N°02</b>	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des paramètres physico-chimiques de jus d'orange</b> <b>Préparation des solutions chimiques</b>	

✓ **Solution de diiode :**

On a :  $C = 5.10^{-3} \text{ mol/l}$  ;  $V = 500 \text{ ml}$  ;  $M = 253,81 \text{ g/mol}$

$$m = CMV \longrightarrow m = 5.10^{-3} * 500.10^{-3} * 253,81$$

$$m = 0.63 \text{ g}$$

- Peser 0.63g de diode.
- Dans une fiole de 500ml en verse 100ml d'eau distillé puis on ajoute le diiode pesé
- Agiter le contenu à l'aide d'un agitateur magnétique puis on ajoute le Ki petit à petit jusqu'à la dissolution totale de diiode.
- Rempli la fiole jusqu'au trait de jauge.

**NB :** Le travail s'effectuer sous la hotte.

✓ **Solution de thiosulfate de sodium :**

On a :  $C = 5.10^{-3}$  ;  $V = 500 \text{ ml}$  ;  $M = 248,2 \text{ g/mol}$

$$m = CMV \longrightarrow m = 5.10^{-3} * 500.10^{-3} * 248,2 \text{ g}$$

$$m = 0,62 \text{ g}$$

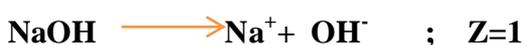
- Peser 0.63g de diode.
- Dans une fiole de 500ml en verse 100ml d'eau distillé puis on ajoute le thiosulfate de sodium.
- Agiter le contenu à l'aide d'un agitateur magnétique.
- Rempli la fiole jusqu'au trait de jauge.

✓ **Solution d'empois d'amidon 2% :**

2g dans 100ml

- Peser 2g de d'amidon
- Dans une fiole de 100ml en verse 50ml d'eau distillé puis on ajoute l'amidon
- Chauffer et agiter le contenu à l'aide plaque chauffante
- Rempli la fiole jusqu'au trait de jauge
- Laisser la solution jusqu'à l'ébullition

**Préparation de NaOH (0.1N) :**



$$C = n/v \longrightarrow C = n = 0.1 \text{ mol/l}$$

$$n = m/M \longrightarrow m = MCV \quad ; \quad M = 40\text{g/mol} ; V = 500 \text{ ml}$$

$$m = 0.1 \times 40 \times 500 = 2\text{g}$$

– Peser 2g de NaOH

– Dans une fiole de 500ml on verse 100ml d'eau distillé puis on ajoute le NaOH

– Agiter le contenu à l'aide d'un agitateur magnétique

– Rempli la fiole jusqu'au trait de jauge

✓ **Préparation de phénol phtaléine :**

10g dans 1000 ml d'alcool

Pour préparer 50ml :

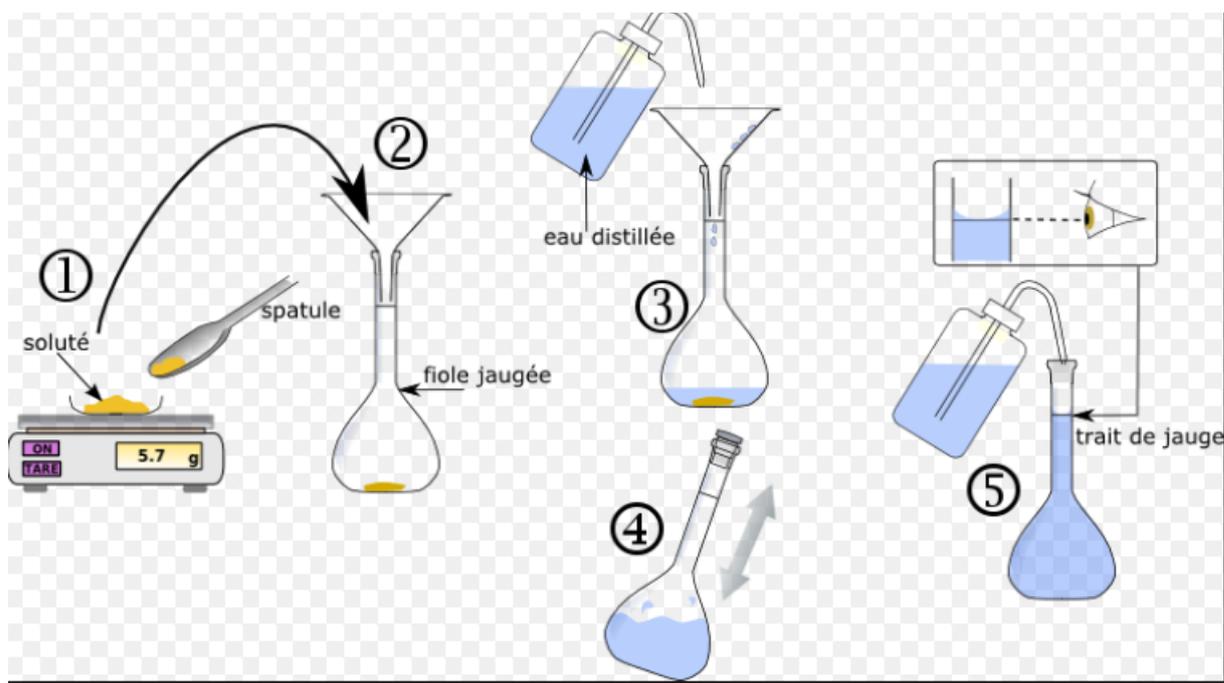
$$\begin{array}{l} 10\text{g} \longrightarrow 1000\text{ml} \\ X \longrightarrow 50\text{ml} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 10\text{g} \\ X \end{array}} \right\} m = 0.5 \text{ g}$$

– Peser 0.5g de phénol phtaléine.

– Dans une fiole de 50ml on verse 10ml de l'alcool puis on ajoute le phénol phtaléine.

– Agiter le contenu à l'aide d'un agitateur magnétique.

– Rempli la fiole jusqu'au trait de jauge.



**Mode opératoire d'une préparation d'une solution chimique.**

<b>Annexe N°03</b>	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des paramètres physico-chimiques de jus d'orange Détermination du pH</b>	

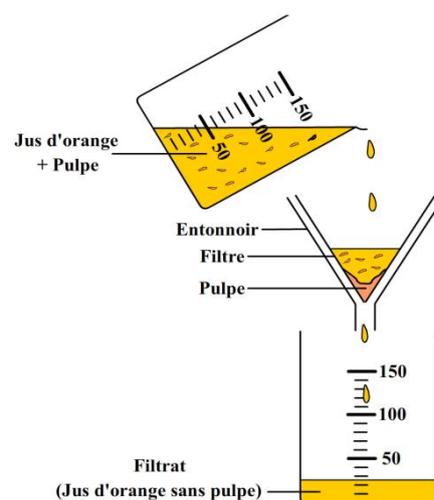
### Principe

Il s'agit de potentiométrie avec un pH-mètre.

### Mode opératoire

- Filtration de jus d'orange.
- Régler la température de l'échantillon et les solutions tampons utilisées à la température ambiante (de 20 à 25°C), et régler le compensateur thermique en fonction de la température observée.
- Étalonnage du pH-mètre.
- Rincer et éponger les électrodes ; les immerger ensuite dans l'échantillon et relever le pH, en laissant l'appareil se stabiliser pendant une minute.
- Rincer et sécher les électrodes et répéter l'opération avec un nouvel échantillon.

**NB :** L'expérience est répétée trois fois.



Source : (AFNOR, 1970)

<b>Annexe N°04</b>	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des paramètres physico-chimiques de jus d'orange</b> <b>Détermination de la densité et de la conductivité</b>	

✓ **Détermination de densité :**

**Mode opératoire**

- Rempli une éprouvette de 250 ml en jus d'orange et immerger le densitomètre puis lire la valeur présenter (Euloge et *al.*, 1991).



✓ **Détermination de la conductivité :**

La conductivité électrique nous renseigne sur la teneur en sels solubles  
Elle est mesurée à l'aide d'un conductimètre

**Mode opératoire**

Immerger la sonde du conductimètre dans l'échantillon et lire la valeur affichée sur le conductimètre, l'unité de mesure est  $\mu\text{s}/\text{c}$ .



Source :(AFNOR, 1970)

<b>Annexe N°05</b>	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des paramètres physico-chimiques de jus d'orange</b> <b>Détermination de la viscosité</b>	

### ✓ Détermination de la viscosité

Peut être définie comme la résistance à l'écoulement uniforme et sans turbulence se produisant dans la masse d'une matière. Lorsque la viscosité augmente, la capacité du fluide à s'écouler diminue. Pour un liquide (au contraire d'un gaz), la viscosité tend généralement à diminuer lorsque la température augmente.

A l'aide d'un viscosimètre on peut lire la valeur de viscosité directement sur l'appareil.



Source : (Julie, 2008).

<b>Annexe N°06</b>	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des paramètres physico-chimiques de jus d'orange</b> <b>Mesure de degré de Brix</b>	

### ✓ Le taux de sucre, mesuré en degré Brix

Le degré Brix mesure le poids en gramme de matière sèche soluble (principalement du sucre pour les pulpes de fruit) contenue dans 100 g de produits. Par exemple, un sirop à 70° Brix représente un sirop contenant 70 g de sucre et 30 g d'eau. Le degré de Brix se mesure à l'aide d'un réfractomètre.

Pour les boissons aux fruits, le degré de Brix varie entre 11 et 15° selon les pays. Il peut atteindre 15° Brix en Afrique pour certaines boissons très sucrées, 13° Brix en Europe du Sud et 11° Brix en Europe du Nord.

### Principe

Mesurer à la température de 20°C l'indice de réfraction de l'échantillon préparé et conversion de cet indice en résidu sec soluble.

### Mode opératoire

Essuyer le réfractomètre avec de l'eau distillée. Déposer une quantité de l'échantillon sur la lentille lire la valeur de Brix directement sur le réfractomètre.



Source :( AFNOR, 1970)

<b>Annexe N°07</b>	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des paramètres physico-chimiques de jus d'orange</b> <b>Détermination de l'acidité</b>	

✓ **Détermination de l'acidité du jus d'orange :**

L'acidité titrable des jus, exprimée en teneur d'acide citrique par unité de volume est déterminée par titrimétrie .

**Principe**

Le principe de la méthode consiste à un titrage de l'acidité avec une solution d'hydroxyde de Sodium (NaOH) en présence de Phénolphtaléine comme indicateur coloré.

**Mode opératoire**

Prélever 100ml de l'échantillon et les verser dans un bécher muni d'un agitateur. Ajouter 0,25 à 0,5ml de Phénolphtaléine et tout en agitant versé dans la burette la solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à l'obtention d'une coloration rose persistant pendant 30s.

**Calcul de l'acidité :**

$$C_0 = (C_1 \times V_{eq}) / V_0 \quad \longrightarrow \quad M \text{ (acide citrique)} = 192.124\text{g/mol}$$



Source :( AFNOR, 1974)

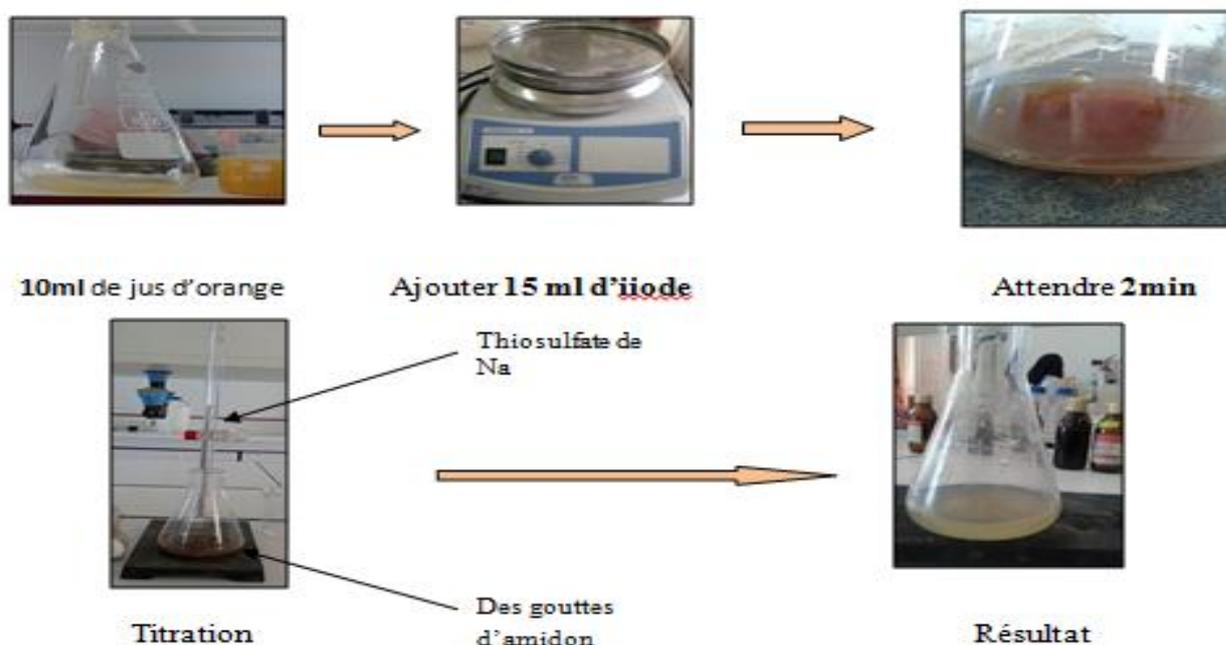
Annexe N°08	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des paramètres physico-chimiques de jus d'orange</b> <b>Détermination de la vitamine C</b>	

### ✓ Détermination de la vitamine C

La vitamine C a été dosée par réaction d'oxydoréduction : dosage par excès.

#### Méthode :

- Prélever 10ml de l'échantillon et les verser dans un erlenmeyer muni d'un agitateur.
- Ajouter 15ml de solution diiode ( $M= 5 \cdot 10^{-3}$  mol/l) laisser les réagir pendant 2min.
- Ajouter quelques gouttes d'amidon.
- Verser dans la burette la solution thiosulfate de sodium ( $C= 5 \cdot 10^{-3}$  mol/l).
- Titrer le contenu de l'erlenmeyer jusqu'à la disparition de la couleur (Pourmaghi-Azar et Ojani, 1997).



**Réaction de dosage :** – Oxydation de l'acide ascorbique par le diiode



– Dosage du diiode en excès par les ions thiosulfate  $I_2 + 2S_2O_3^{2-} \longrightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$

✓ **Calcul :**  $C_2 V_{2E} = 2(n_1 - n_0) \longrightarrow C_0 = (2C_1 V_1 - C_2 V_{2E}) / 2V_0$

Avec :  $n_0$  : vitamine C dans 10ml de jus ;  $n_1$  : quantité de  $I_2$  ;  $n_{2E} = 2(n_1 - n_0)$

–Quantité de vitamine C en gramme :  $m = MCV$  ;  $M_{vit c} = 176g/mol$

Annexe N°09	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des paramètres physico-chimiques de jus d'orange</b> <b>Taux de sucres totaux</b>	

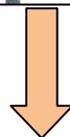
### ✓ Détermination des sucres totaux

Dans un erlenmeyer de 250 ml, ajouter 10ml de la solution à doser et 5ml de la solution d'acide chlorhydrique. Chauffer l'erlenmeyer coiffé d'un verre de montre à 80°C pendant 20 minutes : le saccharose contenu dans le jus d'orange est alors hydrolysé en D-glucose et D-fructose. Le fructose étant un cétose, il n'est pas oxydé par les ions iodate en milieu basique.

On procéde ensuite au dosage du glucose tel que décrit ci- dessus .Refroidir l'erlenmeyer puis ajouter 20 ml de la solution de diiode et 10ml de solution d'hydroxyde de sodium. Laisser réagir 30 minutes à l'obscurité. Ajouter 15ml de la solution d'acide chlorhydrique, puis doser par la solution de thiosulfate de sodium (masphède et Randon , 2008 ).

**Calcul:**  $C_1 V_1 = C_2 V_2 \longrightarrow C_1 = (C_2 V_2) / V_1$

$m = MCV \quad / \quad M(\text{glucose}) = 180\text{g/mol}$



**Source :** (Jacques et Jérôme, 2008).

<b>Annexe N°10</b>	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des paramètres physico-chimiques de jus d'orange</b> <b>Degré de brunissement</b>	

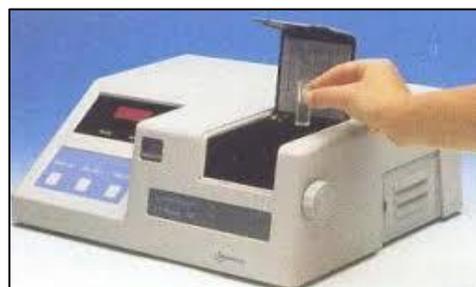
### ✓ Degré de brunissement

Le jus d'orange est centrifugé à 2000g pendant 15 min à 4°C dans une centrifugeuse.

Le surnageant est récupéré et filtré et dilué 2 fois avec de l'eau ultra pure. L'indice de brunissement correspond à l'absorbance mesurée à 420 nm avec le spectrophotomètre qu'il est préalablement calibré avec de l'eau ultra pure (Lee et Chen, 1998).



Centrifugation des échantillons



Mesure de l'absorbance à la longueur d'onde (420nm)

**Source :**(Euloge et al,  
2013)

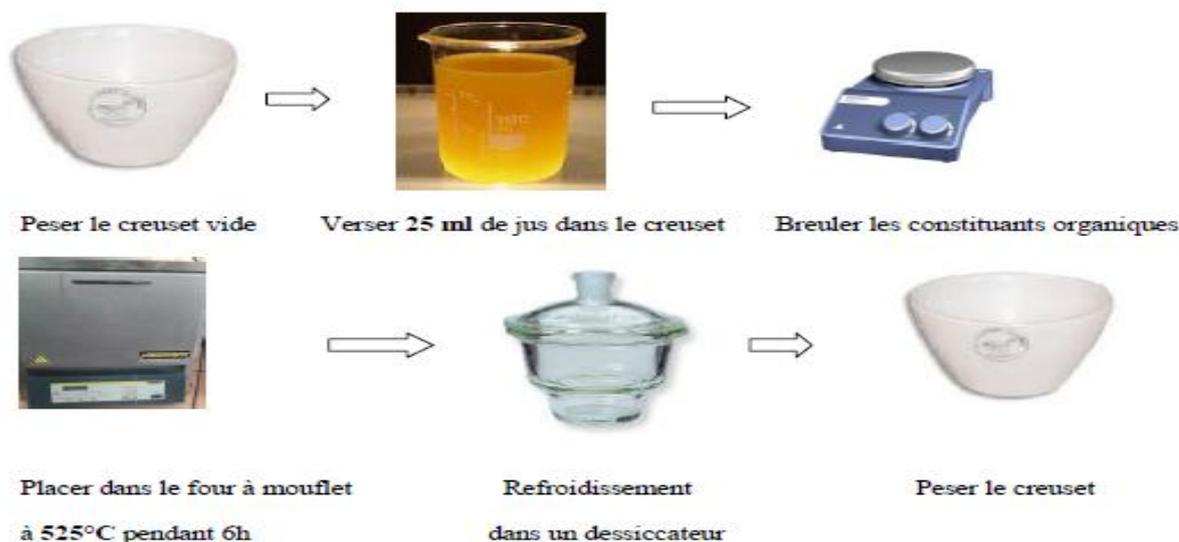
<b>Annexe N°11</b>	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des paramètres physico-chimiques de jus d'orange</b> <b>Détermination de taux de cendre</b>	

### Principe

Les cendres sont déterminées par méthode gravimétrique après avoir calciné l'échantillon à analyser dans un four à moufles à 525°C #177; 25 °C.

### Mode opératoire

- Préparer l'échantillon à analyser.
- Evaporer à sec 25ml (ou 25g) de l'échantillon à analyser dans une capsule de platine préalablement pesée (masse =  $m_a$ ) à l'aide du bain marie.
- Chauffer lentement dans une hotte d'aspiration le résidu sec sur une plaque chauffante jusqu'à ce que la majeure partie des constituants organiques soit brûlée.
- Calciner le résidu dans un four à moufles à 525°C #177; 25 °C pour parachever la combustion du carbone et jusqu'à ce que le résidu de combustion soit devenu blanc.
- Laisser refroidir ensuite la capsule à température ambiante dans un dessiccateur et peser rapidement (masse =  $m_b$ ).



– Les résultats sont exprimés comme suit :

$$\text{Cendres} = 4 \times (m_b - m_a)$$

Avec : 4 : c'est le facteur de conversion de 25ml à 100ml (ou de 25g à 100g).

Source : (AFNOR, 1972)

Annexe N°12	<b>Fiche technique</b>	
	<b>Détermination des paramètres microbiologiques de jus d'orange</b> <b>Bactéries lactiques</b>	

<b>Bactéries lactiques</b>	
<b>Morphologie</b>	Ces bactéries peuvent avoir des formes en bâtonnet ou en coque, non sporulantes.
<b>Coloration de Gram</b>	Gram+
<b>Mobilité</b>	Immobilés.
<b>Type respiratoire</b>	Anaérobie strict ou aérotoleérant.
<b>Catalase</b>	-
<b>Conditions de culture</b>	Température optimale : suivant les espèces : <i>Lactobacillus fermentum</i> 25-41°C, <i>Lactobacillus casei</i> 25-42°C, <i>Leuconostoc citreum</i> 20-30°C, <i>Leuconostoc mesenteroides</i> 40°C , <i>Streptococcus agalactiae</i> 37°C , <i>Weissella paramesenteroides</i> 30°C...
<b>Caractères spécifiques</b>	Ces bactéries ont la capacité de fermenter les sucres (glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose et lactose) en acide lactique.  Elles ne produisent pas de pseudocatalase.
<b>Habitat</b>	Les bactéries lactiques sont présentes à l'état libre dans l'environnement ou vivent en association avec un hôte, tel que l'homme ou l'animal, dans un écosystème bactérien comme le tractus gastro-intestinal ou génital des mammifères.
<b>Culture des bactéries lactiques</b>	Les bactéries lactiques demandent des milieux riches en différents nutriments pour croître (sucres, acides aminés, acides gras, sels, vitamines) et pauvres en oxygène. Elles sont essentiellement cultivées dans le milieu Man Rogosa Sharpe (MRS).

Source :(Makhloufi, 2011)

Annexe N°13	<b>Fiche technique</b>	
	<b>Détermination des paramètres microbiologiques de jus d'orange</b> <b><i>Leuconostoc</i></b>	

<b>Leuconostoc</b>	
<b>Morphologie</b>	Sous forme d'éléments coccoïdes à lenticulaires et/ou coccobacilles.
<b>Coloration de Gram</b>	Gram+
<b>Mobilité</b>	Immobilés.
<b>Type respiratoire</b>	Se développant en aérobie et en anaérobie
<b>Catalase</b>	-
<b>Conditions de culture</b>	mésophiles, ayant une température optimale de croissance entre 20 et 30°C.
<b>Caractères spécifiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Certaines espèces comme <i>L. mesenteroides</i> produisent, dans un milieu riche en sucres tel que du glucose ou du sucrose, des capsules de dextrane, un polysaccharide qui augmente la viscosité du produit fermenté. Par exemple, la production de ces dextrans par <i>L. mesenteroides</i> dans le jus de canne a été reconnue comme nuisible à la production de sucrose à partir du sucre de canne et du sucre de betterave.</li> <li>• les Leuconostocs peuvent produire certains composés aromatiques comme l'acétoïne et le diacétyl à partir du citrate donnant un goût et un arôme intéressant dans l'industrie laitière, mais indésirable dans les jus de fruits.</li> </ul>

Source : (Claveau, 2009)

Annexe N°14	<b>Fiche technique</b>	
	<b>Détermination des paramètres microbiologiques de jus d'orange Coliformes</b>	

<b>Coliformes</b>	
<b>Morphologie</b>	Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles, asporulés, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+.
<b>Coloration de Gram</b>	Gram-
<b>Type respiratoire</b>	Aérobies anaérobies facultatifs.
<b>Selon l'origine et l'habitat</b>	<p>On rencontre deux groupes d'origine et d'habitat différents qui sont les coliformes non fécaux et les coliformes témoins de contamination fécale :</p> <p>Les CF constituent un sous-groupe des CT capables de se développer à 44 °C. Les CF sont les plus appropriés que les CT comme indicateurs de contamination fécale. Ce groupe est majoritairement constitué d'<i>Escherichia coli</i> mais comprend aussi des <i>Klebsiella</i>, des <i>Enterobacter</i> et des <i>Citrobacter</i>.</p>
<b>Caractères spécifiques</b>	Elles fermentent le lactose avec production de gaz à 30°C. Il s'agit d'un groupe disparate non défini sur le plan taxonomique qui comprend les genres <i>Escherichia</i> (avec les espèces <i>coli</i> , <i>intermedium</i> , <i>freudii</i> ), <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> et <i>Klebsiella</i> .
<b>Habitat</b>	CT ne sont spécifiques de la flore intestinale des animaux à sang chaud, certaines espèces sont d'origine tellurique ou aquatique et sont capables de se développer dans l'environnement aquatique.
<b>Culture des Coliformes</b>	<p>Le test de différenciation entre les coliformes totaux et les coliformes fécaux (Test de Mac Conkey ou d'Eijkman) repose sur l'incubation des milieux à deux températures (30 et 44,5°C).</p> <p>La <b>colimétrie</b>, c-à-d la numération des coliformes, peut être réalisée soit en milieu liquide, soit en milieu solide (par ensemencement dans la gélose ou après filtration).</p>

**Source :**(Hamzaoui et Fellah, 2014).

Annexe N°15	<b>Fiche technique</b>	
	<b>Détermination des paramètres microbiologiques de jus d'orange <i>Clostridium</i></b>	

<b><i>Clostridium</i></b>	
<b>Morphologie</b>	Bactéries en batonnêts (bacilles). Spores ovales ou sphériques déformantes, résistantes aux facteurs physico-chimiques (thermorésistance...).
<b>Coloration de Gram</b>	Gram+.
<b>Mobilité</b>	Habituellement mobiles (à flagelles péritriches) ; <i>Cl.perfriengens</i> immobiles
<b>Type respiratoire</b>	Anaérobie stricte.
<b>Catalase</b>	–
<b>Conditions de cultures</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Température optimale de 25°C à 45°C suivant les espèces <i>Cl.botulinum</i> 30-40°C, <i>Cl difficile</i> 30-37°C, <i>Cl.perfriengens</i> 45°C, <i>Cl .sporogenes</i> 30-40°C, <i>Cl.tetani</i> 37°C.</li> <li>• Clostredia thermophiles : <i>Cl.thermobutyricum</i> 55°C, <i>Cl.thermocellum</i> 40-68°C, <i>Cl.thermolacticum</i> 60-65°C.</li> </ul>
<b>Caractères spécifiques</b>	Saccharolytiques, protéolytiques... suivant espèces, ne réduisent pas les sulfates en H <sub>2</sub> S.
<b>Milieux de cultures pour bactéries anaérobies strictes</b>	Bouillon de Schaedler +vitamine K et bouillon de Schaedler gélosé 0.02%+ vitamine K bioMérieux® SA, Bouillon théoglycolate avec résazurine...
<b>Milieux d'isolement sélectifs</b>	Gélose viande- foie -sulfite –fer et TSC Bio-Rad ; Gélose sulfite de fer bio Mérieux® SA. Gélose Schaedler avec 5% de sang de mouton bioMérieux® SA...
<b>Identification biochimique</b>	Galleries API® 20A et Rapid® ID 32 A bioMérieux® SA.

Source : (Delarras, 2014)

Annexe N°16	<b>Fiche technique</b>	
	<b>Détermination des paramètres microbiologiques de jus d'orange Salmonelles</b>	

<b>Salmonelle</b>	
<b>Morphologie</b>	Bacilles G-, asporulés.
<b>Habitat</b>	sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux.
<b>Mobilité</b>	Le plus souvent mobiles.
<b>Type respiratoire</b>	Aéroanaérobies.
<b>Lactose</b>	-
<b>H<sub>2</sub>S</b>	+
<b>Quelques espèces</b>	<i>S. typhimurium</i> , <i>S. heidelberg</i> , <i>S. java</i> , <i>S. panama</i> , <i>S. montevideo</i> , <i>S. goldcoast</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> .
<b>Caractères spécifiques</b>	<p>- Dans le genre <i>Salmonella</i>, plus de 2000 sérotypes sont actuellement décrits, tous présumés pathogènes pour l'homme.</p> <p>- Les toxi-infections à <i>Salmonella</i> sont très fréquentes et ces <b>germes sont les plus souvent impliqués dans les TIA.</b></p> <p>- La dose infectante est de quelques cellules pour <i>Salmonella typhi</i>, <i>paratyphi A</i>, <i>B</i> ou <i>C</i>, et de 10<sup>9</sup> pour <i>S. typhimurium</i> et de 10<sup>6</sup> pour <i>S. anatum</i>.</p>
<b>Protocole de recherche des salmonelles.</b>	<p>Pour la recherche des salmonelles, il faut faire :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pré-enrichissement : à partir de la suspension mère de l'aliment en eau peptonée tamponnée (milieu non sélectif), préparer un pré enrichissement dans le même milieu de culture selon le mode opératoire de la norme incubé à 37± 1°C pendant 18 ±2h.</li> <li>• Enrichissement : transférer 1 ml des cultures obtenue dans des tubes de 10 ml de bouillon EE, incubé à 37±1°C pendant 24± 2h.</li> <li>• Isolement : à partir des tubes de bouillon EE présumptifs positifs, ensemencé sur une boîte de gélose VRBG, incubé à 37°C pendant 24± 2 h.</li> </ul>

**Source :** (CUQ, 2007 ;  
Delarras, 2014)

<b>Annexe N°17</b>	<b>Fiche technique</b>	
	<b>Détermination des caractères microbiologiques de jus d'orange</b> <b>Milieux de cultures</b>	

Milieu	Composition	Préparation	Conservation
<b>Milieu PCA (Plate Count Agar)</b>	-Hydrolysat tryptique de caséine 5 g -Extrait de levure 2.5g -Glucose 1g -Agar 15g -Eau distillée 1l  pH = 7	- Mettre en suspension 23 g dans 1 litre d'eau distillée. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1min. -Répartir en tubes ou flacons. - Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes	-Le milieu en tubes ou flacons se conserve entre 2 et 25°C. -Le milieu en boîtes se conserve entre 2 et 8°C.
<b>MRS</b>	-Polypeptone 10g -Extrait de viande 10 g -Extrait autolytique de levure 5g -Glucose 20g -Tween 80 1.08g -Phosphate dipotassique 2g -Acétate de sodium 5g -Citrate d'ammonium 2g -Sulfate de magnésium 0.2g -Sulfate de manganèse 0.05g -Agar agar bactériologique 15g -Eau distillée 1l  pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,7 ± 0,1	-Mettre en suspension 70.3 grammes de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée. - Porter à ébullition lentement, en agitant jusqu'à dissolution complète. Ajuster au pH convenant au produit à analyser. Répartir en tubes ou en flacons. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.	-Milieu déshydraté : 2-20°C. - La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette. - Milieu préparé en flacons : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif). Milieu prêt-à-liquéfier en flacons : - Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière. - Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.
<b>Sabouraud</b>	-Peptone chapoteaut 10g	- Mettre en suspension	-Conserver

	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Glucose 20g</li> <li>-Agar 15g</li> <li>-Eau distillée 1l</li> </ul> <p>pH <math>6 \pm 0,2</math></p>	<p>45,5 g de milieu déshydraté dans 1 l d'eau distillée ou déminéralisée.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.</li> <li>- Répartir en tubes ou en flacons.</li> <li>- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.</li> </ul>	<p>les flacons dans l'obscurité entre 5 et 25 °C.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les milieux peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée.</li> </ul>
<b>BCPL (Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésole)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Extrait de viande de bœuf 3g</li> <li>-Peptone 5g</li> <li>-Lactose 5g</li> <li>-Pourpre de bromocrésol 0.03g</li> <li>-Eau distillée 1l</li> </ul> <p>pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C <math>6,7 \pm 0,2</math>.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Dissoudre 29 g de la poudre par litre.</li> <li>-Verser dans les tubes.</li> <li>-muni d'une cloche de durham.</li> <li>-Stérilisation en autoclave à 121°C pendant 20 minutes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Milieu déshydraté : 2-30°C</li> <li>-Milieu préparé (tubes ou flacons) : 6 mois à 2-8°C</li> </ul>
<b>Gélose Viande-Foie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone viande-foie 30g</li> <li>-Glucose 2g</li> <li>-Amidon 2g</li> <li>-Gélose 11g</li> <li>-Eau distillée 1l</li> </ul> <p>pH final à 25°C : <math>7,3 \pm 0,2</math></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Dissoudre 38 g dans 1l d'eau distillée.</li> <li>-Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 min pour dissoudre complètement la suspension.</li> <li>- Répartir en tube.</li> <li>-Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Tubes : 2 - 8°C à l'obscurité.</li> <li>-Milieu déshydraté : 2-30°C</li> <li>-La date d'expiration est indiquée sur l'emballage.</li> </ul>
<b>Gélose Hektoën</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Protéose peptone 12g</li> <li>-Extrait de levure 3g</li> <li>-Chlorure de sodium 5g</li> <li>-Thiosulfate de sodium 5g</li> <li>-Sels biliaire 9g</li> <li>-Citrate de fer III et d'ammonium 1.5g</li> <li>-Salicine 2g</li> <li>-Lactose 12g</li> <li>-Saccharose 12g</li> <li>-Fuschine acide 0.1g</li> <li>-Bleu de bromothymol 0.065g</li> <li>-Agar 14g</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Dissoudre 75 g par litre d'eau distillée.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Milieu déshydraté : 2-30°C.</li> <li>-Milieu préparé en boîtes : 8 jours à 2-8°C.</li> </ul>

	-Eau distillée	1l		
<b>Eau peptonée tamponnée</b>	-Extret de viande -Peptone -NaCl -KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Eau distillée	10g 20g 6g 1.5g 9g 1l	-Se référer à l'étiquette de la boîte pour les volumes et quantités nécessaires. Préparer l'Eau Peptonée en dissolvant la poudre dans l'eau distillée ou désionisée -Répartir la solution dans des récipients adaptés (ex :tubes ou bouteilles). - Autoclaver à 121°C pendant 15 min.	-Toutes les boîtes doivent impérativement être bien fermées et stockées jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette dans un endroit sec à une T° ne dépassant pas 25°C. -Certains milieux se conservent à 2-8°C, se référer à l'étiquette de l'emballage.
<b>VRBG (Cristal violet et au rouge neutre)</b>	- Digestat enzymatique de tissus animaux - Extrait autolytique de levure - Glucose - Sels biliaires - Chlorure de sodium - Rouge neutre - Cristal violet - Agar agar bactériologique -Eau distillée	7 g 3g 10g 1,5 g 5g 30 mg 2 mg 13g 1l	-Mettre en suspension 39,5 g de milieu déshydraté dans 1 l d'eau distillée ou déminéralisée. -Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. -Ne pas surchauffer. -Ne pas autoclaver.	-Milieu déshydraté : 2-30 °C. -Milieu en flacons : 2-8 °C, à l'abri de la lumière. -Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.
	pH : 6.9			
	pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.			

<b>Annexe N°19</b>	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des caractères microbiologiques de jus d'orange</b> <b>Préparation des milieux de cultures</b>	

### Étapes de préparation des milieux déshydratés

- Peser la quantité appropriée de milieu en prenant soin de mettre en place les équipements de protection individuelle (EPI) indiqués dans les fiches de donnée de sécurité.
- Ajouter progressivement le volume d'eau nécessaire à la reconstitution (indiqué sur l'étiquette et la fiche technique.
- Agiter lentement et régulièrement pour solubiliser les composants et répartir la gélose de façon homogène.
- Porter à ébullition (sans les surchauffer) les milieux contenant de l'agar avant de répartir en tubes ou en flacons. La dissolution complète de la gélose est obtenue lorsque la solution visqueuse ne contient plus aucune particule d'agar s'accrochant aux parois de récipient.



**Photo 1: Milieu liquide**

Pour les milieux liquides, on obtient des solutions limpides sans avoir besoin de chauffer avant d'autoclaver. Sauf dans le cas de certains bouillons tels que le bouillon sélénite cystine qui nécessite un court chauffage (se référer à la fiche technique et à l'étiquette. Répartir le volume de milieu requis en flacons ou en tubes selon l'utilisation.



**Photo02 : Milieu solide**

### Stérilisation

Les flacons et les tubes ainsi préparés sont stérilisés pendant une durée et à une température spécifique à chaque milieu de culture. Par ailleurs, certains milieux ne nécessitent pas d'autoclavage.

Les particularités propres à chaque milieu sont notifiées dans la fiche technique sur l'étiquette.



### Préparation et addition des suppléments

Certains milieux doivent être complétés par l'ajout de supplément sélectif ou de supplément d'enrichissement. Ces suppléments peuvent être sous forme lyophilisée ou sous forme prête-à-l'emploi en format liquide ou en comprimé. Agiter le flacon plusieurs fois de façon à assurer une complète dissolution, tout en évitant la formation de mousse. Ajouter les suppléments dans un milieu ramené à une température comprise entre 44 °C et 47 °C (sauf indication contraire du fabricant). Homogénéiser l'ensemble par retournements successifs du récipient.



**Photo: Alun de fer**



**Photo : sulfite de sodium**

### Mesure et ajustement du pH

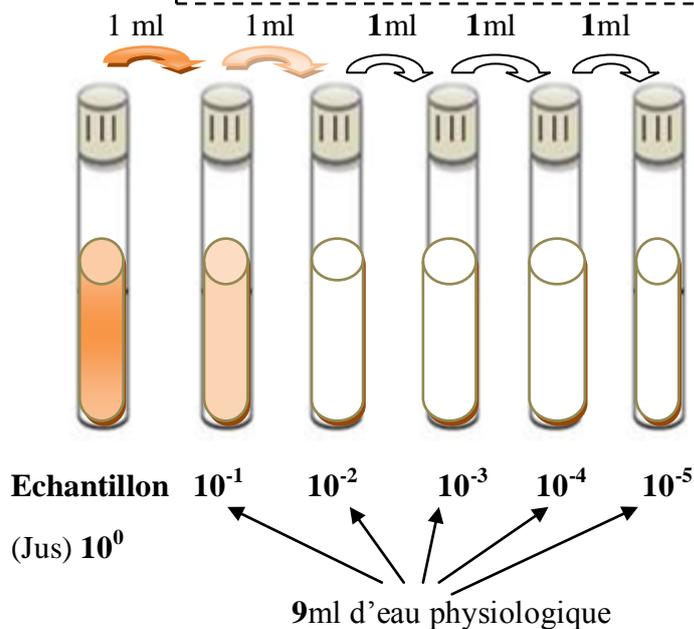
Les milieux sont ajustés au pH d'utilisation déterminé pour le milieu complet (avec supplément) prêt à l'ensemencement, après autoclavage et refroidissement à la température de 25 °. Respecter précisément les consignes de préparation du milieu pour éviter toute variation du pH.

### Fusion des milieux prêts-à-liquéfier (en flacons et en tubes)

- Faire fondre le milieu en le plaçant dans un bain-marie à 50 °C avant de monter en température à 95 °C.
- Retirer le milieu dès lors qu'il est fondu afin d'éviter de le surchauffer. Refroidir le milieu en surfusion dans un bain d'eau thermostaté à une température comprise entre 44 °C et 47 °C.

Annexe N°18	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des caractères microbiologiques de jus d'orange</b> <b>Préparation des dilutions</b>	

Préparation des dilutions à partir d'une solution mère  
liquide (jus)



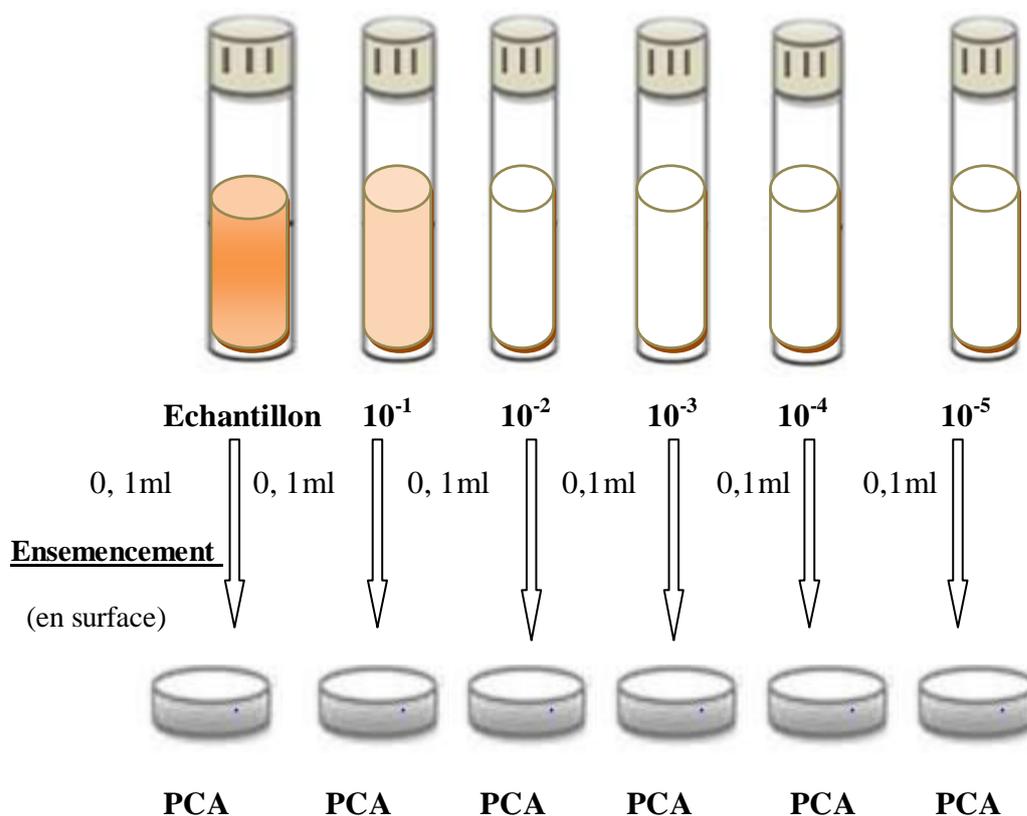
**1ml** de chaque échantillon a été pipeté aseptiquement dans 9ml d'eau physiologique et des dilutions décimales ont été réalisées ( $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ ).

Source : (Brahimi, 2015)

Annexe N°20	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des caractères microbiologiques de jus d'orange</b> <b>Dénombrement des bactéries</b>	

**FTAM (Flore Totale Aérobie Mésophile)**

**Dilutions :**



**Incubation :** Les boites de Pétri sont incubées à 30°C pendant 72 h.

**Dénombrement des FTAM :** Pour obtenir le nombre de germes par (g) de produit, on utilise la formule suivante

$$N = \frac{\Sigma c}{V (n_1 + 0,1 n_2) d} \quad (\text{germes/g})$$

$\Sigma$  : c'est la somme des colonies des boites successivement comptées.

V : volume de dilution utilisé.

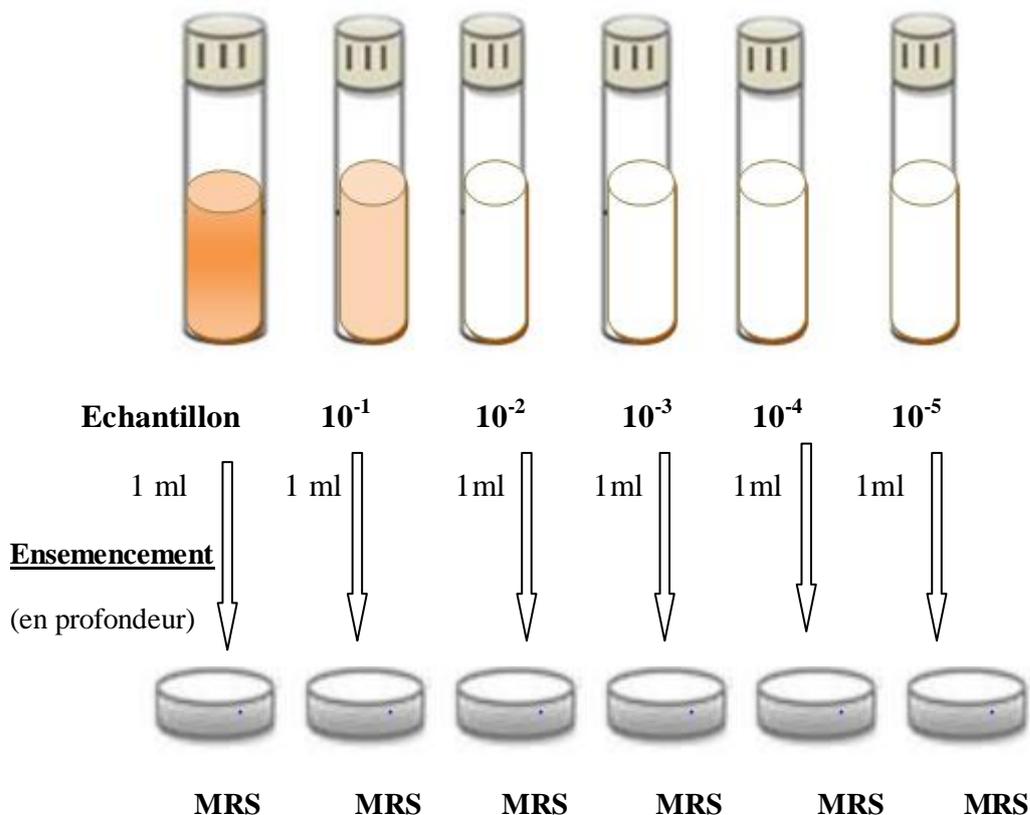
$n_1$  : nombre de boites dans la première dilution.

$n_2$  : nombre de boîtes dans la seconde dilution.

<b>Annexe N°22</b>	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des caractères microbiologiques de jus d'orange</b> <b>Dénombrement des bactéries</b>	

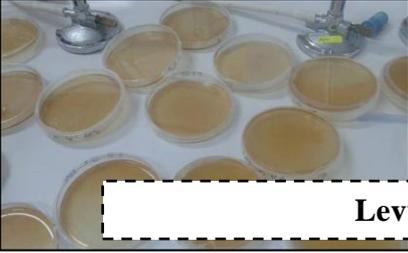
**Bactéries lactiques**

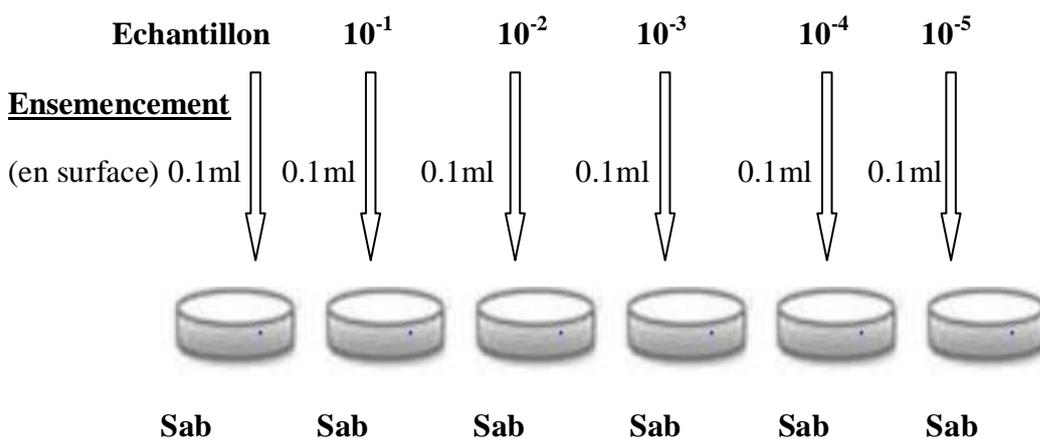
**Dilutions :**



**Incubation** : Les boîtes de Pétri sont incubées à 30°C pendant 48 h.

**Lecture** : Les colonies sont de forme ronde ou lenticulaire, de taille différente (grande, moyenne et petite) de couleur blanchâtre ou grisâtre. L'aspect est lisse ou rugueux avec pour quelques souches un aspect cotonneux.

			
Résultat négatif des bactéries lactiques sur		Résultat positif des bactéries lactiques	
MRS		sur MRS	
Annexe		Mode opératoire	
N°21		<i>Détermination des caractères microbiologiques de jus d'orange</i>	
			

**Dilutions :**

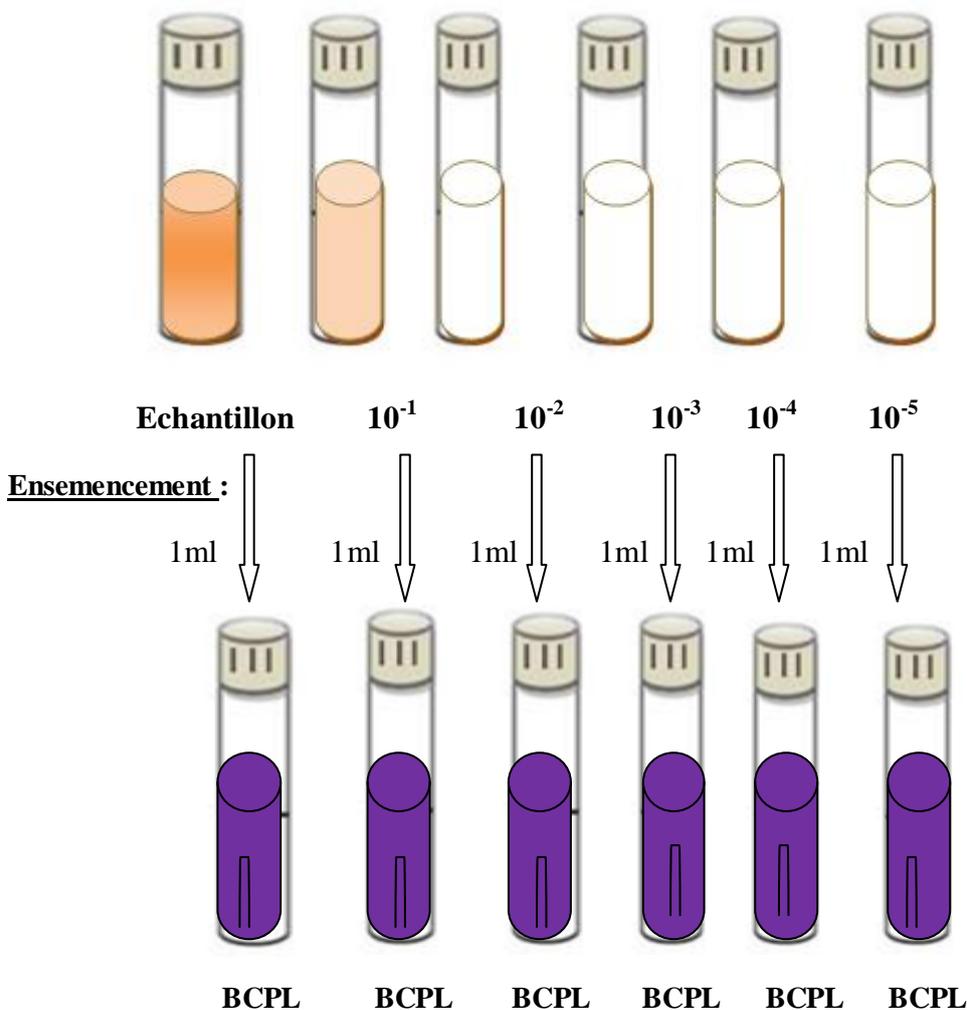
**Incubation** : Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 5 jours au minimum et les colonies des levures et moisissures sont dénombrées séparément.

**Lecture** : - les levures : Elles sont rondes à contours réguliers, opaques, plates en surface et lenticulaires en profondeur.

-les moisissures : souvent pigmentées, d'aspect velouté, plus ou moins proéminents.

	
Résultat négatif des levures et moisissures sur le milieu Sabouraud	Résultat positif des levures et moisissures sur le milieu Sabouraud

Annexe N°23	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des caractères microbiologiques de jus d'orange</b> <b>Dénombrement des bactéries</b>	

**Coliformes totaux**
**Dilutions :**


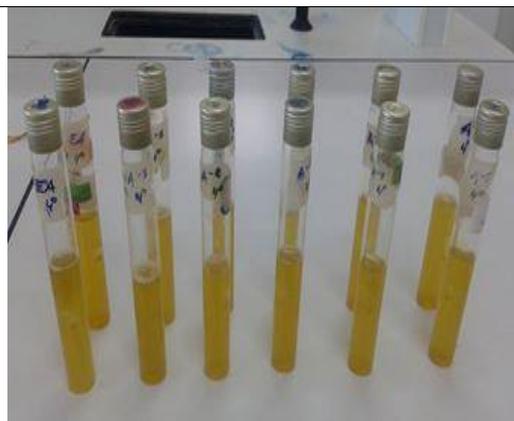
**Incubation** : à 37°C pendant 24h.

**Lecture** : Coloration jaune de bouillon et la production de gaz doit être suffisante pour remplir le haut de la cloche de Durham (résultat positif).

**Méthode de numération** : le dénombrement se fait par la méthode NPP (Nombre le Plus Probable).



**Résultat négatif des coliformes dans le milieu BCPL**



**Résultat positif des coliformes dans le milieu BCPL**

Annexe  
N°24

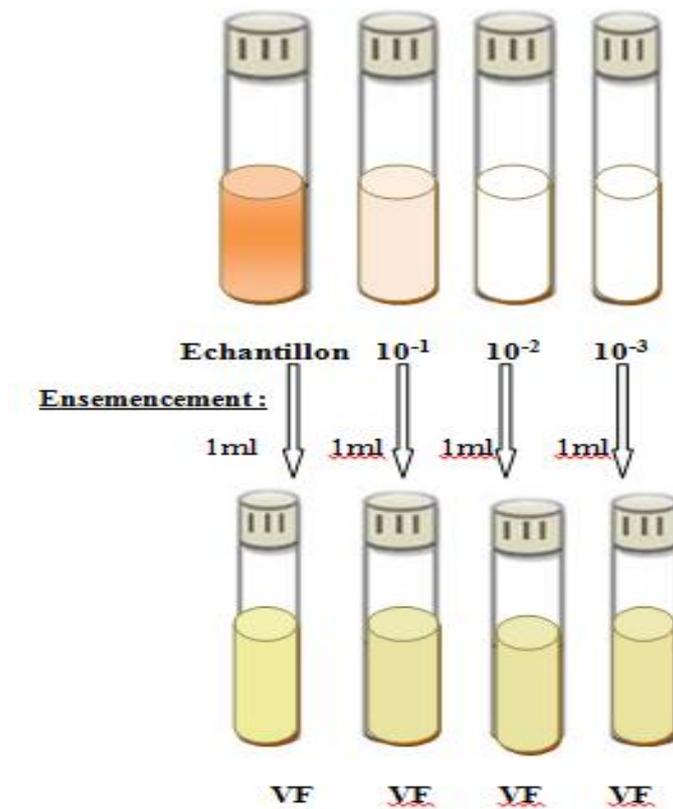
## Mode opératoire

Détermination des caractères microbiologiques de jus  
d'orange  
*Dénombrement des bactéries*



Clostridia sulfito-réductrices)

### Dilutions



**Incubation** : à 37°C pendant 24 h.

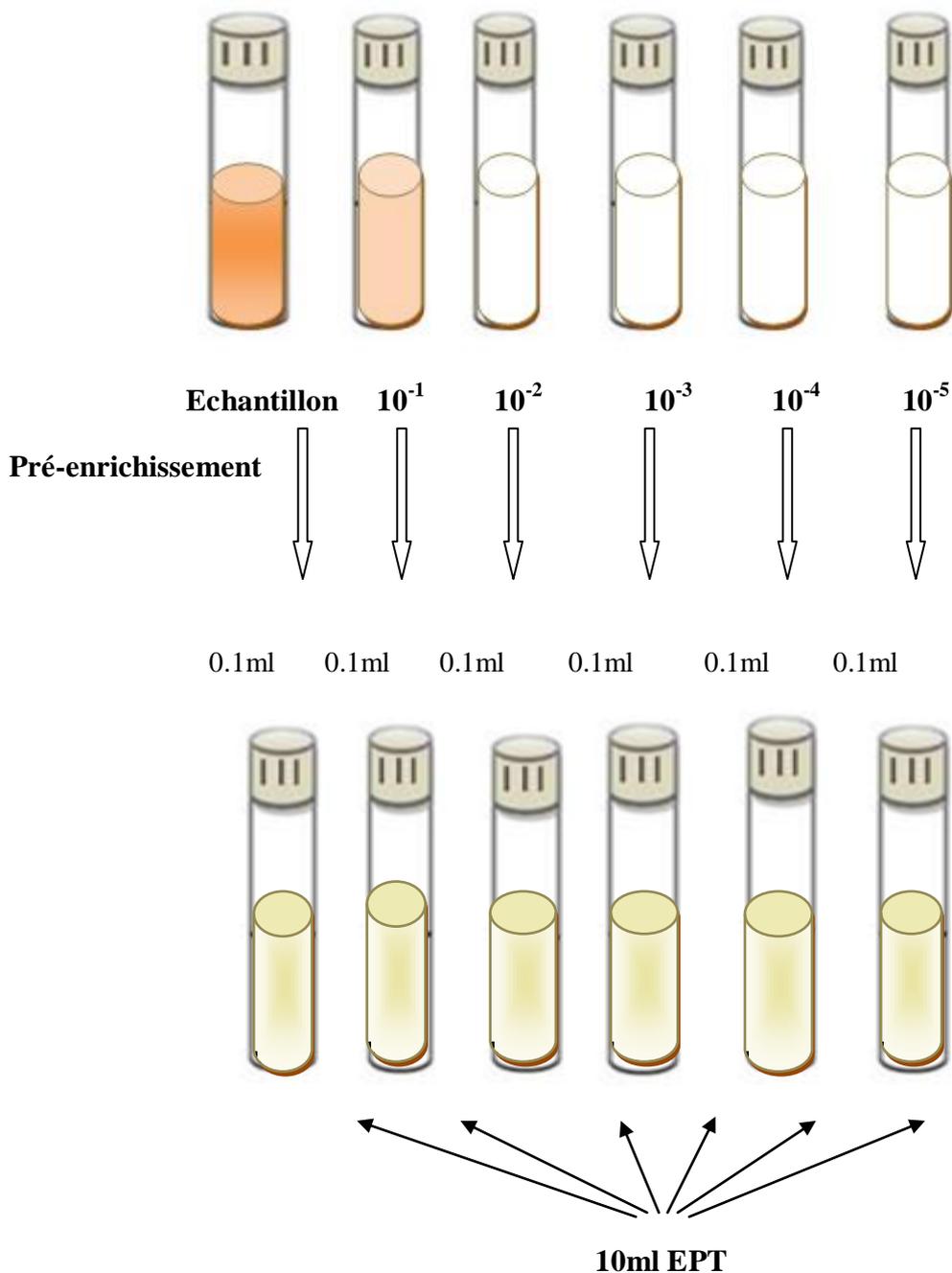
**Lecture** : colonies caractéristiques (noires entouré d'un halo noir).



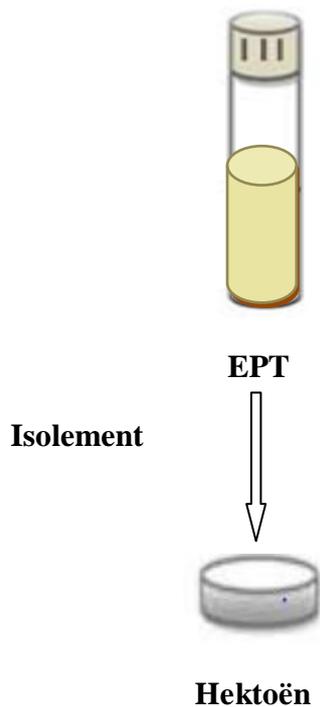
Absence des ASR dans Viande-Foie

Annexe  
N°25**Mode opératoire**

**Détermination des caractères microbiologiques de jus  
d'orange**  
**Dénombrement des bactéries**

**Salmonelles****Dilutions :****Incubation** : à 37°C pendant 24h.**Lecture** : existence d'un trouble ou non.

**Enrichissement** (à partir des tubes positifs : trouble).



**Incubation** : à 37°C pendant 24 h.

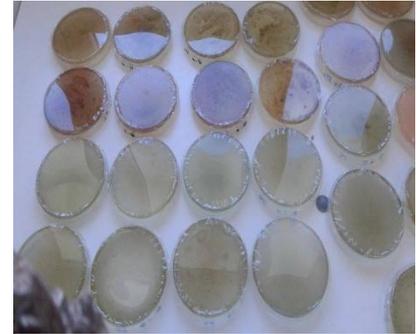
**Lecture** : Sur milieu Hektoën (Colonies bleu-vert à centre noir).



**Pré-enrichissement des salmonelles sur EPT**



**Enrichissement des salmonelles sur EPT**



**Isolement des salmonelles sur Hektoën**

Annexe N°26	<b>Mode opératoire</b>	
	<b>Détermination des caractères microbiologiques de jus d'orange</b> <b>Numération des bactéries</b>	

## Lecture (NF V 08 – 102, 1998)

### Numération en milieu solide :

#### ✓ Principe

Il s'agit de compter les colonies apparaît dans les boites.

#### ✓ Mode opératoire

La lecture s'effectue par comptage visuel. Dans tous les cas, seules les boites contenant 20 à 300 colonies sont utilisées. Le nombre de colonies obtenu par boite permet de remonter à la concentration microbienne de départ, et ceci selon :

- Lorsqu'une boite ne présente pas de colonies, on conclut " moins de 1 germes par ml "
- Lorsque le nombre de colonies est pour toutes les dilutions inférieures à 20, on conclut "moins de 20 germes par grammes ou par ml"
- Lorsque le nombre de colonies est compris entre 20 et 300, on calcule le nombre moyen de colonies représenté en tant que moyenne pondéré » à partir de deux dilutions successives, comme suit :

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V_{mL} \times (n_1 + 0.1n_2) \times d_1}$$

- N : Nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial.
- V: volume de solution déposée (1ml).
- n<sub>1</sub> : nombre de boites considéré à la première dilution retenue.
- n<sub>2</sub> : nombre de boite considéré à la seconde dilution retenue.
- d<sub>1</sub>: facteur de la première dilution retenue.
- ✓ **Numération en milieu liquide : Méthode de Mac Grady (technique du nombre le plus probable NPP)**

Cette méthode permet de révéler de plus faibles quantités de germes que la plupart des méthodes de numération en milieu solide. Elle repose sur une analyse statistique et fournit par calcul des **nombre les plus probables (NPP)**

#### ✓ Numération de charge microbienne comprise entre 0 et 100 germes par ml

Dans ce cas 1 ml de la suspension mère puis de ses dilutions est introduit dans des tubes contenant le milieu de culture choisi mais en réalisant chaque essai en double avec l'essai comportant deux tubesensemencés par dilution on note, après incubation, les réponses positives ou négatives et on affecte :

- le chiffre 2 à deux tubes positifs ensemencés avec la même dilution
- le chiffre 1 si l'un des deux tubes donne une réponse positive à une dilution donnée
- le chiffre 0 si la culture est négative pour les deux tubes.

	produit pur		dilutions							
			10 <sup>-1</sup>		10 <sup>-2</sup>		10 <sup>-3</sup>		10 <sup>-4</sup>	
	tube 1	tube 2	tube 1	tube 2	tube 1	tube 2	tube 1	tube 2	tube 1	tube 2
résultat après incubation	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
affectation	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0
nombre par dilution	2		2		1		1		0	
nombre de trois chiffres										

Les chiffres adjacents sont groupés par 3; on obtient des nombres de 3 chiffres qui sont 221, 211, 110. Le nombre le plus petit et pour lequel, si possible, le chiffre des unités est un 0 (110 ici) est choisi. Pour ce nombre, la table de Mac Grady donne le nombre le plus probable de bactéries par ml ou de produit pur et ce évidemment pour l'essai à deux tubes par dilution.

Le chiffre des centaines (**1** dans le cas de **110**) correspond à la dilution à considérer pour donner le NPP par ml de produit. Ainsi dans l'exemple choisi 110 correspond à la dilution "2" ce qui donne, d'après la table de Mac Grady, 1,3 bactéries (UFT) par ml. Ce NPP correspond donc à la dilution 10<sup>-2</sup>, soit à un NPP de 130 bactéries (UFT) par ml de produit non dilué.

➤ **Table de Mac Grady à deux classes :**

2 tubes par dilution	
Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0
001	0.5
010	0.5
011	0.9
020	0.9
100	0.6
101	1.2
110	1.3
111	2.0
120	2.0
121	3.0
200	2.5
201	5.0
210	6.0
211	13.0
212	20.0
220	25.0
221	70.0
222	110.0

Détermination de la charge microbienne  $N = \frac{NPP}{v} \times Fd$

Source : (Cuq, 2008)