

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de physiologies cellulaires
Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Microbiologie et Toxicologie Alimentaire

Filière : Sciences Biologiques

Domaine : Science de la nature et de la vie

Étude comparative entre deux boissons l'une enrichie par la spiruline et le suivi de sa stabilité

Présenté par
FEDDAD Redouane
ABDI Mohamed Amine

Devant le jury :

Mme DEBIB A.	Maître de conférences B	USDB	Présidente
Mme BELMESKINE H.	Maître Assistante B	USDB	Examinatrice
Mme DEFFAIRI Dj.	Maître Assistante A	USDB	Promotrice

Année Universitaire 2013-2014

Remerciements

Qu'il me soit permis de remercier ci profondément tout d'abord :

◆ Dieu tout puissant pour m'avoir permis d'arriver à ce stade. Et ensuite,

Tous ceux qui de près ou de loin, se sont intéressés à ce modeste travail et m'ont aidé à sa réalisation et en particulier :

Ma promotrice, *Mme* DIFFAIRI Dj, qui a bien voulu suivre et diriger ce travail, ses conseils précieux, ses justes critiques ont été pour moi un encouragement permanent.

Mr BEN MASSAOUD. KH et toute l'équipe de recherche de VITAJUS, de m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire.

Mme DEBIB A, *Mme* BELMESKINE H, j'exprime ma profonde reconnaissance d'avoir accepté de présider cette soutenance.

A tous mes amis qui m'ont aidé à réaliser ce projet sans citer les noms pour ne pas faire des jaloux.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

Aux joyaux de ma vie "mes parents" qui sont la source de ma réussite, je souhaite qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et sacrifices.

- A mes sœurs Leila et Imene

-A mon frère Farid

-A mes meilleurs amis Amine, Soraya, Soraya, Soraya

-A ma sœur BEDDAK Leila qui m'a beaucoup aidé.

-A toute ma famille.

Je tiens à remercier tous mes amis qui sont nombreux.

Redouane

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

Aux joyaux de ma vie "mes parents" qui sont la source de ma réussite, je souhaite qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et sacrifices.

- A ma sœur Asma

-A mes frères Walid et Khalil

-A mes meilleurs amis Amina, Redouane

-A Soraya qui m'a beaucoup aidé.

-A toute ma famille.

Je tiens à remercier tous mes amis qui sont nombreux.

Amine

Résumé :

Notre travail consiste à faire une étude comparative entre deux boissons une enrichie par la spiruline et l'autre non enrichie, tout en préservant ses caractéristiques organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques ainsi que d'effectuer une analyse de stabilité.

Les analyses physico-chimiques « acidité, taux de Brix, pH, et densité » de la matière première, produits semi-finis, produits finis et le jus de raisin enrichi par la spiruline se sont avérés conformes aux normes algériennes.

Les analyses microbiologiques ont révélé une absence totale des germes recherchés (Coliforme totaux et fécaux, les streptocoques fécaux, les anaérobies sulfite-réducteurs, les aérobies mésophiles, les *staphylococcus aureus*, et les levures et moisissures), ce qui confirme la bonne qualité microbiologique de nos produits.

Les analyses sensorielles effectuées sur le jus de raisin enrichi par la spiruline, ont montré que la formulation F3 (0,5g) est jugée bonne et bien appréciée par les jurys de dégustation à savoir (Le goût, l'odeur, la couleur, et la valeur nutritive).

Le test de stabilité effectué sur le Jus enrichi pendant 4 semaines à 22°C nous a montré que le jus avec la formulation F3 (0,5g) est un jus stable.

Mots clés : Jus de raisin, Spiruline, Etude comparative, Test de stabilité, Valeur nutritionnelle.

Summary

Our project work consists to compare between two drinks, one enriched with spirulina and the other non-enriched, with keeping its organoleptic characteristics, physico-chemical and microbiological. As well as effectuate a stability testing.

The physico-chemical analyzes "acidity rate Brix, pH, and density "obtained from different products (raw material, semi-finished products, finished products) and enriched juice are consistent unchanged contribution to Algerian standards.

The research for the (total and fecal coliform, faecal streptococci, sulphite-reducing anaerobies them, mesophilic aerobic, staphylococcus aureus, and yeasts and mold) showed no presence of these microorganisms and the good microbiological quality was confirmed.

Sensory analysis of the enriched grape juice with spirulina showed that the formulation F3 had best values and was appreciated by large number of tasters, namely organoleptic characteristics (taste, smell, color, and nutritional value).

The stability testing showed us that the enriched grape juice with formulation F3 (0,5g) enriched is stable.

Keys words: Grape juice, Spirulina, comparative study, Stability test, nutritional value.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو اجراء مقارنة بين عصيري العنب، احدهما مضاف اليه (السبيرولينا) الغنية بالمواد المغذية. عمليات مراقبة الجودة الفيزيو-كيميائية، الميكروبيولوجية، وكذا الحسية كما أجرينا إخبار للاستقرار و أخيراً تحاليل للقيمة الغذائية.

التحاليل الفيزيو-كيميائية (الحموضة، درجة البركس، الأس الهيدروجيني pH و الكثافة) التي أجريت على المواد الخام، المنتج شبه جاهز و المنتج الجاهز النهائي، و كذا العصير الذي تم إثراؤه بالسبيرولينا ، التي تم الحصول عليها تتفق مع المعايير الجزائرية كما أنه لم يلاحظ أي تغيير.

و أظهرت النتائج التحاليل الميكروبيولوجية غياب كل الجراثيم مما يؤكد النوعية البكتيريولوجية الجيدة لهذا العصير.

فيما أظهرت الاختبارات أن العصير ذو الجرعة (0.5 غ/ل) كان الأكثر اختياراً، هذا يقودنا إلى استنتاج أن عصير العنب ذو الجرعة (0.5 غ/ل) من السبيرولينا هو الأفضل من حيث (الطعم، الرائحة، المظهر المرئي وكذا القيمة الغذائية).

فيما يخص اختبار الاستقرار نلاحظ ان العصير الذي تم اثراؤه بالجرعة (0.5 غ/ل) يعتبر مستقر لمدة قدرها 4 اسابيع وفي درجة حرارة معتدلة 22 م°

الكلمات المفتاح : عصير العنب، سبيرولينا، الإثراء، القيمة الغذائية.

Sommaire

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la spiruline et le jus de fruits

I.1. Généralités sur la spiruline.....	2
I.1.1. Définition de la spiruline.....	2
I.1.2. Valeur nutritionnelle.....	2
I.1.2.1. Les protéines.....	2
I.1.2.2. Les minéraux.....	3
I.1.2.3. Les vitamines.....	3
I.1.2.4. Les lipides.....	3
I.1.2.5. Les caroténoïdes.....	3
I.1.2.6. La phycocyanine.....	4
I.1.3. Législation.....	4
I.1.4. Utilisation de la spiruline.....	5
I.1.5. Culture de spiruline.....	6
I.1.6. La Spiruline peut-elle nuire à la santé humaine	7
I.2. Généralités sur le jus de fruits	7
I.2.1. Définition.....	8
I.2.2. Caractéristiques et composition	9
I.2.3. La composition du raisin.....	10
I.2.4. Valeur nutritionnelle et thérapeutique	12
I.2.4.1. Apport en micronutriments.....	12
I.2.4.1.1. Source de vitamine	12
I.2.4.1.2. Sources minérales variées	12
I.2.4.1.3. Sources d'antioxydant protecteur	12
I.2.4.2. Apport en macronutriments.....	13
I.2.4.2.1. Sources riches en eau	13
I.2.4.2.2. Sources de fibre	13
I.2.4.2.3. Sources peu calorique	13

Etude expérimentale

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel.....	14
II.1.1. Matériel biologique.....	14
II.1.2. Matériel non biologique	14
II.2. Méthodes	14
II.2.1. Prélèvement des échantillons.....	15
II.2.2. Méthodes d'analyses microbiologiques.....	16
II.2.2.1. Analyses microbiologiques effectuées sur l'eau de process.....	19
II.2.2.2. Analyses microbiologiques effectuées sur le concentré.....	33
II.2.2.3. Analyses microbiologiques effectuées sur le produit fini.....	33
II.2.2.4. Analyses microbiologiques effectuées sur le sucre.....	33
II.2.2.5. Analyses microbiologiques effectuées sur la spiruline.....	41
II.2.3. Méthodes d'analyses physico-chimiques.....	41
II.2.3.1. Analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau.....	41
II.2.3.2. Analyses physico-chimiques effectuées sur le concentré	43
II.2.3.3. Analyses physico-chimiques effectuées sur le produit semi fini et fini.....	45
II.2.3.4. Analyses physico-chimiques effectuées sur le sucre.....	46
II.2.3.5. Analyses physico-chimiques effectuées sur peroxyde d'hydrogène.....	46
II.2.3.6. Analyses physico-chimiques effectuées sur la spiruline	47
II.3 Analyses sensorielle.....	52
II.4. Test de stabilité.....	52

Chapitre III : Résultats et Interprétation

III.1. Résultats des analyses microbiologiques.....	54
III.1.1. Eau de process.....	54
III.1.2. Concentré de raisin.....	54
III.1.3. Produit fini.....	55
III.1.4. Produit fini étuvé	56
III.1.6. spiruline.....	57
III.2. Résultats des analyses physico-chimiques	58
III.2.1. Eau	58
III.2.2. Concentré de raisin.....	60
III.2.3. Produit semi fini	61
III.2.4. Produit fini.....	62
III.2.5. Produit fini étuvé	62
III.2.6. Spiruline.....	63
III.2.7. Peroxyde d'hydrogène et Sucre.....	64
IV. Analyses sensorielle	66
IV.1. Critère apparence.....	66
IV.2. Critère odeur	67
IV.3. Critère du goût	69
V. Test de stabilité du jus enrichi.....	70
VI. Analyses de la valeur nutritionnelle du jus enrichi	72
Conclusion.....	74

Références bibliographiques

Annexes

Liste des Figures

Figure (1) : Préparation des dilutions Cas des Produits Liquides.....	18
Figure (2) : Préparation des dilutions Cas des Produits Solides.....	18
Figure (3) : Recherche et dénombrement des bactéries Coliformes dans l'eau (Test de présomption).....	21
Figure (4) : Recherche et dénombrement des bactéries Coliformes dans l'eau (Test de confirmation)	22
Figure (5) : Recherche et dénombrement des Streptocoques du groupe D (Test de présomption).....	26
Figure (6) : Recherche et dénombrement des Streptocoques du groupe D (Test de confirmation).....	27
Figure (7) : Recherche et dénombrement des Spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de Clostridium sulfito-réducteurs dans l'eau.....	29
Figure (8) : Recherche et dénombrement des Germes Aérobies Mésophiles Totaux.....	32
Figure (9) : Recherche et dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réducteurs dans le concentré et le produit fini	35
Figure (10) : Recherche et dénombrement des Levures et Moisissures dans le concentré et le produit fini.....	38
Figure (11) : Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le concentré et le produit fini.....	40
Figure (12) : Classement des formulations selon le critère apparence.....	67
Figure (13) : Classement des formulations selon le critère odeur.....	68
Figure (14) : Classement des formulations selon le critère goût	70
Figure (15) : classement des formulations selon les trois critères apparence.....	70

Liste des tableaux

Tableau (I) : Les différents produits fabriqués à base de spiruline.....	5
Tableau (II) : Composition de principales boissons (pour 100g d'aliments).....	9
Tableau (III) : Composition du raisin.....	11
Tableau (IV) : Quantité de différentes doses de chaque formulation (g/l).....	52
Tableau (V) : Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process.....	54
Tableau (VI) : Résultats des analyses microbiologiques effectué sur le concentré.....	55
Tableau (VII) : Résultats des analyses microbiologiques effectué sur le produit fini.....	56
Tableau (VIII) : Résultats des analyses microbiologiques effectué sur le produit fini étuvé.....	56
Tableau (IX) : Résultats des analyses microbiologiques de la spiruline.....	57
Tableau (X) : Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process.....	58
Tableau (XI) : Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de chaudière.....	59
Tableau (XII) : Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de bêche.....	60
Tableau (XIII) : Résultats des analyses physico-chimiques du concentré de raisin rouge.....	60
Tableau (XIV) : Résultats des analyses physico-chimiques du produit semi-fini.....	61
Tableau (XV) : Résultats des analyses physico-chimiques du produit fini.....	62
Tableau (XVI) : Résultats des analyses physico-chimiques du produit fini étuvé.....	63
Tableau (XVII) : Analyses physico-chimiques de la spiruline.....	63
Tableau (XVIII) : Résultats des analyses physico-chimiques du peroxyde d'hydrogène.....	65
Tableau (XIX) : Résultats des analyses physico-chimiques du sucre.....	65
Tableau (XX) : Classement des formulations (Critère apparence).....	66
Tableau (XXI) : Moyenne et écart-type des formulations (Critère apparence).....	66
Tableau (XXII) : Classement des formulations (Critère odeur).....	67
Tableau (XXIII) : Moyenne et écart-type relatifs au critère odeur pour les différentes formulations.....	68
Tableau (XXIV) : Classement des formulations (Critère goût).....	69
Tableau (XXV) : Moyenne et écart-type relatifs au critère goût pour les différentes formulations.....	69
Tableau (XXVI) : Résultats de l'examen physicochimique la formulation F3.....	71
Tableau (XXVII) : Résultats de l'examen microbiologique de la formulation F3.....	72
Tableau (XXVIII) : Résultats de la valeur nutritionnelle de jus enrichi par la spiruline.....	72

Liste des Abréviations

Abréviation	Mots utilisé
Abs	Absence
AFNOR	Association Française de Normalisation
ASR	Anaérobies Sulfito-Réducteurs
BCPL	Bouillon Bilié au Pourpre de Bromocrésol
BLBVB	Bouillon Lactosé Bilié Vert Brillant
°Bx	Degré de Brix
CE	Communauté Economique
D/C	Double Concentration
EDTA	Ethyl Diamine Tetra Acétique
EPT	Eau Peptonée Tamponnée
EPTEI	Eau Peptonée Exempt d'Indole
°F	Degré Français
FAO	Fod and Agriculture Organization
GAMT	Germes Aérobie Mésophiles Totaux
°C	Degré Celsius
ISO	Organisation Internationale de Standardisation
J.O.R.A	Journal Officiel de la République Algérienne
Kcal	Kilocalorie
Méq	Milliéquivalent
TD	Témoin Diluant
NA	Normes Algériennes
NF	Normes Françaises
NPP	Nombre le Plus Probable
OGA	Oxytetra cycline glucose
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
pH	Potentiel d'Hydrogène
S/C	Simple Concentration
TA	Titre Alcalimétrique
TAC	Titre Alcalimétrique Complet
SM	Suspension Mère
TGEA	Tryptone Glucose a l'Extrait d'Agar
TH	Titre Hydrométrique
TSE	Tryptone Sel Eau
VRBL	Violet, Read, Bil agar
UV	Ultra-violet
µm	Micromètre
%	Pourcentage
TM	Témoin du Milieu
H%	Teneur en Humidité
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
VF	Viande Foie
DM	dilution mère

Introduction

Introduction

La spiruline est une cyanobactérie d'eau douce qui présente une couleur caractéristique bleu-vert due à la présence d'un pigment protéique rare. Elle est considérée comme une ressource alimentaire non conventionnelle pouvant contenir jusqu'à 70 % de protéines du poids sec. (Benahmed-Djilali 2012) deux fois plus que le soja, trois fois plus que la viande de bœuf !

Les protéines de la spiruline apportent à l'organisme la quasi-totalité des acides aminés essentiels, ce qui en fait un aliment indispensable pour les végétariens. Qui ont l'avantage d'être très facilement assimilées par l'organisme (biodisponibilité). Les meilleures sources de protéines végétales n'arrivent qu'à la moitié de ces teneurs.

La spiruline est utilisée comme complément alimentaire par de nombreuses personnes dont les buts diffèrent. Les végétariens et les personnes qui font un régime l'utilisent pour garder la forme et éviter les carences.

La spiruline est utilisée comme un complément alimentaire, ainsi qu'on peut la prendre avec tous les aliments et les boissons que nous consommons, nous avons essayé de valoriser la spiruline, considérée comme une ressource alimentaire pouvant contenir jusqu'à 70% de protéines, dans la fabrication d'un produit diététique à savoir le jus de raisin hyper-protéiné.

Les jus des fruits proviennent d'une large gamme de fruit, notamment les oranges et les autres agrumes, pomme, raisin, ananas, mangue, ils résultent souvent de l'assemblage de jus de fruits de plusieurs espèces, généralement les fruits sont transformés en concentrés près de leur lieu de récolte puis expédiés à un conditionneur. Les jus des fruits sont commercialisés sous forme de concentré, de concentré surgelés (stelliman.,2000)

Le jus de raisin est un jus non fermenté mais fermentescible, destiné à la consommation directe, obtenu par un procédé mécanique à partir de raisin sains et mûrs conservé exclusivement par des procédés physiques. Le jus peut avoir été concentré et ultérieurement reconstitué avec de l'eau convenant pour conserver les facteurs essentiels de compositions et de qualité de jus. (codex alimentarius., 1992)

Notre travail de recherche consiste à faire une étude comparative entre deux boissons de raisin (l'une enrichie en spiruline et l'autre boisson non enrichie) et évaluer sa valeur nutritionnelle avec un enrichissement avec différentes doses de spiruline (0,1g/l – 0,3 g/l – 0,5 g/l – 0,7 g/l) on aura recours à des analyses microbiologiques et physico-chimiques, tout en respectant ses propriétés organoleptiques afin d'obtenir à la fin une boisson énergisante avec un apport nutritionnel important.

Chapitre I
Etude bibliographique

I.1. Généralités sur la spiruline**I.1.1. Définition de la spiruline**

La spiruline est une algue microscopique, pluricellulaire de grande taille appartenant à la famille des Cyanophyceae. Elle se présente sous la forme d'un filament appelé trichome. La structure du trichome est considérée comme analogue à celle présente dans la paroi des bactéries Gram négatives.

Rippka et *al.* (1979) concluent que la forme hélicoïdale de la spiruline est une propriété stable du genre qui permet sa différenciation des autres groupes de Cyanobactéries filamenteuses. Le genre spirulina est caractérisé par des trichomes à haute spiralisation cultivé dans des eaux fraîches avec des hautes concentrations en sels et pH alcalin.

La classification systématique de la spiruline a été étudiée par plusieurs auteurs. Gardner (1917) a suggéré de retenir le nom 'Arthrospira' pour les formes à paroi visiblement cloisonné et celui de 'spiruline' pour les formes à cloisons invisibles.

Par la suite, Berguey (1994) les a classés comme suit :

Ordre : Nostocales

Famille : Oscillatoriaceae

Genre : *Spirulina*

Espèce : *S.platensis* et *S.maxima*

I.1.2. Valeur nutritionnelle**I.1.2.1. Les protéines**

L'intérêt que présente cette micro-algue sur les plans alimentaire et diététique réside essentiellement dans sa richesse en protéines (60 à 70% de son poids), une valeur tout à fait exceptionnelle. Les meilleures sources de protéines végétales n'arrivent qu'à la moitié de ces teneurs. La farine de soja par exemple, contient 35% de protéines.

D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont complètes car elles contiennent l'ensemble des acides aminés essentiels (47% du poids total des protéines).

Autre avantage : la spiruline est beaucoup plus facile à digérer que d'autres compléments alimentaires comme les levures ou les chlorelles. Ses cellules ne sont pas protégées par d'épaisses parois cellulosiques, ce qui lui vaut un "taux de digestibilité" de l'ordre de 83 à 90% (Charpy *et al.*, 2008).

I.1.2.2. Les minéraux

Les microalgues photosynthétiques comportent des fonctions carboxyles, sulfates, fonction ionisables et réactives qui permettent la fixation ionique ou chimique de molécules c'est justement le cas de la plupart des oligo-éléments et les métaux essentiels. Mais c'est aussi le cas des métaux toxiques comme le plomb et le mercure.

Les minéraux spécialement intéressants de la spiruline sont le fer, le calcium, le phosphore et le magnésium. La Spiruline constitue une source importante de fer (20 fois plus élevée que le germe de blé) (Belay, 2002 ; Shizhong *et al.*, 2004 et Charpy *et al.*, 2008).

I.1.2.3. Les vitamines

La spiruline contient une large gamme de vitamines (B1, B2, B12, E, ...). Elle est quatre fois plus riche que le foie cru. Une dose de 4g / jour de spiruline séchée suffit amplement à couvrir la totalité des besoins en vitamine B12.

I.1.2.4. Les lipides

La spiruline est riche en acides gras insaturés oléique α -linoléique de forme cis, seule forme biologiquement active. Ce sont des lipides essentiels non synthétisés par les animaux, nécessaires à la croissance normale, au développement de la peau, à la digestion, à la lactation et au transport du cholestérol.

L'oxydation des lipides insaturés est inhibée par la vitamine E (tocophérol) que l'on trouve aussi dans la spiruline (Falquet et Hurni, 2006).

I.1.2.5. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes forment une famille de polyènes conjugués pigmentaires aux capacités antioxydantes similaires à celles des tocophérols (Coulon, 2004). Dans les conditions physiologiques (basse pression d'O₂), les caroténoïdes sont d'excellents piègeurs de radicaux libres (Fedkovic *et al.*, 1993 ; Barros *et al.*, 2007). Les caroténoïdes sont aussi capables d'inactiver l'oxygène singlet (Datta *et al.*, 2004).

Ils ont aussi des activités anti-cancéreuses et anti-inflammatoires largement rapportés dans les publications scientifiques.

Des études menées pendant plusieurs années aux États-Unis et au Japon ont montré que la spiruline permet d'apporter une quantité importante d'antioxydants nécessaires à notre organisme : les caroténoïdes comme le bêta-carotène (la teneur en β -carotène est exceptionnelle ; elle est 30 fois plus élevée que pour la carotte).

I.1.2.6. La phycocyanine

Le terme 'phycocyanine' vient du grec «phyco» signifiant algue et «cyanine» venant de la couleur cyan, qui est dérivée du grec «yanos» et signifie bleu-vert (Whitton et Potts, 2000).

Elle n'a pas d'odeur particulière et elle est non toxique mais légèrement sucrée. Lors de la dissolution dans l'eau le pigment donne une couleur bleue brillante avec haute fluorescence rouge (Richmond et Grobbelaar, 1986).

La cyanobactérie *Spirulina platensis* est une excellente source de phycocyanine. D'après Vonshak (1997), la fraction protéique pourrait contenir jusqu'à 20% de phycocyanine. Plusieurs études ont démontré le rôle primordial de la phycocyanine comme agent antioxydant et antiradicalaire (Wong, 2008).

Des études *in vivo* montrent que la consommation de spiruline a un impact positif sur la prévention et la réduction de pathologies comme le cancer, les maladies cardio-vasculaires, le vieillissement prématuré, les maladies infectieuses et les baisses du système immunitaire. (Manoj *et al.*, 1992 ; Fedkovic, 1993 ; Reddy *et al.*, 2000 ; Belay, 2002 ; Girardin-Andremin, 2005).

En outre, une forte teneur en ce pigment pourrait être d'un grand intérêt industriel.

La spiruline peut être consommée sans aucun danger soit à l'état frais ou sec sous forme de poudre ou de granules. Elle gagne la popularité mondiale comme supplément alimentaire (Décret n° 2006/352 du 20 mars 2006 in Chrpy *et al.* , 2008).

Son innocuité en tant que nourriture a été établie par des siècles d'utilisation humaine ainsi que par des études toxicologiques rigoureuses. Les doses préconisées vont de 5 g à 10 g/jours pour l'enfant (Branger *et al.*, 2003) et 100g chez l'adulte (Santillan, 1974 ; Belay, 2002).

I.1.3. Législation

La spiruline répond à la législation sur les compléments alimentaires. Un décret a permis de fournir un cadre juridique complet pour les compléments alimentaires en transposant dans le droit national la majeure partie de la directive européenne 2002/46/CE. Ce nouveau décret n° 2006/352 du 20 mars 2006, publié au Journal Officiel du 25 mars 2006, reprend la définition européenne des compléments alimentaires : « *On entend par compléments alimentaires, les denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés, commercialisés sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles,*

les corn primes, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité » (Charpy et al 2008).

L'étiquetage de ces produits doit comprendre la dénomination de vente de «complément alimentaire », ainsi que d'autres informations comme le mode d'emploi détaillent, la dose journalière recommandée, la liste de toutes les substances utilisées lors de la fabrication, les précautions d'emploi. Dans plusieurs états africains, une autorisation mise sur la marche (AMM) est prévue pour la distribution de la spiruline (Charpy et al 2008).

I.1.4. Utilisation de la spiruline

La spiruline est un aliment traditionnel qui présente un intérêt nutritionnel connu. Elle est exploitée depuis de milliards d'années par les populations du sud Est asiatique (Chine, Japon et Corée), l'Afrique et l'Amérique. Elle est actuellement cultivée aussi en Europe (France).

La spiruline est intéressante en tant qu'une source riche en substances antioxydantes et antiradicalaires tels que les caroténoïdes, les polyphénols, les vitamines, les acides gras polyinsaturés et les acides aminés. Elle est recommandée comme complément alimentaire pour lutter contre la malnutrition et les carences en acides gras essentiels, vitamines, fer et l'iode (UNICEF, 1996). Les doses préconisées vont de 5g à 10 g/jour (Branger *et al.*, 2003).

La spiruline rentre dans la fabrication de plusieurs produits alimentaire.

Le tableau N°1 regroupe les différents produits fabriqués à base de spiruline.

Tableau (I) : Les différents produits fabriqués à base de spiruline

Aliments	Références
Boisson de spiruline	Brevet chinois (Zeng et Liang, 1995)
Pain de spiruline	(Chen et Li, 1999)
Liquide alimentaire constitué de l'extrait de spiruline et de miel	(Jaouen et al. Liang et al., 2001)
Gâteau de nouille (0,1-10%) de spiruline ajoutée à la farine	Brevet chinois (Xu, 1993)
Comprimés de spiruline	(Yamaguchi, 1997).

Les extraits de spiruline sont commercialisés pour leurs actions cicatrisantes, antiseptiques et régénératrices des cellules des tissus (Spolaore *et al.* ,2006).

Patel *et al.* (2006), ont étudié l'effet des radicaux peroxydes et hydroxyles sur la phycocyanine isolée de trois espèces de cyanobactéries : *Lyngbya*, *Phormidium* et *Spirulina sp.* Ils ont constaté que la phycocyanine est un puissant antioxydant qui élimine à la fois les radicaux peroxydes et hydroxyles et protège contre les maladies liées au stress oxydatif.

Plusieurs substances d'intérêt biotechnologique issues de *Spirulina platensis* sont disponibles sur le marché international. Ainsi les colorants alimentaires naturels riches en phycocyanine (Jaouen *et al.*, 1999), les acides gras polyinsaturés, les aliments d'aquaculture (James *et al.*, 2006 ; Kim *et al.*, 2006 ; Habib *et al.*, 2008), le biodiesel (Chisti, 2007) et autres ont suscitées une attention particulière.

I.1.5. Culture de spiruline

Arthrospira (*Spirulina platensis*) est une micro algue largement cultivée dans le monde.

La production mondiale de cette première a augmenté depuis 1995 de plus de 4000T/an (Statistique CUBIA, 2000).

S.platensis se développe soit dans des cultures artificielles soit dans des cultures de lac.

Elle s'adapte à de nombreux biotopes (sable, eau douce, eau de mer) (Tredeci *et al.*, 1986 ; Wu *et al.*, 1993 ; Halland 2006).

Particulièrement, cette espèce a besoin de grandes quantités de NaCl (2 à 270g/l d'eau), du carbonate et de haut niveau de bicarbonate pour croître (Materassi *et al.*, 1984 ; Fox, 1999).

Seule *S.platensis* peut se développer dans des conditions alcalines dont le pH est supérieur ou égal 11 (Ciferri et Tiboni, 1985). Ce pH élevé défavorise la prolifération d'autres espèces de cyanobactéries et de bactéries pathogènes.

L'Algérie a développé la culture artificielle de spiruline au sud algérien précisément la région de Tamanrasset. Cependant, la spiruline produite localement ne couvre pas les besoins des consommateurs.

Les résultats de travaux de recherche effectués principalement en Asie et sur le continent américain montrent que les souches de spiruline étudiées jusqu'à maintenant ne possèdent pas les gènes qui assurent la synthèse des cyanotoxines. D'autre part, la spiruline accumule des métaux lourds mais en dessous des seuils de toxicité. A notre connaissance, aucun cas de toxicité n'a été rapporté concernant l'utilisation de spiruline (<10g/jour) (Langlade *et al.*, 2008).

Toutefois, le coût de production de spiruline en milieux artificiels est souvent très élevé entraînant un prix de vente hors de portée de la population, surtout celle touchée par la malnutrition. Ce micronutriment est classé en premier rang des compléments alimentaires (Charpy *et al.*, 2008).

I.1.6. La Spiruline peut-elle nuire à la santé humaine

A) Toxicité

La spiruline (genre *Arthrospira*) n'est pas toxique (Crucho, 2008). Les problèmes de toxicité liés aux métaux lourds semblent inexistantes pour la spiruline (Falquet et Hurni., 2006). Concernant l'éventualité de la présence de toxiques organiques, mutagènes et/ou tératogènes, des études ont été effectuées et les auteurs déclarent : « qu'aucune toxicité n'est à craindre; aucune tératogénicité n'a été observée ; de même, aucun effet mutagène n'a été décelé » (Falquet et Hurni., 2006).

B) Réactions allergiques

Contrairement à l'immense majorité des aliments courants, la spiruline ne semble pratiquement pas provoquer de réactions allergiques, que ce soit par ingestion ou par contact (Falquet et Hurni., 2006); sauf le cas isolé d'un garçon de treize ans ayant présenté une crise d'urticaire avec asthme après avoir absorbé cinq comprimés de spiruline (Petrus *et al.*, 2010).

C) Risques de surdoses

Il n'existe à ce jour aucun cas de surdose de spiruline documenté dans la littérature scientifique. Des consommateurs de plus de 10 g/jour pendant plusieurs années d'affilé ne rapportent aucuns effets négatifs. En ce qui concerne le risque aigu, là non-plus aucune donnée ne vient fixer de limite : des consommations anecdotiques de plus de 100 g/ jour n'ont semble-t-il eu aucune conséquence particulière. Seul indice manifeste d'une forte consommation de spiruline, l'accumulation bénigne de caroténoïdes dans la peau y provoque une légère coloration orangée (particulièrement visible dans la paume des mains). Cet effet « pilule-à-bronzer » est parfaitement réversible (Falquet et Hurni, 2006).

I.2. Généralités sur les jus de fruits

La faible consommation de fruits et légumes est associée à l'augmentation des risques de cancers ou autres maladies chroniques. Selon l'étude française SU.VI.MAX (2000), la consommation moyenne de fruits et légumes est de 330 g par jour pour les hommes et de 300 g par jour pour les femmes, ce qui correspond à 60% de la population en dessous des recommandations nutritionnelles.

Pour pallier cette sous-consommation de fruits et légumes, due entre autres à une faible durée de conservation, aux saisons courtes de consommation, aux prix élevés, le jus de

fruit apparaît être une bonne alternative. D'ailleurs les recommandations nutritionnelles mondiales intègrent clairement le jus de fruits comme une portion de la consommation quotidienne en fruits et légumes.

En accord avec la norme générale CODEX des jus de fruits et nectars, « les jus de fruits ont les principales caractéristiques nutritionnelles, chimiques, physiques et organoleptiques du ou des fruits dont ils proviennent », avec l'avantage de la facilité de consommation et d'une plus longue conservation (International Federation of Fruit Juice Producers, 2005).

I.2.1. Définition

Au terme du décret européen n°2003-838, les jus de fruits sont classés en trois catégories : jus de fruits, jus de fruits à base de concentré et nectar.

La norme générale codex (CODEX STAN 247-2005) définit le jus de fruits comme le liquide non fermenté, mais fermentescible, tiré de la partie comestible de fruits sains, parvenus au degré de maturation approprié et frais ou conservés dans des conditions saines conformément aux dispositions pertinentes de la commission du Codex alimentarius.

Certains jus peuvent être obtenus à partir de fruits comprenant des pépins, graines et peaux qui ne sont habituellement pas incorporés dans le jus, bien que des parties ou composantes de pépins, graines et peaux impossibles à retirer par des bonnes pratiques de fabrication soient acceptées.

Le jus est obtenu par des procédés adaptés qui conservent les caractéristiques physiques, chimiques, organoleptiques et nutritionnelles essentielles du fruit dont il provient. Le jus peut être trouble ou clair et peut contenir des substances aromatiques et des composés volatils restitués, à condition qu'ils proviennent des mêmes espèces de fruits et soient obtenus par des moyens physiques adaptés. De la pulpe et des cellules obtenues par des moyens physiques adaptés à partir du même type de fruits peuvent être ajoutées.

Un jus simple est obtenu à partir d'un seul type de fruits. Un jus mélangé est obtenu en mélangeant deux ou plusieurs jus ou jus et purées obtenus à partir de différents types de fruits.

Les boissons comme les jus de fruits, en France jus de raisin et jus de pomme, sont des boissons peu désaltérantes par leur richesse en sucre mais apportent une quantité de vitamine C importante. Le sucre, ajouté ou non, présent dans ces boissons peut atteindre 15% et la boisson apporte ainsi 600 kcal par litre.(derache., 1976)

I.2.2 Caractéristiques et composition :

Les boissons sont des aliments liquides. Ils ne sont pas les seules sources d'eau pour l'organisme puisque beaucoup d'aliments solides comprennent une proportion d'eau importante. Les boissons de type soda représentent un apport non négligeable de glucides (rullier., 1995).

Les boissons permettent d'étancher la soif et on les consomme pour :

- Leur gout : sucré, acidulé.... ;
- Leur qualité thermique : chaleur, fraîcheur ;
- Leurs qualités visuelles : limpidité, clarté, brillance ;
- Leurs apports en minéraux : les boissons participent à la couverture de certains minéraux

tels que le calcium, le fer, le magnésium, le fluor ou le cuivre. (fredot., 2006)

L'eau représente la boisson biologique la boisson primordiale de l'organisme animal ou végétal. C'est la boisson d'eau qui, en dernière analyse, régit le comportement de l'homme envers les éléments liquides. (tremolieres., 1987)

Tableau (II) : composition de principales boissons (pour 100g d'aliments)

	Principes énergétique (en g)			Minéraux (en g)			Calories
	protides	Glucides	Lipides	Ca	Fe	Na	
Bière (4°)	0,1	4	-	12	0,1	3	40
Vin (10°)	-	0,15	-	7	0,5	3	60
Coca-cola	-	12	-	-	-	-	48
Jus de fruits	-	12	-	-	-	-	48
Sirop	-	80	-	-	-	-	320

(jacotot et al., 2000)

Les nectars contiennent des jus de fruits, du sucre, de l'eau et, le plus souvent d'autre additif.

Les nectars de raisin, poire, et pêche peuvent, de plus contenir de l'acide citrique. Les nectars possèdent les mêmes caractéristique que les jus de fruits, puisqu'ils contiennent le plus souvent 50% de pulpe de fruit : abricot, pêche, poire, groseille. Cette pulpe est diluée dans 50 à 70% d'eau. (apfelbaum et al ., 1999)

I.2.3. La composition du raisin

Le raisin est le fruit d'un des genres de vigne dit *Vitis* et de l'espèce dite *Vitis vinifera*, il est la variété la plus répandue en raison de ses aptitudes vinifères.

On distingue deux types de raisins selon la couleur de leur peau :

- Les raisins à peau très colorée à maturité, de couleur allant du rouge au violet, et qui sont dits cépages noirs ;
- Les raisins à peau de teinte claire, allant de la verte pâle au jaune plus ou moins dorée, sont dits cépages blancs : il existe d'autres cépages moins répandus dont les baies sont roses (cardinal), blancs (clairette) ou grises (grenache). (Espiard., 2002)

La grappe de raisins est constituée d'une charpente ramifiée ou grappe qui porte les fruits qui sont des baies constituées par une peau contenant des tanins, flavones et anthocyanes (matières colorantes du raisin noir), une pulpe contenant essentiellement le jus et les pépins ou graines au nombre de un à quatre. (Espiard., 2002)

La composition du raisin est donnée par le tableau (3).

Tableau (III) : composition du raisin

		Unités	Raisins frais		Raisins secs	
			Noirs	Blancs		
Valeurs énergétiques	Totales	Kj	255	264	1029	
		Kcal	61	63	246	
	Protéines		Kj	8	8	17
			Kcal	2	2	4
	Graisses		Kj	Tr.	Tr.	Tr.
			Kcal	Tr.	Tr.	Tr.
	Sucres		Kj	243	251	1013
		Kcal	58	60	242	
Composés majeurs	Eau	(g)	80,7	79,3	21,5	
	Protéines	(g)	0,6	0,6	1,1	
	Graisses	(g)	Tr.	Tr.	Tr.	
	Sucres	(g)	15,5	16,1	64,4	
Eléments minéraux	Sodium	(mg)	2	2	52	
	Potassium	(mg)	320	250	860	
	Calcium	(mg)	4	19	61	
	Magnésium	(mg)	4	7	42	
	Soufre	(mg)	7	9	23	
	Phosphore	(mg)	16	22	33	
	Chlore	(mg)	Tr.	Tr.	9	
	Fer	(mg)	0,3	0,3	1,6	
	Cuivre	(mg)	80	100	240	
	Zinc	(mg)	0,1	0,1	0,1	
vitamines	Carotène	(ùg)	Tr.	Tr.	30	
	Vitamine C	(mg)	4	4	-	
	VitamineB1	(mg)	0,04	0,04	0,10	
	VitamineB2	(mg)	0,02	0,02	0,08	
	VitamineB6	(mg)	0,10	0,10	0,30	
	Nicotinamide(pp)	(mg)	0,3	0,3	0,5	
	Vitamine pp trp	(mg)	Tr.	Tr.	0,1	
	Ac.pantothénique	(mg)	0,05	0,05	0,10	
	Ac.folique	(mg)	6	6	4	
Biotine	(ùg)	0,3	0,30	-		
Autres	Mono-	(g)	15,5	16,1	64,4	
	disaccharides	(g)	0,4	0,9	6,8	
	Fibres indigestes					

Tr : Trace

(jacques., 1993)

I.2.4. Valeur nutritionnelle et thérapeutique

Les fruits sont largement plébiscités dans les politiques de santé en raison de leurs nombreux atouts nutritionnels. Et dans la plupart des pays européens ainsi qu'aux Etats-Unis, leur consommation reste largement en dessous des recommandations de l'organisation mondiale de la santé (OMS), à savoir au minimum 400 grammes de fruits par jour (anonyme, 2009).

Naturellement, les jus de fruit présentent les mêmes caractéristiques nutritionnelles et thérapeutiques que les fruits. (Anonyme, 2009).

Les jus de fruit sont une source calorifique :

- de vitamine pour faire le plein d'énergie
- de minéraux variés pour construire et réguler l'organisme
- d'antioxydants protecteurs pour aider à la protection de l'organisme
- de fibres pour améliorer le système digestif

I.2.4.1. Apport en micronutriments

Les jus de fruits présentent une :

I.2.4.1.1. Source de vitamine

Contenant un large éventail de vitamines essentielles au fonctionnement des cellules, les jus de fruits sont particulièrement riches en :

- vitamine C, antioxydant et essentielle dans la résistance aux infections,
- provitamine A, indispensable à la croissance et à la vision nocturne,
- vitamine B9 (acide folique), nécessaire à la formation des globules rouges.

I.2.4.1.2. Sources minérales variées

Ils sont riches :

- en potassium qui évite la rétention d'eau,
- en magnésium, relaxant musculaire,
- en nombreux oligoéléments, nécessaires à l'équilibre nutritionnel.

I.2.4.1.3. Sources d'antioxydant protecteur

Les antioxydants ont pour rôle de bloquer l'effet néfaste de radicaux libres sur les cellules. Ils sont présents dans les jus de fruits sous forme de polyphénols, caroténoïde, vitamine C et E, et aident à la protection des maladies cardio-vasculaires et du cancer (anonyme, 2009).

I.2.4.2. Apport en macronutriments

Les jus de fruits présentent une :

I.2.4.2.1. Sources riches en eau :

Les jus de fruits sont composés en moyenne de 90% d'eau. Ils contribuent donc à hydrater l'organisme en couvrant les besoins en eau, en complément des autres boissons quotidiennes.

I.2.4.2.2. Sources de fibre :

Si lors de la fabrication, le pressage élimine une partie des fibres, elles se retrouvent sous forme de fibres douces (pectines) dans la pulpe des jus de fruits.

I.2.4.2.3. Sources peu calorique :

L'apport énergétique des jus de fruits est identique à celui des fruits dont ils sont issus.

En moyenne, un verre de jus de fruits apporte 30 à 90 kcal, autant qu'un fruit de 150 g. le plus souvent, le sucre des jus de fruits est sous formes de fructose : il donne une saveur douce, son pouvoir sucrant est élevé pour un faible apport calorique. Les jus de fruit sont pauvres en lipides (Anonyme, 2009).

Le jus de raisin et un jus non fermenté mais fermentescible, destiné à la consommation directe, obtenu par un procédé mécanique à partir de raisin sains et mûrs conservé exclusivement par des procédés physiques. Les jus peuvent avoir été concentré et ultérieurement reconstitué avec de l'eau convenant pour conserver les facteurs essentiels de compositions et de qualité de jus (Codex Alimentarius., 1992).

Chapitre II
Matériel et méthodes

Notre étude a été effectuée du mois de Mai au mois de Septembre dans les différentes structures à savoir :

- Le laboratoire de contrôle de qualité de l'unité de SARL VITA JUS à Blida.
- Le laboratoire de contrôle qualité LCQ à Koléa

Le but de cette étude consiste à faire une étude comparative entre deux boissons (jus de raisin) l'un d'entre eux et enrichi par la Spiruline, et effectuée le contrôle de sa qualité physico-chimiques, microbiologique, organoleptique, la valeur nutritionnelle, ainsi que sa stabilité pendant 1 mois par rapport au jus non enrichi

II.1. Matériel

II.1.2. Matériel Biologique

Matières premières :

Matières premières :

- L'eau: l'eau de process a été prélevée aseptiquement dans 3 bouteilles en verre de 225 ml stériles à partir de la cuve de stockage. Le robinet a été bien nettoyé avec un désinfectant (de l'alcool à 90°) puis bien rincé. Après avoir laissé couler l'eau pendant quelques minutes, les bouteilles ont été remplies et bien fermées.
- concentré de raisin : 30 g a été prélevée aseptiquement dans des conditions hygiéniques et introduits dans 3 flacons stériles.
- le sucre : 30 g de sucre ont été prélevés aseptiquement dans des conditions ultra hygiéniques et introduits dans 3 flacons stériles.
- La spiruline en poudre (Vita Spiruline) : N° lot : 011413790 (La spiruline dont on dispose est sous forme de poudre d'origine de Maroc de haute qualité, cette poudre est conservée à l'abri de l'humidité. Sa richesse en éléments bioactifs et en substances nutritionnelles, lui confère un large potentiel d'utilisation, notamment dans l'alimentation comme un complément riche en protéines. Les propriétés nutritionnelles de la spiruline en font d'elle une source alimentaire qui mérite une attention particulière pour son développement. **(Annexe VIII)**)
- Produit semi-fini (jus de raisin avant pasteurisation).
- Produit fini : ce sont les bouteilles en carton Tetra pak de 1L de contenance qui on fait l'objet de notre étude.

II .1.3. Matériel non Biologique :

- Verrerie et appareillages (Annexe I)
- Milieux de culture (Annexe II)
- Réactifs et solutions (Annexe III).

II.2.Méthodes**II.2.1. échantillonnage**

L'étude a porté sur cinq productions différentes, cinq produits ont fait l'objet de notre étude à savoir : le concentré de raisin, l'eau, le produit semi-fini (avant la pasteurisation), le produit fini, et le produit fini enrichi par la spiruline.

Nous avons préparé un jus « nectar raisin » enrichi en utilisant de différentes doses de spiruline.

Pour cette boisson nous avons préparé 4 échantillons avec des doses différentes de spiruline, dont la composition de chaque échantillon est la suivante :

- Échantillon 1 : contient 0,1g de spiruline dans 1 litre de nectar de raisin.
- Échantillon 2 : contient 0,3g de spiruline dans 1 litre de nectar de raisin.
- Échantillon 3 : contient 0,5g de spiruline dans 1 litre de nectar de raisin.
- Échantillon 4 : contient 0,7g de spiruline dans 1 litre de nectar de raisin.

Préparation des échantillons

Pour préparer ces 4 échantillons on mélange :

- 1 litre de jus « nectar de raisin »
- Les différentes doses de spiruline.

- mélanger 500ml de jus de raisin avec les dose de spiruline choisie dans un bêcher et bien agiter pendant 5mins avec un agitateur.

- renverser ce mélange dans les 500ml du jus de raisin restant, et le mélanger encore une fois pendant quelques minutes à l'aide d'un agitateur. (ANNEXE X)

Méthodes d'analyses**A) Eau**

Avant de procéder au prélèvement, on flambe le robinet du réservoir d'eau (chaudières, bêche, process) pendant au moins une minute, à l'aide d'un coton imbibé d'alcool, puis on ouvre le robinet et on laisse couler pendant 2 à 5 minutes pour éliminer d'éventuels contaminants présents dans la conduite. Puis, on remplit un flacon de 250 ml dans les mêmes conditions d'asepsie.

B) Concentré

Cette matière première est stockée dans des sacs, eux-mêmes dans un conteneur et le tout dans une chambre froide à température 4° C.

Avant l'ouverture, exécuter convenablement la procédure ci-dessous :

- Laver l'extérieur du fût avec un détergent et un jet d'eau
- Essuyer avec un chiffon serviette propre le dessus du fût

- On flambe le coton imbibé d'alcool et ouvrir légèrement le couvercle pour remplir un flacon de 250 ml dans des conditions d'asepsie.

C) Produit semi-fini

Le nectar est stocké à une température ambiante dans un réservoir comportant un robinet, ouvrir ce dernier toujours sous atmosphère stérile et laisser couler une certaine quantité de l'échantillon, puis remplir un flacon de 250ml

D) Le produit fini

Prélever 5 à 6 packs de façon à construire un échantillon représentatif.

Remarque

Pour le prélèvement des échantillons destinés à une analyse physico-chimique, les conditions aseptiques ne sont pas exigées, mais l'homogénéité de l'échantillon permet la fiabilité des résultats.

II.2.2. Méthodes d'analyses microbiologiques

L'analyse microbiologique peut avoir pour objectif de détecter ou de quantifier une grande variété d'organismes, comprenant les bactériophages, bactéries, levures et champignons. Ils peuvent être pathogènes ou toxigènes pour l'homme, s'ils sont susceptibles de détériorer ou bien de compromettre la quantité d'un produit ; ils peuvent aussi indiquer si un produit a été traité de façon adéquate ou inversement, a été contaminé (Nigel et Eddie Arthur , 2002)

La préparation des échantillons en vue d'une analyse microbiologique nécessite au préalable une prise d'essai dans des conditions aseptiques.

Prise d'essai

- Les jus étant des produits liquides constitueront d'emblée donc une solution mère.
- Les concentrés étant des produits solides, feront l'objet de dilutions décimales, mais au préalable il est nécessaire de procéder à leur homogénéisation.

Préparation des dilutions (NF EN ISO 6887-1)**a) Cas des produits semi-fini et fini**

La boisson de raisin étant un produit liquide, le mélange de trois à cinq boîtes constituera la solution mère (SM=1).

Dilutions décimales

- On prélève aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 ml de la SM dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du tryptone Sel Eau (TSE) ; cette dilution est alors 1 / 10 ou 10^{-1} ,

- Introduire par la suite 1ml de la dilution 10^{-1} dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant ; cette dilution est alors au 1/100 ou 10^{-2} ,
- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 ml de la dilution 10^{-2} dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant ; cette dilution est alors au 1/1000 ou 10^{-3} .

b) Cas de concentré

Introduire aseptiquement 25 grammes de produit à analyser dans un bocal stérile préalablement taré contenant au préalable 225 ml de diluant soit le TSE, homogénéisé.

Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM), qui correspond donc à la dilution 1/10 ou 10^{-1} .

Dilutions décimales

- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 ml de la DM, dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml diluant ; cette dilution sera alors au 1/100 ou 10^{-2} .
- Introduire par la suite 1 ml de la dilution dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant ; cette dilution est sera alors au 1/1000 ou 10^{-3} .
- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 ml de la dilution 10^{-3} dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant: cette dilution est alors au 1/10000 ou 10^{-4} .
- Ces dilutions serviront à la recherche des germes suivants :
 - Germes Aérobie Mésophile Totaux,
 - Coliformes Totaux et *Escherichia coli*,
 - Anaérobies Sulfito-Réducteurs,
 - *Staphylococcus aureus*,
 - Levures et Moisissures

Remarque

Au moment de la réalisation des dilutions décimales, il est impératif de changer la pipette entre chaque dilution.

Contrairement à cela, lors de l'ensemencement il est recommandé de commencer par la plus forte dilution à savoir 10^{-3} dans le but justement de ne pas changer la pipette. On travaillera alors à l'aide d'une pipette graduée en verre stérile de 5 ml.

La Préparation des dilutions sont résumés dans les figures (1) et (2)

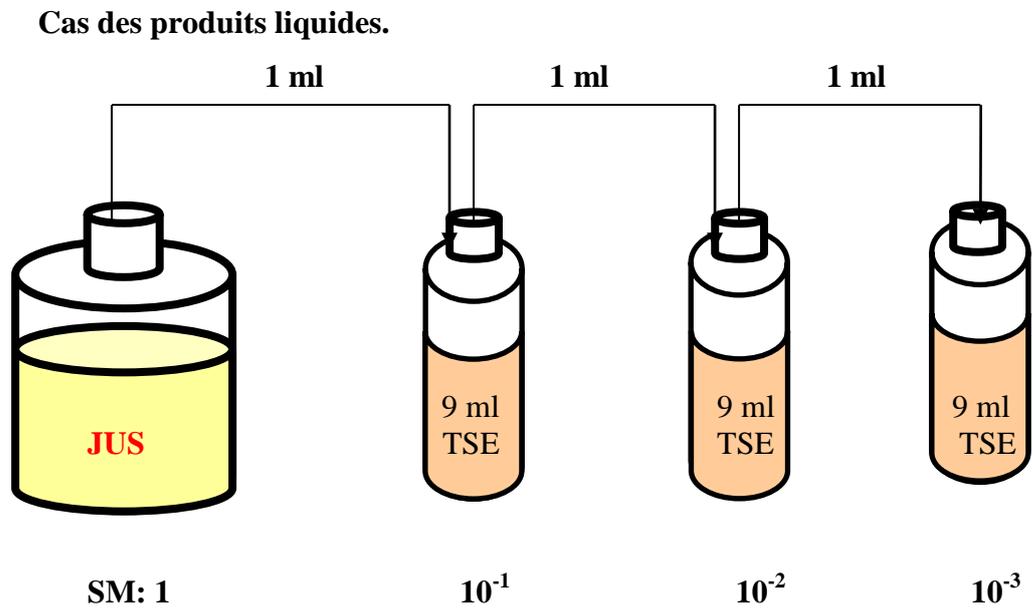


Figure (1) : Préparation des dilutions Cas des Produits Liquides.

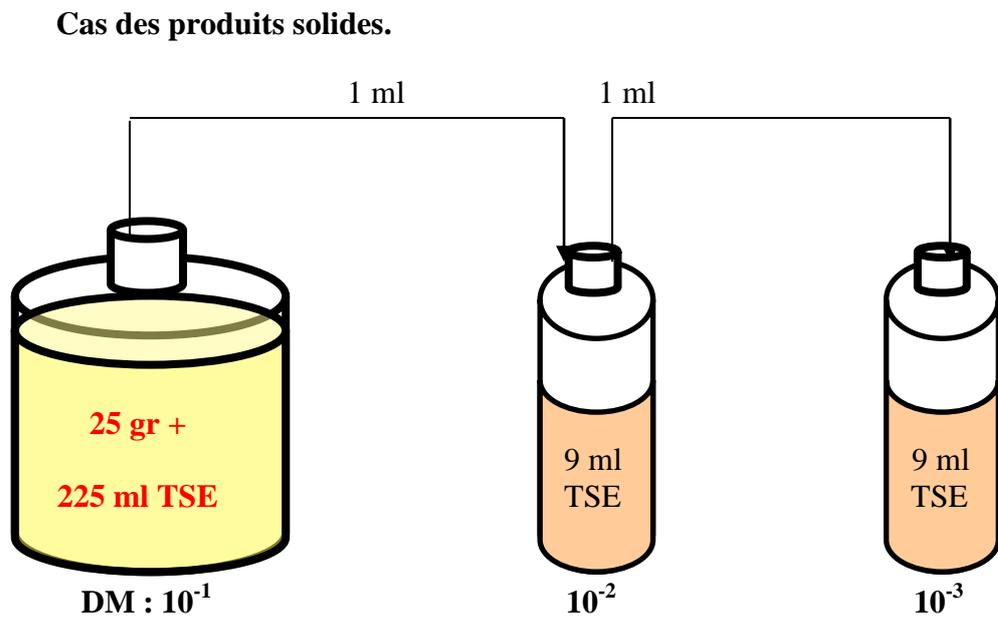


Figure (2) : Préparation des dilutions Cas des Produits Solides.

II.2.2.1. Analyses microbiologiques effectuées sur l'eau de process

A) Recherche et dénombrement des bactéries Coliformes et *Escherichia coli* en milieu liquide dans les eaux (ISO 4831)

Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement des bactéries Coliformes et *Escherichia coli* en milieu liquide dans les eaux par la technique du nombre le plus probable (NPP).

Technique

Deux méthodes de recherche et de dénombrement des bactéries Coliformes et des *Escherichia coli* dans les eaux en milieu liquide ont été retenues. Toutes deux se feront par la technique du NPP, elle-même basée sur deux étapes consécutives :

- le test de présomption: réservé à la recherche des Coliformes,
- le test de confirmation: réservé à la recherche des Coliformes thermo tolérants et *Escherichia coli*.

a) Test de présomption Figure (3)

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :

- 3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu Bouillon Bilié au Pourpre de Bromocrésol (BCPL) D/C muni d'une cloche de Durham
- 3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham,
- 3 fois 0,1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham, comme l'indique le logigramme n°2 ci-après.
- Chassez l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures

Lecture :

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- un dégagement de gaz (supérieur au 1/10^e de la hauteur de la cloche),
- un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites ci-avant.

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP correspondante à la méthode pratiquée, figurant en annexe.

b) Test de confirmation.

Le test de confirmation est basé sur la recherche de Coliformes thermo tolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

Les coliformes thermo tolérants ont les mêmes propriétés de culture et de fermentation que les coliformes mais à 44°C.

Escherichia coli est un coliforme thermo tolérant qui entre autre :

- Produit de l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu à 44°C,
- Donne un résultat positif à l'essai au rouge de méthyle,
- Ne produits pas de l'acétyle méthyle carbonyle,
- N'utilise pas le citrate comme source unique de carbone.

Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du test de présomption feront l'objet d'un repiquage à l'aide de deux gouttes dans un tube correspondant numéroté contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham, comme l'indique le **Figure (4)**.

Chasser l'air éventuellement présent dans les Cloches de Durham, bien mélanger le milieu et l'inoculum puis incuber cette fois-ci au bain marie à 44°C pendant 24 heures.

Lecture

Les tubes positifs présentant à la fois :

- ✓ Un dégagement gazeux,
- ✓ Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia Coli*

après l'adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

La lecture finale s'effectuée également selon les prescriptions de la table du NPP.
(ANNEXE IV)

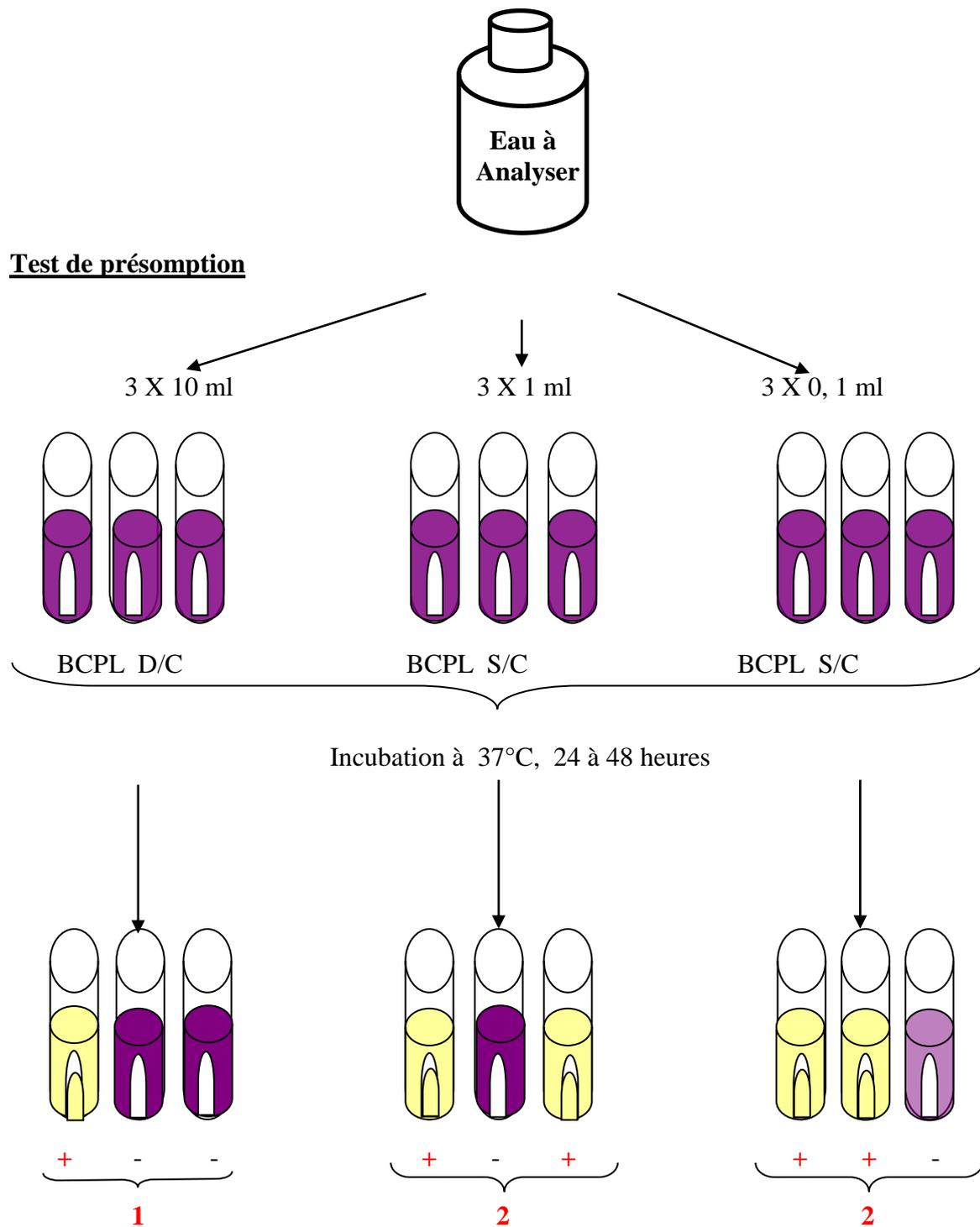


Figure (3) : Recherche et dénombrement des bactéries Coliformes dans l'eau (Test de présomption).

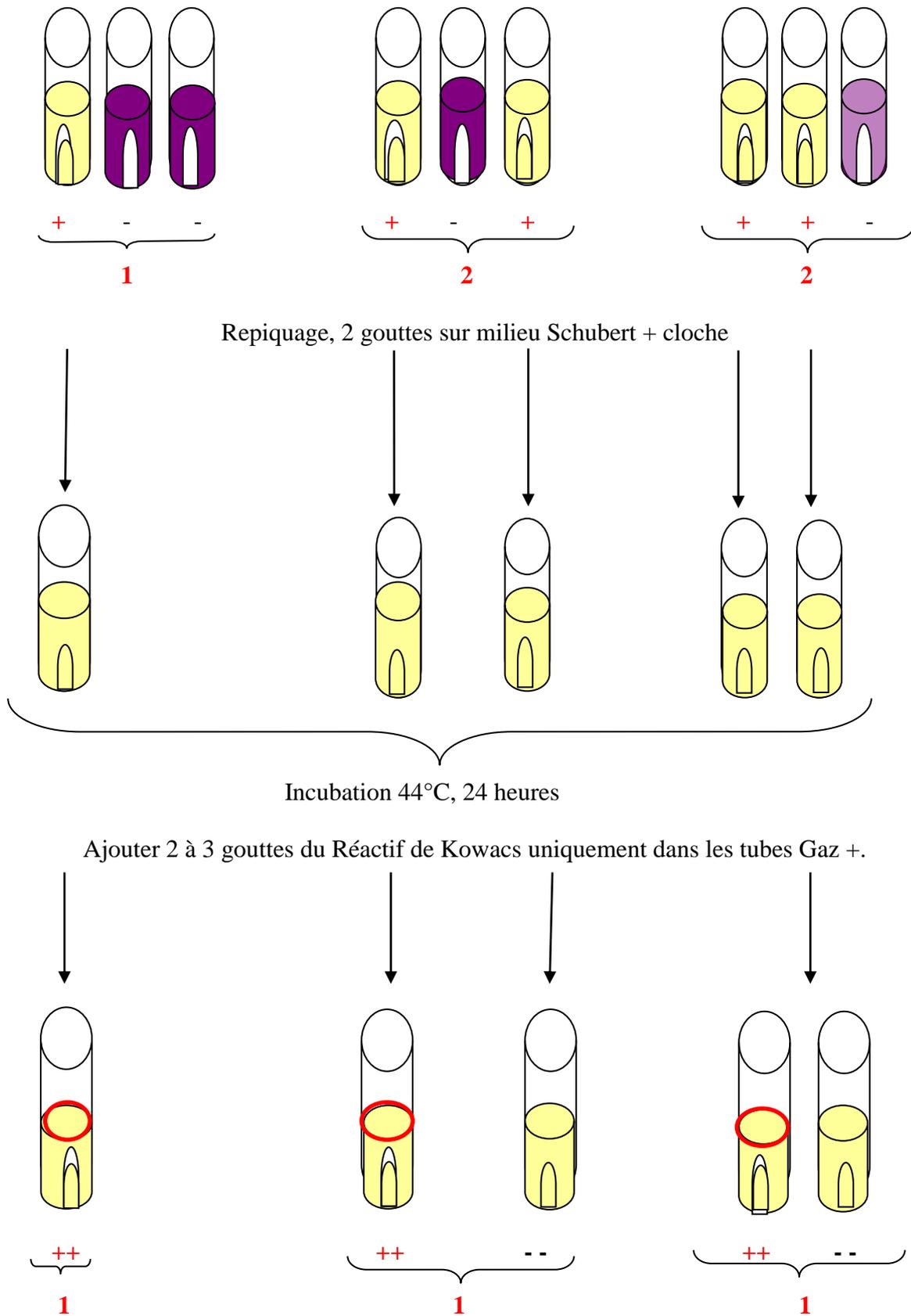


Figure (4) : Recherche et dénombrement des bactéries Coliformes dans l'eau (Test de confirmation).

B) Recherche et dénombrement des Streptocoques du groupe D. Méthode générale par ensemencement en milieu liquide (NPP). (NA 765)

Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement des entérocoques intestinaux ou Streptocoques du groupe « D » de la classification de Lance Field, ou encore Streptocoques fécaux dans les eaux par la technique du nombre le plus probable (NPP).

Technique

Deux méthodes de recherche et de dénombrement des Streptocoques du groupe « D » ou Streptocoques fécaux dans les eaux en milieu liquide ont été retenues. Toutes deux se feront par la technique du NPP, elle-même basée sur deux étapes consécutives :

- le test de présomption : réservé à la recherche présomptive des Streptocoques fécaux,
- le test de confirmation : réservé à la confirmation réelle des Streptocoques fécaux.

Test de présomption.

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :

- 3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant chacun 10 ml de milieu ROTHE D/C.
- 3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant chacun 10 ml de milieu ROTHE S/C.
- 3 fois 0,1 ml dans 3 tubes contenant chacun 10 ml de milieu ROTHE S/C.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures, comme l'indique la **Figure (5)**.

Lecture :

Dans les deux cas, seront considérés comme présomptivement positifs, les tubes présentant un trouble microbien ; seulement ces derniers :

- ne doivent en aucun cas faire l'objet de dénombrement,
- et doivent par contre, absolument faire l'objet d'un repiquage (deux gouttes) sur milieu LITSKY EVA dans le but d'être justement confirmés.

Illustration de la méthode.

Inoculum	Test de présomption
3 X 10 ml	-
	+
	+
3 X 1 ml	+
	+
	-
3 X 0,1 ml	+
	+
	+

Test de confirmation.

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoques du groupe « D » éventuellement présents dans le test de présomption.

Les tubes de ROTHE trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide de deux gouttes dans un tube contenant le milieu LITSKY-EVA.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait cette fois-ci à 37°C, pendant 24 heures, comme l'indique la **Figure (6)**.

Lecture :

Les tubes positifs présentant à la fois :

- ✓ un trouble microbien,
- ✓ une pastille violette ou blanchâtre au fond des tubes.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP correspondante figurant en annexe IV.

Illustration : Tableau Récapitulatif

Inoculum	Test de présomption	Test de confirmation		Nombre Caractéristique
		Trouble	Pastille violette ou blanchâtre	
3 X 10 ml	-			1
	+	+	+	
3 X 1 ml	+	+	+	2
	+	+	+	
	-			
3 X 0,1 ml	+	-	-	1
	+	+	+	
	+	+	-	

Le nombre caractéristique relatif au dénombrement des Streptocoques fécaux est donc « **121** », ce qui correspond sur la table du NPP au chiffre 1,5.

On considère alors qu'il y a 15 Streptocoques fécaux dans 35 ml d'eau à analyser car il faut multiplier par l'inverse de la première dilution, ce qui correspond à 10.

Le résultat final sera donc de :

15 Streptocoques fécaux dans 35 ml d'eau à analyser

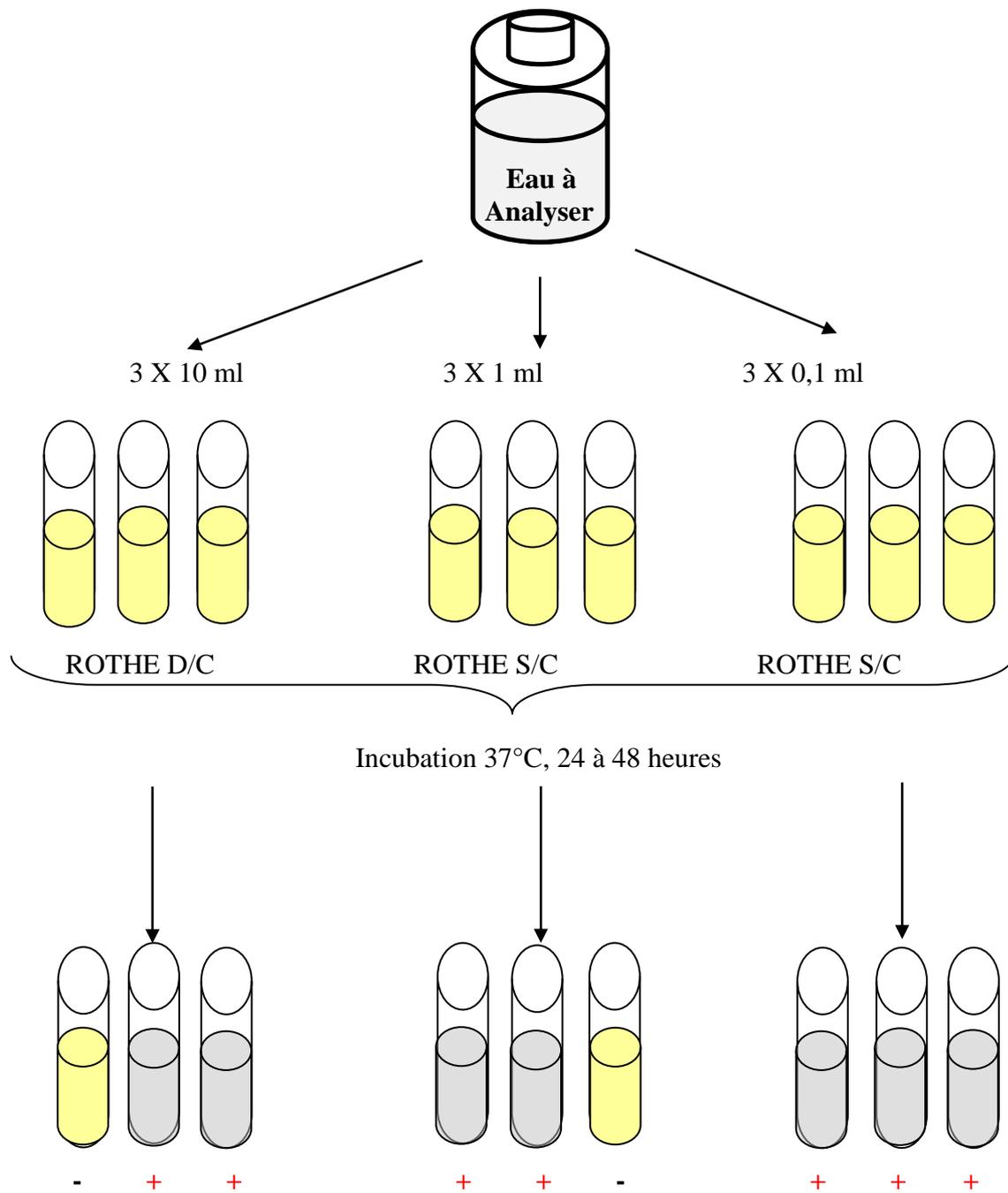


Figure (5) : Recherche et dénombrement des Streptocoques du groupe D (Test de présomption)

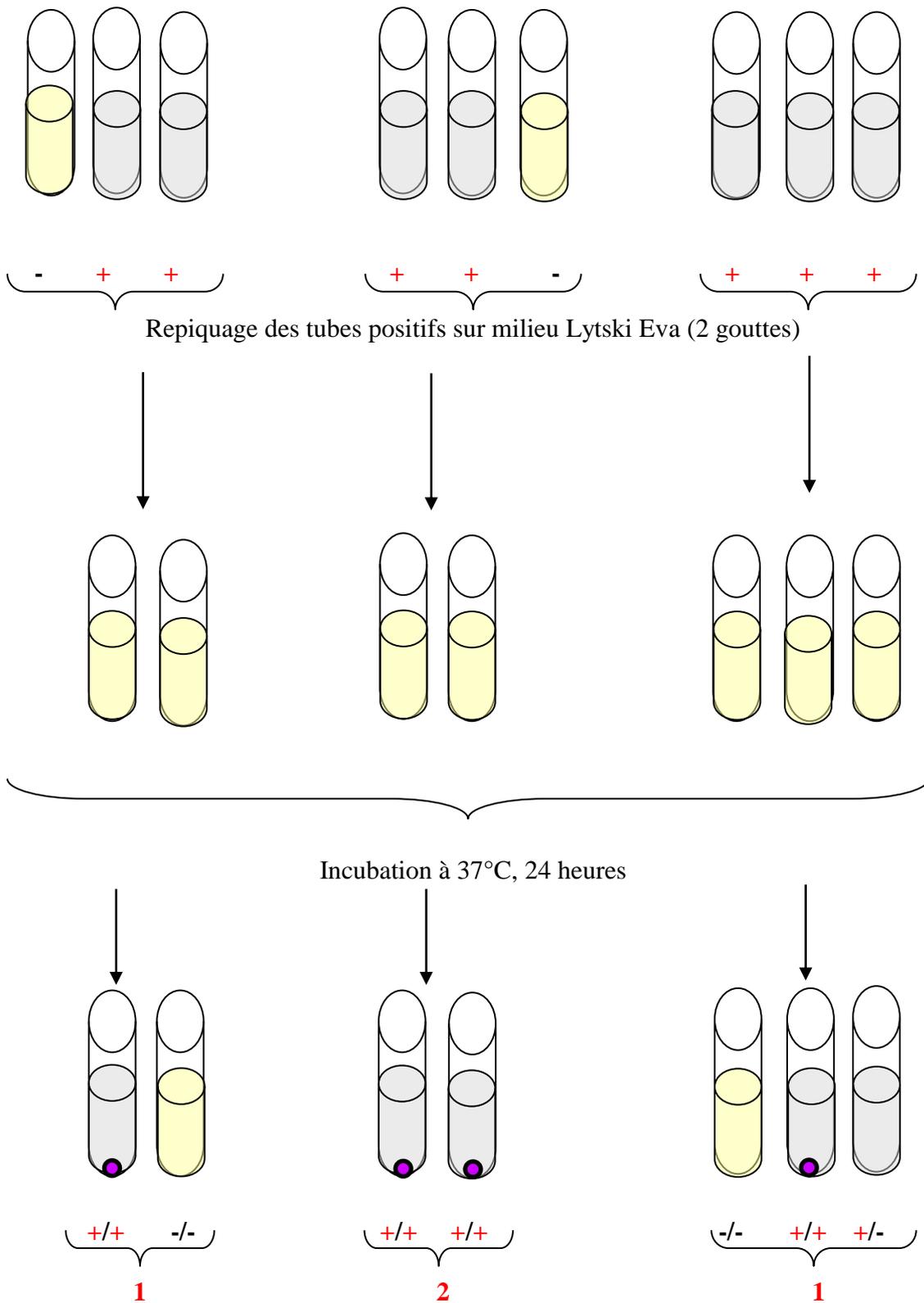


Figure (6) : Recherche et dénombrement des Streptocoques du groupe D (Test de confirmation)

C) Recherche et dénombrement des Spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de Clostridium sulfito-réducteurs. (XP V 08 – 061)**Mode opératoire.**

Basé sur la recherche et le dénombrement sur gélose Viande Foie.

A partir de l'eau à analyser :

- Transférer environ 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des bactéries anaérobies sulfito-réductrices éventuellement présentes, comme le montre le **Figure (7)**.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le flacon destiné à l'analyse, sous l'eau de robinet.
- Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 2 tubes différents et stériles, à raison de 10 ml par tube.
- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose Viande Foie préalablement fondue puis refroidie à $47 \pm 1^\circ\text{C}$ et additionnée de ses additifs spécifiques soit une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de Sulfite de sodium.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air et de l'oxygène.
- Laisser solidifier sur paille pendant environ 30 minutes, puis incubé à $35 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant 24 à 48 heures.

Lecture et interprétation.

- , la première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices sont envahissantes, auquel cas on se trouvera en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse sera nécessairement à refaire en poussant les dilutions décimales à 10^{-1} voire 10^{-2} .
- La seconde lecture se fera à 24 heures et la troisième et dernière à 44 ± 4 heures.
- Dénombrer toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, ayant poussé en masse et rapporter le nombre total des colonies caractéristiques contenues dans les deux tubes dans 20 ml d'eau à analyser.

D) Recherche et dénombrement des Germes Aérobie Mésophiles Totaux. (NF 08 – 051)**Mode Opératoire**

A partir de l'eau à analyser (SM = 1) et facultativement à partir des dilutions décimales 10^{-1} et 10^{-2} , porter aseptiquement 1 ml en double dans deux boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage comme l'indique le logigramme ci-après.

Compléter ensuite avec environ 19 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45 \pm 2^\circ\text{C}$. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boîte et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder 15 minutes.

Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, sur une surface fraîche et horizontale.

Laisser solidifier les boîtes sur pailleasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose ou de gélose blanche. Cette double couche, a un rôle protecteur contre les contaminations externes diverses.

Les boîtes seront partagées en deux séries distinctes :

- La première série sera incubée à $22 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 68 ± 4 heures,
- La seconde série sera incubée à $36 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant $44 \pm 4^\circ\text{C}$ heures.

Lecture et interprétation.

Les colonies de microorganismes revivifiables apparaissent en masse sous formes lenticulaires et bien distinctes. Retenir les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies, au niveau de deux dilutions successives. Il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies.

Calculer ensuite la valeur du nombre N, de microorganismes revivifiables à $22 \pm 2^\circ\text{C}$ à part et celle du nombre N de microorganismes revivifiables à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ à part, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma c}{1,1 \times d}$$

où :

Σc : est la somme des colonies dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule.

Le résultat final de microorganismes revivifiables dénombrés à 22°C et à 37°C par ml d'eau est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10^x où x est la puissance appropriée de 10.

Exemple :

Un dénombrement de microorganismes à 37°C a donné les résultats suivants :

- à la première dilution retenue 10^{-2} : on a 158 colonies.
- à la seconde dilution retenue 10^{-3} : on a 14 colonies.

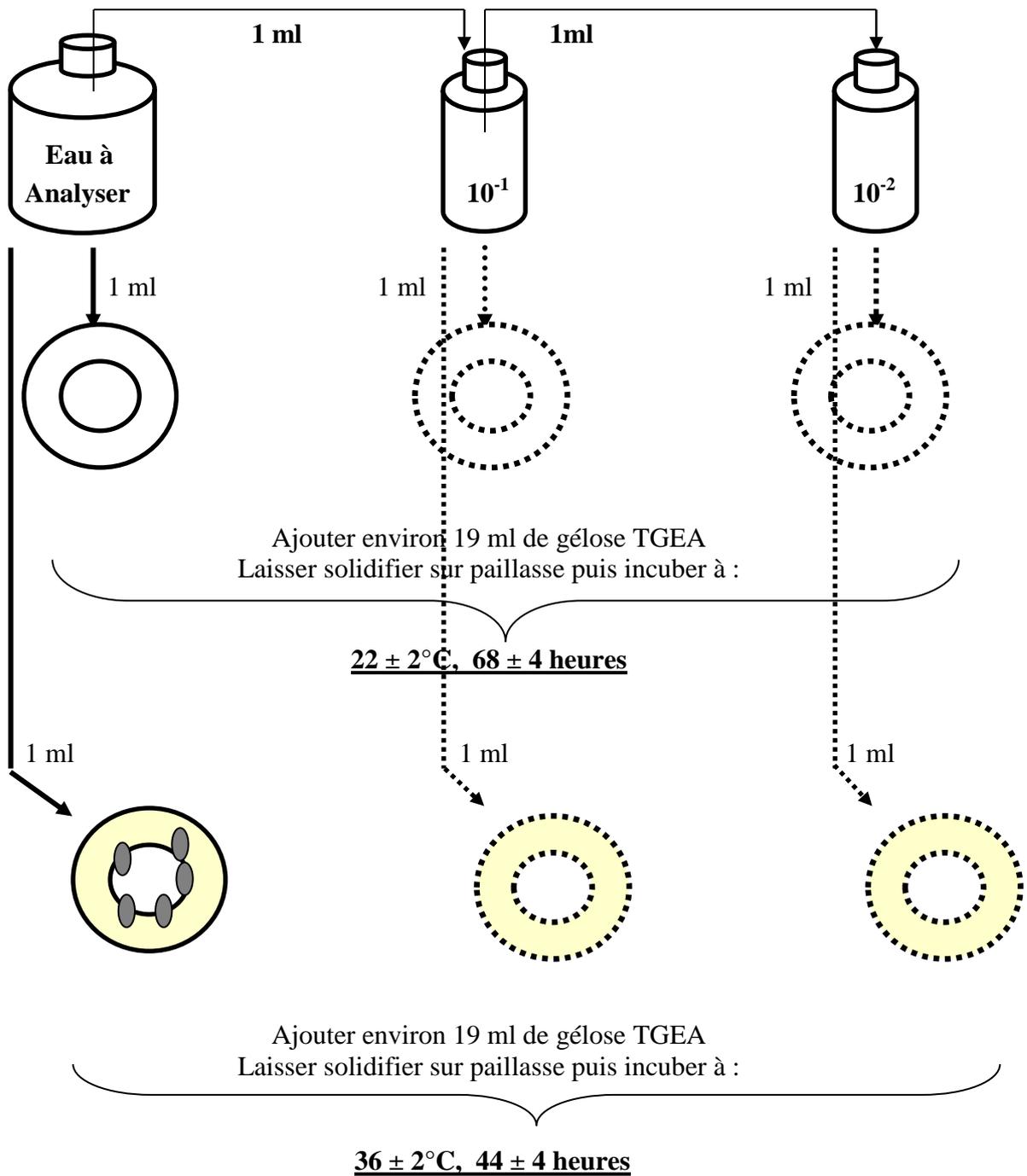
$$N = \frac{\Sigma c}{1,1 \times d} = \frac{158 + 14}{1,1 \times 10^{-2}} = \frac{172}{0,011} = 15636$$

Arrondir à deux chiffres significatifs, soit 16000 ou mieux encore :

$1,6 \times 10^4$ microorganismes par ml d'eau à 22°C ou à 37°C

Estimation des petits nombres de Germes aérobies mésophiles totaux.

- Si la boîte contient moins de 15 colonies, exprimer le résultat sous la forme suivante :
 - pour les produits liquides : $N_e = a$
 où :
 a : est le nombre de *germes aérobies mésophiles totaux* identifiés.
- Si la boîte ne contient aucune colonie, exprimer le résultat sous la forme suivante :
 - Inférieur à 1 germe aérobie mésophile totaux.



Dénombrer les colonies lenticulaires ayant poussé en masse dans chacune des boites, puis calculer la valeur de N à 22°C puis celle de N à 36°C.

————— Obligatoire
 Facultatif.

Figure (8) : Recherche et dénombrement des Germes Aérobie Mésophiles Totaux

II.2.2.2. Analyses microbiologiques effectuées sur le produit fini Concentré**A) Anaérobies Sulfito-Réducteurs. (XP V 08 – 061)****Mode opératoire.**

Basé sur la recherche et le dénombrement sur gélose Viande Foie.

- A partir de la suspension mère, transférer 1 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des bactéries anaérobies sulfito-réductrices éventuellement présentes, comme le montre le Figure N°9. Un second tube peut être utilisé de façon facultative.
- Après chauffage, refroidir immédiatement les tubes sous l'eau de robinet.
- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose Viande Foie préalablement fondue puis refroidie à $47 \pm 1^\circ\text{C}$ et additionnée de ses additifs spécifiques soit une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de Sulfite de sodium.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air et de l'oxygène.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant environ 30 minutes, puis incuber à 37°C, pendant 24 à 48 heures.

Lecture et interprétation :

Dénombrer les colonies caractéristiques dans le ou les deux tubes contenant moins de 30 colonies caractéristiques.

Retenir les tubes contenant moins de 30 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques. Il faut qu'un tube renferme au moins 15 colonies caractéristiques.

L'expression des résultats dépend du nombre de colonies dénombrées :

Illustration : Tableau Récapitulatif

Nombre de colonies dénombrées	Calcul (arrondir à 2 chiffres significatifs)
Entre 15 et 30 colonies (si on a utilisé 2 tubes)	Répondre : $N = \frac{\Sigma c}{1,1 \times d \times D}$
Entre 15 et 30 colonies (cas de l'ensemencement de la suspension mère seule)	Répondre : $N = \frac{c}{D}$
Entre 1 et 15 colonies	Répondre : $Ne = \frac{c}{D}$
Zéro colonies	Répondre : $Ne = \text{moins de } \frac{1}{D}$

où :

- N** : nombre de bactéries anaérobies sulfito-réductrices par g ou ml de produit.
- Σc** : somme des bactéries anaérobies sulfito-réductrices sur les deux tubes retenus.
- d** : taux de dilution du premier tube retenu.
- D** : taux de dilution de la suspension mère (D=1 pour les produits liquides ensemencés purs)
- c** : nombre de bactéries anaérobies sulfito-réductrices.
- Ne** : nombre estimé de bactéries anaérobies sulfito-réductrices par g ou ml de produit.

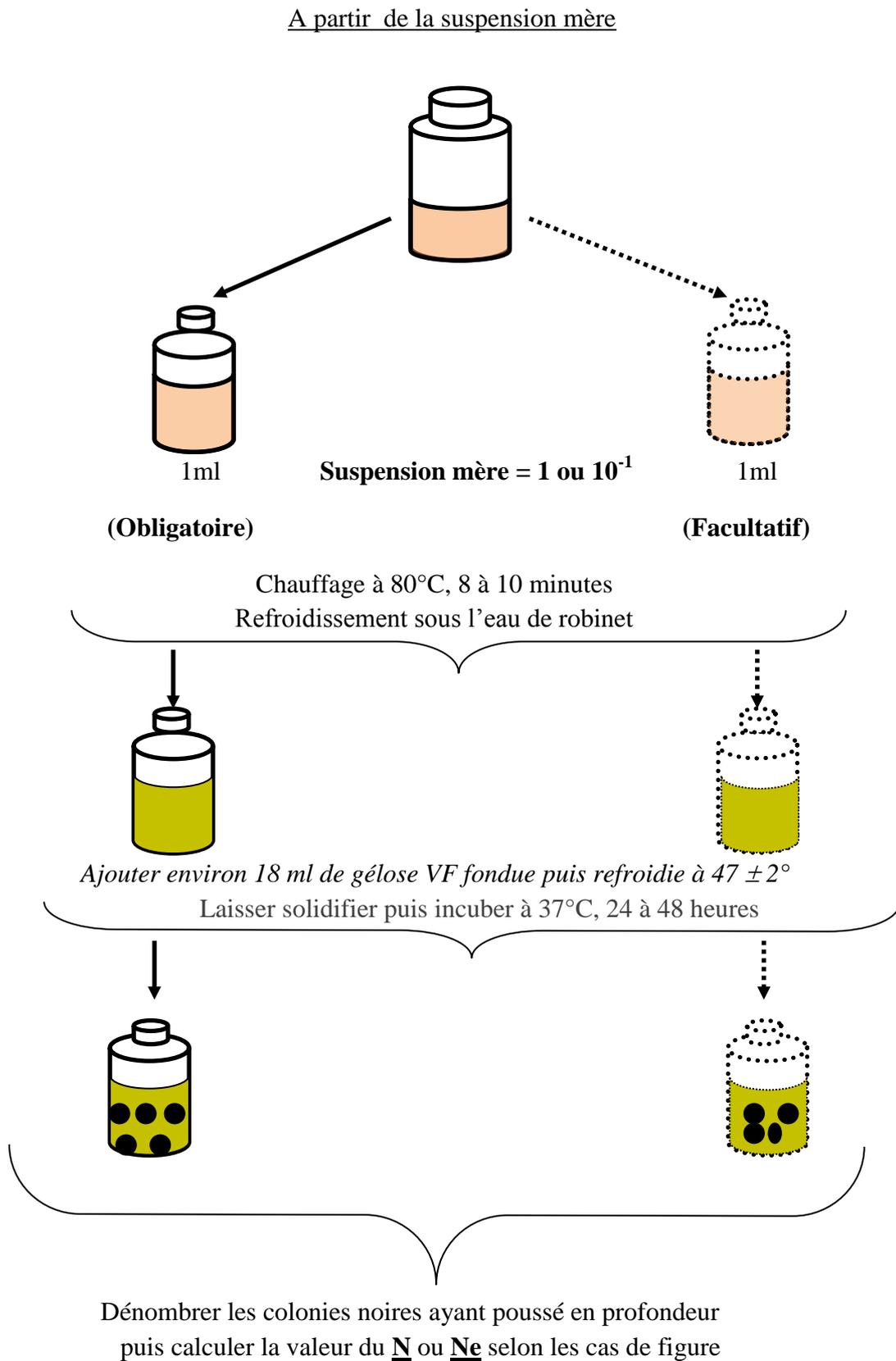


Figure (9) : Recherche et dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réducteurs dans le concentré et le produit fini

B) Recherche et dénombrement des Levures et Moisissures. (XP V 08 – 059)**Mode opératoire:**

Par cette méthode, les Levures et Moisissures sont recherchées et dénombrées dans les jus de fruits et concentrés selon le protocole suivant, comme le montre La Figure N°10

A partir des dilutions décimales, 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 0,1 ml dans une boîte de Pétri contenant de la gélose Sabouraud au Chloramphénicol ou Gélose OGA à l'Oxytétracycline, préalablement fondue, coulée en boîtes de pétrie puis séchées.

Étaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile, puis incubé à 22°C pendant 5 jours, couvercle en haut.

Dans le souci de ne pas se trouver en face de boîtes envahies par des Levures ou par des Moisissures, on doit effectuer des lectures et des dénombrements tous les jours, Levures à part et les Moisissures à part.

Remarques importantes :

- Opérer de la même façon et dans les mêmes conditions, avec le même diluant (TSE), c'est-à-dire qu'il faut prendre 0,1 ml du même diluant (TSE), les étaler avec un râteau stérile à part et les incubé dans les mêmes conditions que les boîtes tests, cette boîte constitue le témoin diluant (TD).
- Incuber telle quelle, une boîte du milieu de culture utilisé à savoir Gélose Sabouraud au chloramphénicol ou Gélose OGA à l'Oxytétracycline. Cette dernière sera séchée et incubée telle quelle dans les mêmes conditions de température et dans le même endroit, elle constitue alors, le témoin du milieu (TM).
- Au moment de la lecture, commencé obligatoirement par les deux boîtes témoins (TM et TD), si l'une d'entre elles est contaminée, l'analyse est ininterprétable donc à refaire.

Lecture et interprétation:

Retenir les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies, au niveau de deux dilutions successives.

Calculer le nombre \underline{N} , de Levures à part et de Moisissures à part, dénombrés à 22°C dans 0,1 ml de produit en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma c}{1,1 \times d \times V}$$

où :

Σc : est la somme des colonies de Levures ou de Moisissures dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

V : volume de l'inoculum étalé.

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs.

Le résultat final de Levures ou de Moisissures dénombrées à 22°C dans 0,1 ml de produit est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10^x où x est la puissance appropriée de 10.

Exemple :

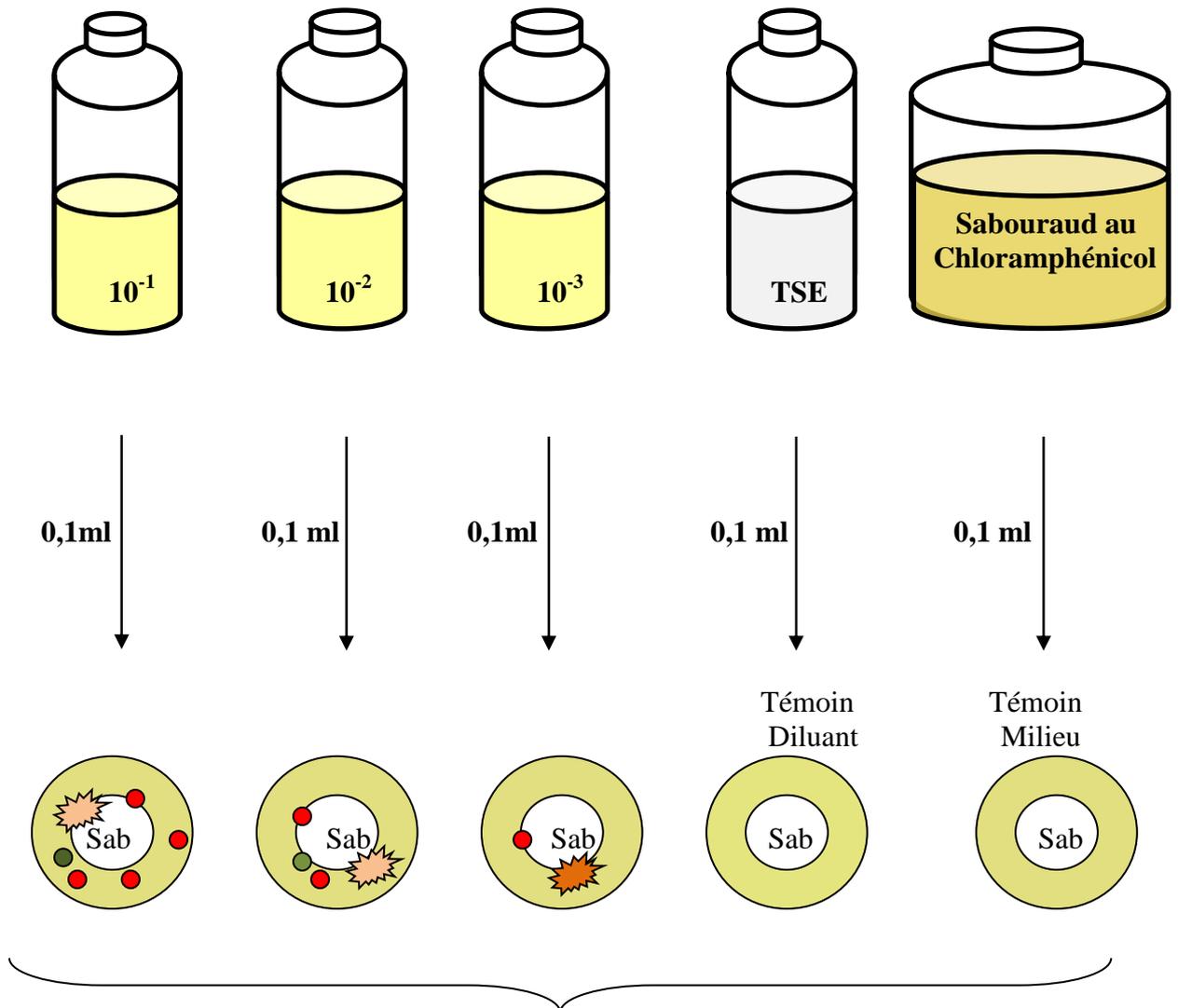
Si à la dilution 10^{-1} , on a trouvé 15 Levures et à la dilution 10^{-2} , on a trouvé 10 Levures, le nombre total de levures dans l'échantillon est calculé de la façon suivante :

$$\underline{N} = \frac{15 + 10}{1,1 \times 10^{-1} \times 0,1} = \frac{25}{0,011} = 2272,72$$

Le résultat final sera donc de :

2.10³ Levures dans 1 ml ou dans 1 gr de produit.

A partir des dilutions décimales.



22°C, 5 jours, avec lecture tous les jours.

Lecture préalable des boîtes témoins puis lecture des autres boîtes

Calculer la valeur **N** pour Levures à part et Moisissures à part.

Figure (10) : Recherche et dénombrement des Levures et Moisissures dans le concentré et le produit fini

C) Recherche et Dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans le concentré et le produit fini. (NF V 08 – 057 – 1)

La recherche de *Staphylococcus aureus* à partir de concentré et les nectars de fruits se fait selon la méthode d'enrichissement sur milieu de Giolliti Cantonii.

Technique**Préparation du milieu d'enrichissement**

Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu de Giolliti Cantonii pour y ajoute 15 ml d'une solution de Tellurite de Potassium, mélange soigneusement. Le milieu est alors prêt à l'emploi.

Ensemencement

A partir des dilutions décimales retenues, porter aseptiquement 1 ml par dilution dans un tube à vis stérile.

Ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

Incubation

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures

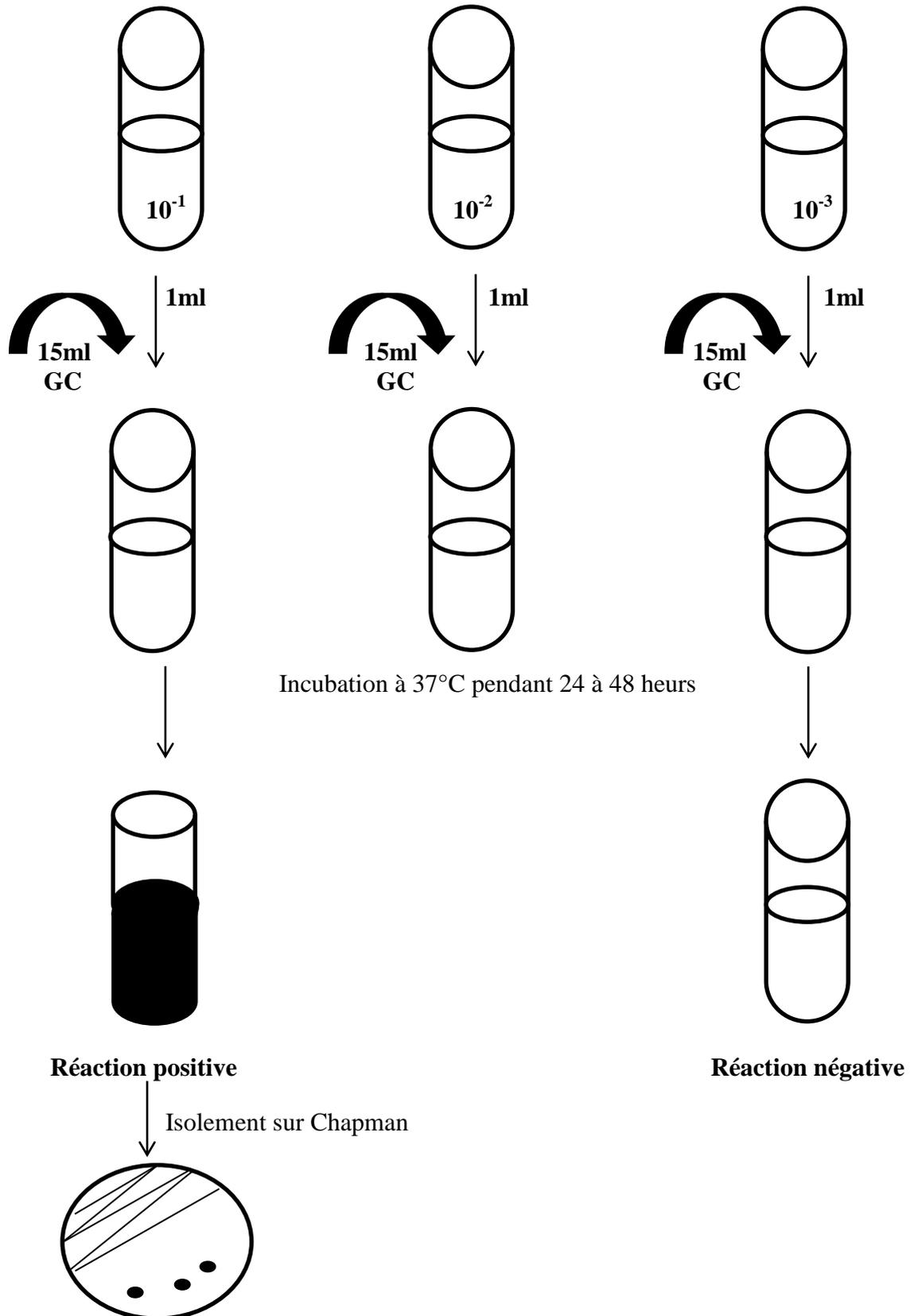
Lecture

Les tubes positifs virent au noir.

Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *Staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'une confirmation par isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boîtes de pétri et bien séchées.

Les boîtes de Chapman ainsi ensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune.



Incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures
Catalase, coagulase

Figure (11) : Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans le concentré et le produit fini

II.2.2.5. Analyses Microbiologiques de la Spiruline.

Les mêmes protocoles utilisés dans la caractérisation microbiologiques de produit fini et le concentré sont appliqués pour l'analyse de spiruline, à savoir la Flore mésophile totale, Coliformes fécaux, Staphylococcus aureus et Clostridium sulfito-réducteurs.

II.2.3. Méthodes d'analyses physico-chimiques**II.2.3.1. Analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau**

Les analyses physico-chimiques se réalisent sur trois types d'eau : eau de chaudière, l'eau de bêche et celle du process.

A) pH (NA 751)**Principe**

Le pH est mesuré directement à l'aide d'un pH-mètre.

Mode opératoire :

- Etalonner le pH-mètre avec deux solutions au moins (acide et base).
- Mise sous tension du pH-mètre
- Mettre l'appareil sur pH.
- Introduire l'électrode dans la solution à contrôler.
- Laisser la valeur indiquée se stabilisée.
- Faire la lecture du pH directement sur l'écran.
- Rincer l'électrode par eau distillée après chaque utilisation.

Résultat :

- Lecture directe de la valeur pH sur le pH-mètre.

B) Titre hydrométrique de l'eau (TH) : (NA 752)**Principe**

La dureté totale ou titre hydrométrique d'une eau correspond à la somme des concentrations en cations métalliques. Dans la plupart des cas elle est surtout due aux ions Ca^{++} et Mg^{++} .

METHODE PAR COMPLEXOMETRIE.

- Mettre 100ml d'eau de chaudière dans un erlen de 250ml
- Ajouter quelques gouttes de noir d'ériochrome (15gouttes).
- Ajouter 2 ml de la solution de tampon pH =10 (Ammoniacal).

Si la solution obtenue est bleu, donc TH= 0.

Si la solution obtenue est violette, procéder au titrage par la Solution d'Ethyl Diamine Tetra Acétique (E.D.T.A) 0,02 N jusqu'à virage bleu.

Résultat :

$$TH = 1000. C. V1/V2$$

La concentration totale en Ca^{++} et Mg^{++} exprimée en mmol/l

C : Concentration en mol/l de la solution E.D.T.E de 0,02N

V1 : Volume en ml de la solution E.D.T.A

V2 : Volume en ml de l'échantillon (c.à.d. 100 ml) ;

Conversion : 0,1 mmol/l = 1°F

$$TH (°F) = V1$$

C) Titre alcalimétrique et titre alcalimétrique complet de l'eau TA et TAC (AFNOR.,1986)

L'alcalinité exprime la teneur en ions bicarbonates, carbonates et hydroxydes elle est généralement déterminée par titrage à l'aide d'un acide fort (HCl , H_2SO_4) en présence d'un indicateur coloré.

Principe

On évalue une alcaline d'une eau par le dosage acidimétrique des carbonates HCO_3^- qui s'y trouvent présents

C-1) Détermination du titre alcalimétrique (TA)

- Prélever 50ml d'eau dans un Erlen de 250ml.
- Ajouter quelques gouttes de phénol phtaléine.
- Titrer par le H_2SO_4 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une solution incolore (A) .

Expression des résultats

$TA = 2. V1. 5 °F$ donc :

$$TA = V1.10°F$$

TA est exprimé en meq est converti en degré Français : **1meq = 5°F**

V 1 : volume de H_2SO_4 utilisé pour la titration.

C-2) Détermination du titre alcalimétrique complet (TAC):

- Ajouter à la solution (A) quelques gouttes de méthylorange.
- Continuer de titrer par H_2SO_4 jusqu'au virage à l'orange.
- soit V_2 le volume de H_2SO_4 versé.

Expression des résultats :

TAC= 2V. 5° F donc :

$$\text{TAC} = V \cdot 10^\circ \text{F}$$

V : volume H₂SO₄ versé dans la solution V₂ + V₁.

D) Chlorures (NA 6917)

- Principe

Les chlorures sont dosés par une solution de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium.

La réaction est indiquée par l'apparition de teinte rouge caractéristique d'AgCl.

Mode opératoire (METHODE DE MOHR).

- Prélever 10 ml d'eau à analyser dans un Erlen
- Ajouter quelques gouttes de K₂Cr₄ à 10%.
- Titrer avec une solution d'AgNO₃ 0,03N jusqu'à apparition d'un Précipité rougeâtre.

RESULTATS :

$$(\text{Cl}^-) = V \cdot 100 \text{ mg/l}$$

V : volume AgNO₃ versé.

II.2.3.2. Analyses physico-chimiques effectuées sur le concentré

Pour effectuer les analyses physico-chimiques, on procède d'abord à des dilutions pour la mesure du degré de Brix et l'acidité titable.

A) Brix (indice de réfraction) (IS 2173/NF EN 12143)**Principe**

Le degré de Brix est mesuré par réfractomètre. La température de référence est de 20 °C

Mode opératoire

- ✓ Appliquer une petite prise d'essai sur le prisme du réfractomètre en veillant à ce que les prismes soient pressés.
- ✓ La prise d'essai couvre uniformément la surface du verre.
- ✓ Effectuer la mesure conformément aux instructions opératoires de l'appareil utilisé.

Expression des résultats

La lecture directe sur le réfractomètre, ensuite en calcule la moyenne arithmétique des deux déterminations.

La valeur de Brix dans un gramme est donnée par la formule suivante :

$$\text{Brix} = \text{lectue} \cdot 4 \text{ (g /Kg)}.$$

Remarque

On a pesé 5g (concentré) —————> 20 ml d'eau

1g —————> X

X= 4ml.

B) Acidité titrable (NA 691/NF EN 12147)**Principe**

Analyse de l'acidité par la méthode titrimétrique à l'aide d'une base de normalité connue.

Mode opératoire

- Dans un Erlen de 250 ml, peser 5g de concentré ;
- Ajouter 70 ml d'eau distillée ;
- Mélanger à l'aide d'un agitateur magnétique ;
- Ajouter quelques gouttes de phénol phtaléine ;
- Titrer avec la soude 1 fois normale (1N) jusqu'au virage rose.

Expression des résultats.

En acide citrique mono hydraté :

$$\text{Acidité} = V \times \frac{N \times M}{N_{\text{eq}} \times Q} \text{ g/Kg}$$

$$\text{Acidité} = V.14 \text{ g/Kg}$$

En acide citrique anhydre :

$$\text{Acidité} = V.12,8 \text{ g/Kg}$$

V= Volume de NaOH (ml)

N = La normalité d'acide citrique = 1

M = La masse molaire d'acide citrique = 210 acide citrique mono hydraté et 192 pour le anhydre

Neq = nombre d'équivalent gramme = 3

Q = Quantité de concentré = 5g

II.2.3.3. Analyses physico-chimiques effectuées sur les produits semi fini et fini

On a quatre paramètres à analyses : pH, acidité, Brix, et la densité qui s'effectue uniquement pour le produit fini.

A) pH (NA 2233)

La même méthode précédente.

B) Brix (IS 2173/NF EN 12143)

La même méthode précédente sauf pour l'expression des résultats qui se fait directement sur le réfractomètre.

C) Acidité titrable (NA 691/NF EN 12147)**Principe**

Le même principe cité précédemment.

Mode opératoire :

On met 50 ml de jus dans un erlenmeyer et on ajoute 4 gouttes de phénolphthaléine, puis on titre avec du NaOH (0,1) jusqu'au virage de la couleur du jaune au rose.

Expression des résultats :

La même méthode précédente.

D) Densité (AFNOR.,1986)**Principe**

Détermination de la densité et de la température correspondante du produit à contrôler par lecture directe.

Mode opératoire

- Verser le produit dans l'éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de bulle d'air.
- Placer l'éprouvette verticale,
- Introduire le densimètre doucement en le retenant dans sa descente, lorsqu'il a pris une position d'équilibre,
- L'enfoncer légèrement puis le laisser reprendre une position d'équilibre sans qu'il touche l'éprouvette,
- La lecture est faite à la partie inférieure du ménisque,
- Après chaque utilisation, rincer le densimètre à l'eau distillée.

II.2.3.4. Analyses physico-chimiques effectuées sur le sucre**A) Humidité****Principe**

La teneur en humidité du sucre est obtenue par dessiccation du sucre à l'étuve à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 3 heures.

Mode opératoire :

- Mettez dans une capsule séchée et tarée 05 g de sucre pour essai à l'aide de la spatule.
- Placer la capsule dans l'étuve pendant 03 heures après vous la refroidit dans un dessiccateur ensuite peser la capsule.

Expression des résultats

La teneur en humidité est donnée par l'expression suivante :

$$H\% = 100 - \text{matière sèche en \%}$$

Matière sèche en% = $(m_2 - m_0) / (m_1 - m_0) * 100$

m_0 : masse de la capsule vide sèche (gr)

m_1 : masse de la capsule avec le contenu (gr)

m_2 : masse de la capsule après la dessiccation (gr)

II.2.3.5. Analyses physico-chimiques effectuées sur le peroxyde d'hydrogène

On a deux paramètres à analyser : densité et température pour déterminer leur concentration.

Mode opératoire :

- Verser une petite quantité du peroxyde d'hydrogène dans une Éprouvette graduée.
- Plonger l'aréomètre dans une éprouvette en s'assurant qu'elle Contient suffisamment de liquide pour faire flotter l'aréomètre.
- Si des bulles d'air adhèrent à l'aréomètre, remué doucement Pour les éliminer.
- Relever simultanément la densité au niveau du liquide sur L'aréomètre et la température.

Résultats :

Avec une règle, joindre la valeur de densité de l'échantillon (sur l'échelle de densité) à la valeur de la température (sur de température).

La concentration de H_2O_2 en termes de % du poids peut être lue sur l'abaque

II.2.3.6. Analyses physico-chimiques effectuées sur la spiruline :**Teneur en eau :** Selon la norme NA/1133/1990**a) Principe :**

La méthode de référence pratique consiste en un étuvage à pression atmosphérique, à une température de 130-133°C, dans des conditions opératoires définies, la perte de masse observée est équivalente à la quantité d'eau présente dans le produit.

Mode opératoire :

- Prise d'essai : avant d'effectuer le prélèvement sur l'échantillon de laboratoire, il est nécessaire de bien homogénéiser ce dernier.
- Peser à 1 mg près une quantité de 5g de produit dans la capsule préalablement séchée et tarée, couvercle compris.
- Les capsules doivent être manipulées à l'aide d'une pince.
- Introduire les capsules prises d'essai (couvercle compris) dans l'étuve une fois la température de 130°C est atteinte, laisser les capsules durant 2 heures.
- Une fois le temps de l'étuvage écoulé, retirer les capsules de l'étuve rapidement et les laisser refroidir dans le dessiccateur (40 à 45 min).
- Quand les capsules atteignent la température de laboratoire, peser les capsules à 1 mg près.
- On effectue deux analyses pour chaque test.

b) Expression des résultats :

La teneur en eau en % est donnée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau en \%} = \frac{M_0 - M_1}{M_0} \times 100$$

Avec :

M_0 : masse de la prise d'essai (g).

M_1 : masse de la prise d'essai après étuvage (g).

Le potentiel hydrogène (pH): Selon la norme NF V05-108 de juillet 1970

a) Mode opératoire :

- Etalonner le pH-mètre avec deux solutions au moins (acide et base).
- Placer 10g d'échantillon broyé convenablement, dans un bécher et ajouter au moins deux à trois fois son volume d'eau distillée.
- Mélanger bien la solution pour qu'elle soit homogène.
- Filtrer la solution.
- Prolonger l'électrode dans le filtre.

b) Expression des résultats :

- Lire directement le résultat sur le cadre du pH-mètre.

La teneur en protéines totales : Selon la norme (NA.115/1990)

L'azote total est dosé selon la méthode de **KJELDAHL**, appliquée aux céréales et normalisée en Algérie sous la référence NA 1185/1990 en concordance technique avec la norme française NF VO 3-050/Septembre 1970.

a) Principe :

Le principe de la méthode de KJELDHAL est basée sur la minéralisation de l'échantillon par voie humide en utilisant l'acide sulfurique (0.1N) en présence de catalyseur approprié qui facilite et accélère la réaction.

b) Mode opératoire :

➤ **Minéralisation :**

Opérer sur un échantillon de 0.5 à 2 g (selon l'importance de l'azote dans l'échantillon), L'introduire dans un matras de 250 ml, ajouter 2 g de catalyseur (compose de 250g de K₂SO₄, 250g de CuSO₄ et 5g de Se) et 20ml d'acide sulfurique concentré (densité =1.84). Porter le matras sur le support d'attaque et chauffer jusqu'à l'obtention d'une coloration verte stable.

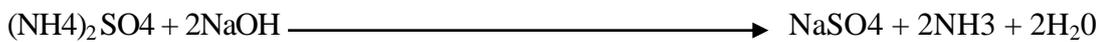
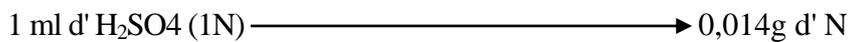
Laisser refroidir, puis ajouter peu à peu avec précaution 200ml d'eau distillée en agitant et en refroidissant sous un courant d'eau.

➤ **Distillation :**

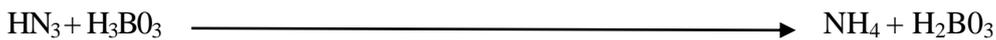
Transvaser 10 à 50 ml du contenu du matras dans l'appareil distillateur (BUCHIR), rincer la burette graduée dans un bécher destiné à recueillir le distillat, introduire 20ml de l'indicateur composé de :

- 20 g d'acide borique.
- 200 ml d'éthanol absolu
- 10 ml d'indicateur contenant :

- * 2,5ml rouge de méthyle à 0,2% (0,2 dans 100 ml) dans l'alcool 95° et (7,5ml) de vert de Bromocrésol à 0,1% (0,1g dans 100 ml) dans l'alcool a 95°
- * Verser lentement dans le matras de l'appareil distillateur, 50ml de lessive de soude (d=1,33) (330g de soude dans 1 litre d'eau distillée), mettre en marche l'appareil.
- * Laisser l'attaque se faire jusqu'a l'obtention d'un volume de distillat de 100 ml au moins, titrer en retour par de l'acide sulfurique N/20 (50ml H₂SO₄1N+950ml d'eau distillée) ou N/50(20ml H₂SO₄ n=98 ml d'eau distillée) jusqu'a l'obtention a nouveau de la couleur initiale de l'indicateur.



Après environs 4 minutes de distillation, on constate un virage de la couleur rouge au bleu.



✓ **Expression des résultats :**

La teneur en protéines rapportée à la matière sèche se calcule d'après la relation suivante :

$\text{La teneur en protéines (\%)} = \frac{v \times 0.007 \times 100}{M} \times \frac{100 \times K}{100 - H}$
--

Avec :

V : volume en ml, de la solution d'acide, verse à la burette lors du titrage.

M : masse en gramme, de la prise d'essai.

K : coefficient de conversion, dans le cas du blé et produits dérivés : K = 5,7 et 6.25 pour la spiruline.

H : la teneur en eau de l'échantillon (%).

La teneur en lipides totaux : Selon la norme **AFNOR NFV03-713 (1984)** . :

a) Principe :

- L'extraction de la matière grasse par de l'hexane réalisée dans un appareil d'extraction de type **SOHXLET** pendant 5heure;
- L'élimination de l'hexane par séchage de l'extrait lipidique dans une étuve.

b) Mode opératoire :

- Sécher le ballon de 500ml à l'étuve à 150°C pendant une heure,
- Refroidir le ballon au dessiccateur pendant 30 min,
- Peser le ballon puis introduire 20g d'échantillon dans la cartouche de papier filtre,
- Placer la cartouche avec la prise d'essai à l'intérieur de l'appareil Soxhlet,
- Verser 250ml de l'hexane dans le ballon,
- Chauffer le ballon sur le chauffe ballon pendant 4 heures jusqu'à l'épuisement de la matière grasse
- Après, éliminer le solvant du ballon par distillation,
- Sécher le résidu du ballon dans une étuve à 70-80°C,
- Refroidir le ballon au dessiccateur pendant 30mn,
- Peser le ballon avec l'huile,
- Répéter l'opération de séchage jusqu'à l'obtention d'un poids constant du ballon.

✓ Expression des résultats

La teneur en lipides totaux en g pour 100 g de produit sec est calculée par la formule suivante :

$$\text{Taux de lipides (\%)} = M_1 \times \frac{100}{M_2} \times \frac{100}{100 - H}$$

M_1 : masse en g du résidu lipidique ;

M_2 : masse en g de la prise d'essai ;

H : teneur en eau de l'échantillon en % de la masse humide.

La teneur en glucides totaux

La teneur en glucides totaux "G" en g pour 100 g de produit sec est calculée par différence :

$$G = 100 - (H\% + CB\% + C\% + P\% + L\%)$$

Avec :

H : teneur en humidité (en % de produit sec) ;

CB: teneur en cendres (en % de produit sec) ;

P : teneur en protéines totales (en % de produit sec) ;

L : teneur en lipides totaux (en % de produit sec).

Valeur énergétique

La détermination du taux de protéines, lipides et glucides nous a permis de calculer la valeur énergétique pour chaque pain préparé suivant la formule :

Valeur énergétique en Kcal = 4 glucides + 4 protéines + 9 lipides

Détermination des cendres totales: Selon la norme N°22.97.07

C'est la destruction des matières organiques d'une prise d'essai par chauffage à une température de 550°C en présence d'air, jusqu'à l'obtention d'une masse constante.

a) Mode opératoire

-Allumer et régler le four à moufle à 550°C.

-Peser environ 2 g de l'échantillon dans la capsule

-Placer la capsule dans le four à moufle jusqu'à disparition complète des particules charbonneuses dans la capsule.

-Placer la capsule dans le dessiccateur et la laisser refroidir à la température du laboratoire.

-Peser à 0,1 mg près (Ministère du commerce, 2000).

✓ Expression des résultats

Les cendres de l'échantillon, exprimées en pourcentage en masse, sont égales à:

$$\frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Avec :

m_0 est la masse, en grammes, de la capsule séchée.

m_1 est la masse, en grammes, de la capsule et de la prise d'essai.

m_2 est la masse, en grammes, de la capsule et des cendres obtenues

II.2.4. Analyses sensorielle

Le choix de la meilleure formulation est basé non seulement sur les qualités nutritionnelles mais aussi sur les qualités organoleptiques ce qui nous a amené à effectuer l'analyse sensorielle.

L'analyse sensorielle a donc pour but de décrire les caractéristiques organoleptiques des produits, de façon objective et quantifiable selon des critères bien défini d'aspect, de texture, de saveur et d'arôme (Luquet et Corrieu.,2005).

Un questionnaire (fiche d'appréciation citée en ANNEXE VII) est distribué à des gens de différents horizons les (universitaires, responsables et employeur de l'unité de fabrication Vita jus).

Pour chaque échantillon, les dégustateurs ont noté le niveau d'acceptabilité générale à l'aide d'une échelle structurée à 4 points. Comme l'évaluation sensorielle est centrée sur l'acceptabilité générale, la note 1 correspond à une mauvaise qualité de produit sur le plan goût, odeur et apparence et la note 4 à un produit de bonne qualité. Les différentes formulations ont été servies dans des assiettes codées.

Quatre formulations différentes ont été préparées Tableau (4)

Tableau (IV) : Quantité de différentes doses de chaque formulation (g/l)

Les Formulations (F)	Dose de la spiruline (g/l)
F1	0,1
F2	0,3
F3	0,5
F4	0,7

II.3.5. Test de stabilité de jus

Le test de stabilité a été effectué sur la meilleure formulation choisie lors de l'analyse sensorielle (jus F3). Ce jus a été préparé et analysé le jour même puis analysé après incubation à 22°C pendant 4 semaines.

L'intérêt principal est d'observer l'évolution au cours du temps pour estimer une date limite d'utilisation optimale et d'étudier la stabilité de ce jus de point de vue de sa qualité physico-chimique, organoleptique, microbiologique.

- Prendre 1 litre de jus de raisin.
- peser 0.5 g de spiruline (en utilisant une balance de précision électrique).
- Verser le jus de raisin dans un bêcher 1000ml, puis ajouter la dose 0.5g de la spiruline.

- Agiter bien à l'aide d'un agitateur pendant quelques minutes.
- verser le jus enrichi dans des flacons stériles.
- Effectuer un traitement thermique (une Flash pasteurisation) 95°C pendant 30 secondes.
- Incuber les flacons remplis dans une étuve à une température ambiante (22°C-25°C).

Lecture :

- Effectuer une analyse de ce jus une fois par semaine pendant 4 semaines :
 - > Analyse de paramètres physico-chimique (Acidité, Brix, et pH) ;
 - > Analyse microbiologique ;
 - > Analyse des critères organoleptique.

Chapitre III

Résultats et interprétations

III. Résultats et Interprétations

III.1. Résultats des analyses microbiologiques

III.1.1. Eau de process

L'eau est un élément très important dans l'agroalimentaire, utilisée comme élément de lavage, nettoyage ainsi que pour la reconstitution, sa qualité microbiologique induite directement la qualité microbiologique du produit.

Les résultats des analyses microbiologiques effectués sur l'eau de process sont résumés dans le Tableau (V)

Tableau (V): Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process

Analyses Echantillons	GAMT		Coliformes Totaux	Coliformes Thermo- tolérants	Streptocoques Fécaux	ASR
	22°C	37°C				
E1 11/05/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E2 18/05/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E3 25/05/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E4 01/06/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E5 08/06/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Normes (J.O.R.A N035, 1998).	<20/ml	<10 ² /ml	<10/100ml	Abs/100ml	Abs/50ml	<5/20ml

Abs : absence.

JORA : journal officiel de la république algérienne n°35 du 27 mai 1998.

Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process montrent l'absence totale des germes recherchés dans tous les échantillons prélevés, cela nous permet de dire que l'eau utilisée pour la préparation des nectars est de bonne qualité microbiologique et que les traitements de l'eau s'avèrent être efficace. Ces résultats sont conformes aux normes Vita jus publié dans J.O.R.A (1998).

III.1.2. Concentré de raisin rouge

La préparation des concentrés ne se fait pas chez l'unité de Vita-jus, cette dernière les achemine directement prêt à l'emploi. Susceptible d'être une source de contamination, des analyses microbiologiques y sont effectuées pour définir sa qualité microbiologique et sa flore contaminant et cela malgré ses caractéristiques limitant le développement bactérien notamment sa grande teneur en matière sèche et son acidité élevée.

Les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur le concentré sont résumés dans le Tableau (VI)

Tableau (VI): Résultats des analyses microbiologiques effectués sur le concentré

Analyses Echantillons	Staphylococcus aureus	Coliformes Totaux	Coliformes Thermo-tolérants	ASR	Levures	Moisissures
E1 19/05/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E2 02/06/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E3 24/06/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E4 21/07/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E5 17/08/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Normes (J.O.R.A N°35, 1998)	Abs	Abs	Abs	Abs	<20/litre	10/100ml

D’après les résultats mentionnés dans le tableau (VI) nous remarquons que les valeurs obtenus révèlent l’absence totale des germes recherchés (Coliformes totaux et fécaux, les anaérobies sulfito-réducteurs et les levures et moisissures), C’est-à-dire les résultats obtenus sont conformes à la norme du JORA N°35, 1998.

En conclusion nous pouvons dire que le concentré est de bonne qualité microbiologiques, cela explique effectivement le respect des bonnes pratiques de fabrication de ce dernier.

III.1.3. Produit Fini

Ces analyses sont effectuées sur les produits destinés à la consommation humaine. Des résultats bien strictes doivent être obtenus afin de garantir la bonne conservation du produit avant sa durée de péremption et de s’assurer de l’efficacité des traitements thermiques.

Les résultats des analyses microbiologiques effectués sur le produit fini sont résumés dans le Tableau (VII)

Tableau (VII) : Résultats des analyses microbiologiques effectué sur le produit fini

Analyses Echantillons	Staphylococcus aureus	Coliformes Totaux	Coliformes Thermo-tolérants	ASR	Levures	Moisissures
E1 01/06/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E2 22/06/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E3 13/07/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E4 17/08/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E5 18/08/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Normes (J.O.R.A N°35, 1998)	Abs	Abs	Abs	Abs	<20/litre	10/100ml

Les résultats obtenus des analyses microbiologiques sont conformes à la norme établit par le JORA (1998). Ces résultats confirment l'efficacité du traitement thermique et la maitrise des risques microbiologiques de la matière première jusqu'au produit fini.

Nous concluons ainsi que notre produit fini est de bonne qualité bactériologique.

Les résultats présentés dans ce tableau, confirment l'efficacité de la pasteurisation et la maitrise des risques de contamination microbiologique

III.1.4.Produit fini étuvé

Les résultats des analyses microbiologiques effectués sur le produit fini après incubation à 37°C pendant 15 jours, sont résumés dans le Tableau (VIII).

Tableau (VIII) : Résultats des analyses microbiologiques effectué sur le produit fini étuvé

Analyses Echantillons	Staphylococcus aureus	Coliformes Totaux	Coliformes Thermo-tolérants	ASR	Levures	Moisissures
E1 01/06/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E2 22/06/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E3 13/07/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E4 17/08/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E5 18/08/14	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Normes (J.O.R.A N°35, 1998)	Abs	Abs	Abs	Abs	<20/litre	10/100ml

Les résultats des différentes analyses microbiologiques du produit étuvé établies sur les différents échantillons, ont montré une absence totale d'organisme microbiologique, ces résultats montrent la bonne qualité bactériologiques selon les normes de JORA N°35, 1998 et indique la stabilité microbiologique du produit fini durant le stockage.

III.1.6. La spiruline

Les résultats des analyses microbiologiques effectués sur la spiruline sont résumés dans le Tableau (IX)

Tableau (IX) : Résultats des analyses microbiologiques de la spiruline

Germes recherché	Charge (UFC/g)	Normes françaises (germes/g) (Arrêté du 21/12/1979)
Germes aérobies mésophiles totaux (GAMT)	10 ³	≤10 ⁵
Coliformes totaux	Abs	-
Coliformes fécaux	Abs	<10
<i>Clostridium sulfuto-réducteurs (CSR)</i>	Abs	<10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	≤10 ²
Levures	Abs	-
Moisissures	Abs	-
Salmonelles	Abs	Abs/25g

Selon Jourdan, 2006.

Les analyses microbiologiques effectuées sur la poudre de spiruline ont montré qu'elle ne contient pas de coliformes fécaux et totaux, ni de levures et moisissures, de même que pour les *staphylococcus aureus* et *salmonella*. Elle ne présente donc aucun danger en raison de sa conformité aux normes établies en France. Aussi, la présence des Germes Aérobie Mésophile Totaux (GAMT) est tolérable selon le journal officiel de la république algérienne. Les résultats indiquent donc qu'elle est fabriquée dans de bonnes conditions d'hygiène.

La spiruline sèche est exempte de tout germe pathogène, ce qui explique sa bonne qualité microbiologique due à l'alcalinité très élevée du milieu de culture. Cela constitue une excellente barrière contre la plupart des contaminations. Rappelons que notre spiruline est vendue sous forme de complément alimentaire ce qui explique sa bonne qualité.

L'analyse de centaines d'échantillons de spirulines commerciales cultivées en Thaïlande, Japon, Taiwan et au Mexique a également montré que les coliformes sont absents dans la plupart des échantillons, indiquant les bonnes conditions sanitaires de la croissance, récolte, séchage et emballage (Gershwin, 2008).

III.2. Résultats des Analyses Physico-chimiques

III.2.1 Eau

Des analyses physico-chimiques ont été effectuées afin de vérifier l'efficacité de ces traitements. Sachant que cette eau influée directement sur la qualité organoleptique du produit fini.

A) Eau de process

La qualité physico-chimique de l'eau de process est très importante car elle intervient directement sur la qualité du produit fini.

Les résultats des analyses physico-chimiques effectués sur l'eau de process sont résumés dans le Tableau (X)

Tableau (X) : Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process

Echantillons	Analyses		
	TH	pH	Cl ⁻
E1 11/05/14	5,7	7,30	50
E2 13/05/14	4,9	7,25	60
E3 15/05/14	8,5	8,46	35
E4 18/05/14	19	7,55	38
E5 21/05/14	10	7,22	40
Normes interne	≤10	7 à 8,5	Max 40 mg/l

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau de process, donnés par le Tableau (X), nous remarquons que :

Le pH des 5 prélèvements varie entre (7,22 – 8,46) est conforme aux normes internes de l'unité de Vitajus.

Le TH des quatre prélèvements (E1, E2, E3, E5) est conforme à la norme sauf celui de E4 qui est supérieur à la norme. Cette non-conformité du TH est probablement due aux concentrations élevées en cations métalliques qui sont généralement le calcium et le magnésium et qui se traduit par la saturation de résine échangeuse d'ions (adoucisseur). Cette dernière nécessite aussi une régénération.

Le chlorure des trois prélèvements (E1, E2) est supérieur à la norme. La présence excessive de chlorure dans l'eau favorise une corrosion (lorsque l'eau est peu chargée en calcaire, elle est souvent corrosive pour les conduites d'eau métalliques. Dans chacun des cas il peut s'en suivre des coûts importants de réparation des conduites (fuites ou bouchages),

donc il faut diminuer la concentration en chlorure car elle va influencer sur la qualité organoleptique de notre produit fini.

B) L'eau de chaudière

Les résultats des analyses physico-chimiques effectués sur l'eau de chaudière sont résumés dans le Tableau (XI)

Tableau (XI) : Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de chaudière

Analyses Echantillons	TA	TAC	TH	Cl-	So ₃ ⁻²	pH (25°C)
E1 11/05/14	84	135	1,2	150	22	11,45
E2 13/05/14	90	139	0	190	50	11,24
E3 15/05/14	75	90	0,9	280	50	11,26
E4 18/05/14	85	112	0,4	220	30	11,30
E5 21/05/14	41	56	0	190	40	11,52
Normes interne	60 à 80 (°F)	80 à 120 (°F)	0 (°F)	<500 mg/l	20 à 40 mg/l	11 à 12

D'après ce tableau les résultats des paramètres Cl⁻ et pH sont conformes aux normes imposés par l'unité de Vitajus.

Concernant le TH des 3 prélèvements (E1, E3, E4) nous remarquons qu'il est supérieur à la norme, il est nécessaire donc d'effectuer un adoucissement, lorsque l'eau est trop dure le Mg⁺⁺ et Ca⁺⁺ se déposent dans les canalisations et forment du tartre. **(Fredot., 2006)**

Le TA des (E1, E2, E4) varie entre (41 – 90) et est supérieur à la norme par rapport a l'échantillon (E5) qui est inférieure à la norme.

Le TAC des 2 prélèvements (E1, E2) est au-dessus des limites critiques de l'entreprise.

Les résultats de sulfate de deux prélèvements (E2, E3) sont inférieurs à la norme, par contre les valeurs des échantillons (E1, E4, E5) sont conformes aux normes.

C) Eau de bêche

Les résultats des analyses physico-chimiques effectués sur l'eau de bêche sont résumés dans le Tableau (XII)

Tableau (XII) : Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de bêche

Paramètres Echantillons	TH	pH
E1	0	8,69
E2	0	8,48
E3	0	8,43
E4	0,1	9,12
E5	0,3	9,15
Normes interne	0,5	8,5-10

Le tableau (XII) représente les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau de bêche, nous observons que les valeurs du TH des 5 échantillons sont incluses dans les normes imposées par Vitajus. Ce qui signifie la faible teneur en Mg⁺⁺ et Ca⁺⁺ dans l'eau.

Le pH des 5 prélèvements est entre (8,43- 9,15) donc ces résultats sont conforme aux normes de vitajus.

III.2.2. Concentré de raisin rouge

Les paramètres de tous les arrivages du concentré doivent être identiques pour permettre la stabilité du produit de point de vue organoleptique. Les paramètres déterminés sont : l'acidité et l'indice de réfraction.

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur le concentré sont résumés dans le tableau (XIII)

Tableau (XIII) : Résultats des analyses physico-chimiques du concentré de raisin rouge

Analyses Echantillons	Acidité	Indice de réfraction
E1 06/08/14	9,8	68,2
E2 10/08/14	14	66,9
E3 20/08/14	13,9	66,26
E4 26/08/14	15,9	68
E5 08/09/14	13,2	68,27
Normes internes	15,55 ± 2 (g/Kg)	68,22 ± 0,5 °Bx

Concernant le concentré, nous avons 2 paramètres à analyser : le Brix et l'acidité.

Le Brix est un paramètre très important pour déterminer la quantité de la matière sèche soluble. Ce paramètre peut influencer négativement sur le goût et la texture du produit fini s'il est largement inférieur à la norme.

D'après les résultats illustrés dans le tableau (XIII), les valeurs des 2 paramètres contrôlés répondent parfaitement aux normes exigées par l'unité de Vita-jus. Ce qui affirme la bonne qualité physico-chimiques du concentré.

III.2.3. Produit semi-fini

Les résultats des analyses physico-chimiques effectués sur le produit semi-fini sont présentés dans le tableau (XIV) :

Tableau (XIV) Résultats des analyses physico-chimiques du produit semi-fini

Echantillons \ Analyses	Acidité	Indice de réfraction	pH	Densité
E1	3,50	15,2	2,93	1,064
E2	3,92	15,3	3,14	1,065
E3	3,78	14,9	2,78	1,062
E4	3,50	15	2,90	1,063
E5	3,38	15,4	3,02	1,059
Normes internes	3,22 à 4,20 g/kg	14,6 à 15,5 Bx	2,50 à 3,20	1,058 à 1,064

Les résultats obtenus révèlent que les cinq prélèvements sont conformes à la norme établit par l'unité de Vita-jus, ceci traduit le respect des doses de la recette lors de la préparation des cinq prélèvements, Ainsi, le produit peut être pasteurisé et conditionner.

III.2.4. Produit fini

Les résultats des analyses physico-chimiques effectués sur le produit fini sont résumés dans le tableau (XV)

Tableau (XV) : Résultats des analyses physico-chimiques du produit fini

Analyses échantillons	acidité	Indice de réfraction	pH	Densité
E1	3,64	15,1	2,74	1,064
E2	3,22	15,3	2,72	1,063
E3	3,36	15,2	3,09	1,063
E4	3,64	14,9	2,80	1,058
E5	3,22	15,0	3,18	1,059
Nomes internes	3,22 à 4,20 g /KG	14,6 à 15,5 °Bx	2,50 à 3,20	1,058 à 1,064

Le degré Brix de tous les échantillons préparés varie entre (3,22 et 3,64) Cependant nous pouvons dire que les valeurs du Brix des 5 échantillons sont conformes aux normes exigées par le J.O.R.A.

Les quatre échantillons présentent presque le même pH qui varie entre (2,72 et 3,18) en moyenne. Et qui ne dépasse pas les limites critiques qui sont entre (2.50 et 3.20) d'une densité allant de (1,058 à 1,059), ces échantillons ont une densité conforme à la norme qui est de (1,058 et 1,064).

Les résultats obtenus concernant l'acidité sont conformes aux normes exigées par l'entreprise de Vitajus, ce qui confirme la bonne qualité physico-chimique du produit fini.

III.2.5. Produit fini étuvé

Le but de cette analyse est de voir s'il y'a une influence des paramètres physico-chimiques sur la stabilité des produits fini pendant le stockage.

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur le produit fini étuvé à 37° C pendant 15 jours sont résumés dans le tableau (XVI)

Tableau (XVI) : Résultats des analyses physico-chimiques du produit fini étuvé

Analyses Echantillons	Acidité	Indice de réfraction	pH	Densité
E1	3,36	15	2,72	1,062
E2	3,36	14,8	2,75	1,063
E3	3,22	15,3	3,05	1,061
E4	3,63	14,8	2,77	1,058
E5	3,36	15,01	3,15	1,060
Normes internes	3,22 à 4,20 g/kg	14,6 à 15,5° Bx	2,50 à 3,20	1,058 à 1,064

Les résultats de ces 4 paramètres physico-chimiques (acidité, indice de réfraction, pH et la densité) effectués sur le jus de raisin étuvé sont tous conformes aux normes exigées par le J.O.R.A ce qui explique l'étanchéité de l'emballage ainsi que la stabilité de notre jus.

III.2.6. Analyses physico-chimiques de la spiruline.

Les résultats des analyses physico-chimiques effectués sur la spiruline sont résumés dans le Tableau (XVII)

Tableaux (XVII) : Analyses physico-chimiques de la spiruline.

Tests Echantillon	H%	Matière Sèche %	pH	Taux de Cendres %	Teneur en Protéines %
Spiruline	6,14	93,86	8,03 ± 0,1	10,79 ± 0,1	61,25 ± 0,17
Normes	<10	>90	7-9	<10	>50

Selon Jourdan, 2006

On remarque une conformité de l'ensemble des résultats : le pH, la matière sèche, l'humidité, le taux de cendres et la teneur en protéines.

A) Humidité (H%) et matière sèche (MS%)

L'humidité est un facteur très important dans les caractéristiques physico-chimiques de la spiruline. Il est de 6,14% dans le cas de la spiruline. Cette valeur est très proche de celle trouvée par **Espirard (2002)** pour les produits secs (entre 4 à 6%). Par ailleurs, il faut noter que notre résultat est moins élevé que celui obtenu par **Lounici (2010)** qui se situent autour de 13,62 %.

Il faut savoir que plus le taux d'humidité est élevé, plus il y a prolifération microbienne et moins le produit est conservé.

En outre, ces résultats montrent que la spiruline est très riche en matière sèche avec un taux de 93,86%, ce qui correspond à la norme annoncée par **Jourdan (2006)** qui est supérieur à 90%.

Par contre, notre matière sèche dépasse celle trouvée par **Alvarenga et al. (2011)** avec 88,08%.

B) Le Potentiel d'hydrogène (pH)

La poudre de spiruline obtenue a un pH légèrement alcalin qui est de $8,03 \pm 0,1$. Cette valeur est conforme aux normes françaises recommandant une valeur entre 7 et 9.

C) Cendres et matières organiques

Les cendres représentent la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon, ils sont à $10,79 \pm 0,1$ %MS dans la poudre de spiruline analysée. C'est une teneur relativement élevée. La teneur en cendres trouvée est semblable à celle trouvée par **Dansou delali (2002)** avec 10,76 %MS et supérieur à celles rapportées par **Benahmed-Djilali (2011)** qui est de 9,41 %.

D) Protéines

La composition de *S.platensis* a révélé une teneur de 61,74% de protéines d'après **Benahmed-Djilali (2012)**. Le résultat obtenu pour notre analyse est très proche de cette valeur avec $61,25 \pm 0,17$ %.

D'autres auteurs ont obtenu des résultats semblables avec 60% et 61,30% (**DANESI et al.,2012 ; Branger et al.,2003**). Du point de vue quantité, la teneur en protéines de la spiruline oscille entre 60 et 70 % de son poids sec (**Fox, 1999**). Ce sont des valeurs exceptionnelles car les meilleures sources de protéines végétales n'arrivent qu'à la moitié de ces teneurs. La farine de soja par exemple ne contient que 35 % de protéines brutes **Benahmed-Djilali (2012)**.

La spiruline dépasse toutes les sources de protéines alimentaires connues, elle est classée dans la catégorie des concentrés protéiques.

La consommation d'une à deux dizaines de grammes par jour, représente environ un quart à un tiers des besoins quotidiens en protéines pour une personne de 60 kg, si l'on se base sur les apports quotidiens recommandés, soit 0,7 à 1 g par kg de poids corporel (**Briend, 1998**).

III.2.7. peroxyde d'hydrogène et sucre

A) Peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est un produit de désinfection utilisé dans la stérilisation de la chambre aseptique et l'emballage avant le conditionnement. Son efficacité dépend de sa concentration.

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur le peroxyde d'hydrogène sont résumés dans le tableau (XVIII)

Tableau (XVIII) : Résultats des analyses physico-chimiques du peroxyde d'hydrogène

Analyses Echantillons	Densité	Température (°C)	Concentration (%)
E1	1,110	61	37,5
E2	1,100	57	34
E3	1,091	60	32,5
E4	1,115	53	36,5
E5	1,124	42	37,5
Normes Tétra Pack	-	-	30-50

Nous constatons que les résultats des analyses physico-chimiques caractéristiques au peroxyde d'hydrogène et qui sont mentionnés dans le tableau (XVIII) sont conformes à la norme Tétra Pack.

B) Sucre

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur le sucre sont résumés dans le tableau (XIX).

Tableau (XIX) : Résultats des analyses physico-chimiques du sucre

Analyses échantillon	Aspect	Humidité %	Solubilité dans l'eau (20°C)
E1	Blanc cristallisé	0,15	Bon
E2	Blanc cristallisé	0,11	Bon
E3	Blanc cristallisé	0,13	Bon
E4	Blanc cristallisé	0,12	Bon
E5	Blanc cristallisé	0,15	Bon
Normes internes	-	0,1 à 0,2 %	-

Les résultats des analyses physico-chimiques effectués sur le sucre sont conformes à la norme établit par l'unité de Vita-jus, ce qui traduit la bonne qualité physico-chimique du sucre avec un bon aspect.

IV. Analyses sensorielle :

IV.1. Critère apparence

Tableau (XX) : Classement des formulations (Critère apparence)

Sujets/ Apparence	F1 (0,1g/l)	F2 (0,3 g/l)	F4 (0,5 g/l)	F3 (0,7g/l)
1	4	3	2	2
2	4	4	2	3
3	4	4	3	3
4	3	4	4	3
5	2	4	4	3
6	4	3	3	4
7	2	4	4	4
8	3	3	4	2
9	4	4	2	4
10	3	3	2	3
11	4	4	3	4
12	3	4	3	2
13	4	3	4	3
14	3	2	4	3
15	2	2	2	4
16	3	3	3	3
17	4	2	4	4
18	4	3	3	2
19	2	2	4	3
20	2	3	3	3

L'analyse des données a conduit tout d'abord à calculer les paramètres de position et de dispersion de la série disponible (Tableau XXI)

Tableau (XXI) : Moyenne et écart-type des formulations (Critère apparence)

Formulations	Moyenne	Ecart-type
F1	3,2	0,833
F2	3,2	0,767
F3	3,15	0,812
F4	3,1	0,700

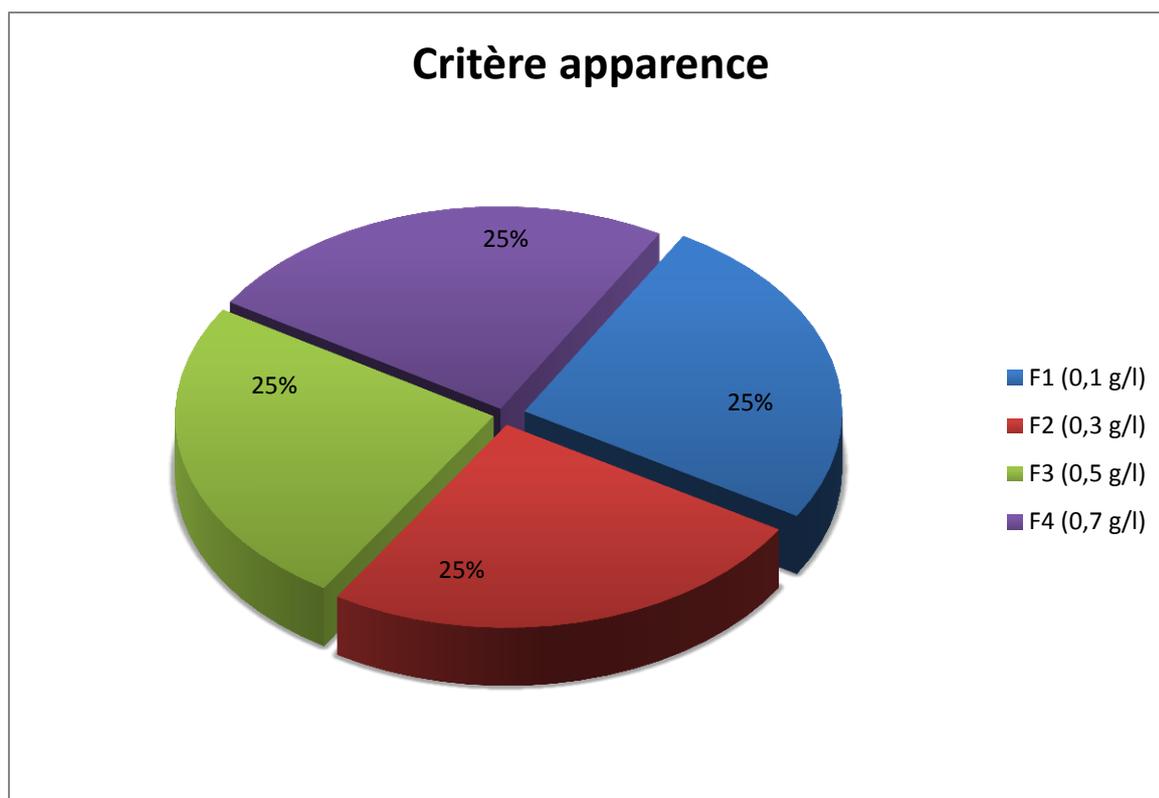


Figure N°12 : Classement des formulations selon le critère apparence.

IV.2. Critère odeur

Tableau (XXII) : Classement des formulations (Critère odeur)

Sujets/ Odeur	F1 (0,1g/l)	F2 (0,3 g/l)	F4 (0,5 g/l)	F3 (0,7g/l)
1	3	3	4	2
2	3	4	4	3
3	3	4	3	3
4	4	4	3	2
5	3	2	2	3
6	2	3	3	3
7	3	3	4	2
8	4	3	4	3
9	3	2	3	2
10	4	3	4	3
11	3	2	3	3
12	4	3	3	3
13	3	4	4	2
14	3	2	2	3
15	2	4	2	3
16	4	3	3	3
17	3	3	2	3
18	3	3	4	2
19	4	3	2	3
20	3	4	3	3

Le tableau (XXIII) représente la moyenne et l'écart-type pour les différentes formulations (Critère odeur)

Tableau (XXIII) : Moyenne et écart-type relatifs au critère odeur pour les différentes formulations.

Formulations	Moyenne	Ecart-type
F1	3,2	0,615
F2	3,1	0,718
F3	3,1	0,788
F4	2,7	0,470

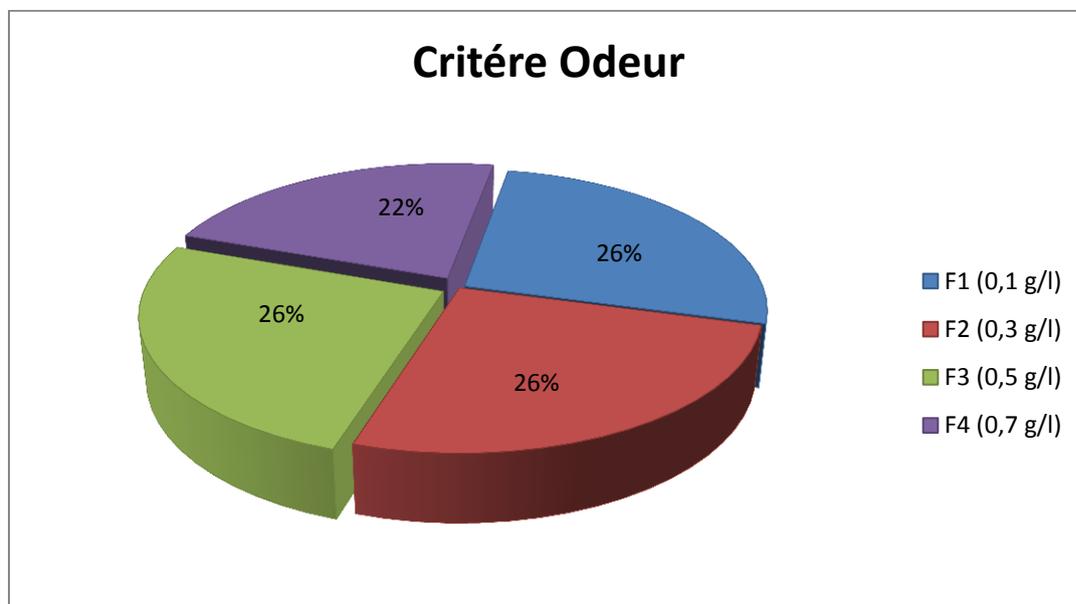


Figure N°13 : Classement des formulations selon le critère odeur

IV.3. Critère du goût

Le tableau (XXIV) illustre le classement des formulations (Critère goût).

Tableau (XXIV) : Classement des formulations (Critère goût).

Sujets/ Goût	F1 (0,1g/l)	F2 (0,3 g/l)	F4 (0,5 g/l)	F3 (0,7g/l)
1	3	3	4	2
2	3	4	4	3
3	3	4	3	3
4	4	4	3	2
5	3	2	2	3
6	2	3	3	4
7	3	3	4	2
8	4	3	4	2
9	3	2	3	2
10	4	3	4	3
11	3	2	3	4
12	4	3	3	3
13	3	4	4	4
14	3	2	2	3
15	2	4	2	4
16	4	3	3	3
17	3	3	2	3
18	3	3	4	2
19	4	3	2	3
20	3	4	3	3

Le tableau (XXV) présent la moyenne et l'écart-type pour les différentes formulations (Critère goût)

Tableau (XXV) : Moyenne et écart-type relatifs au critère goût pour les différentes formulations.

Formulations	Moyenne	Ecart-type
F1	3,2	0,615
F2	3,1	0,718
F3	3,1	0,788
F4	2,9	0,718

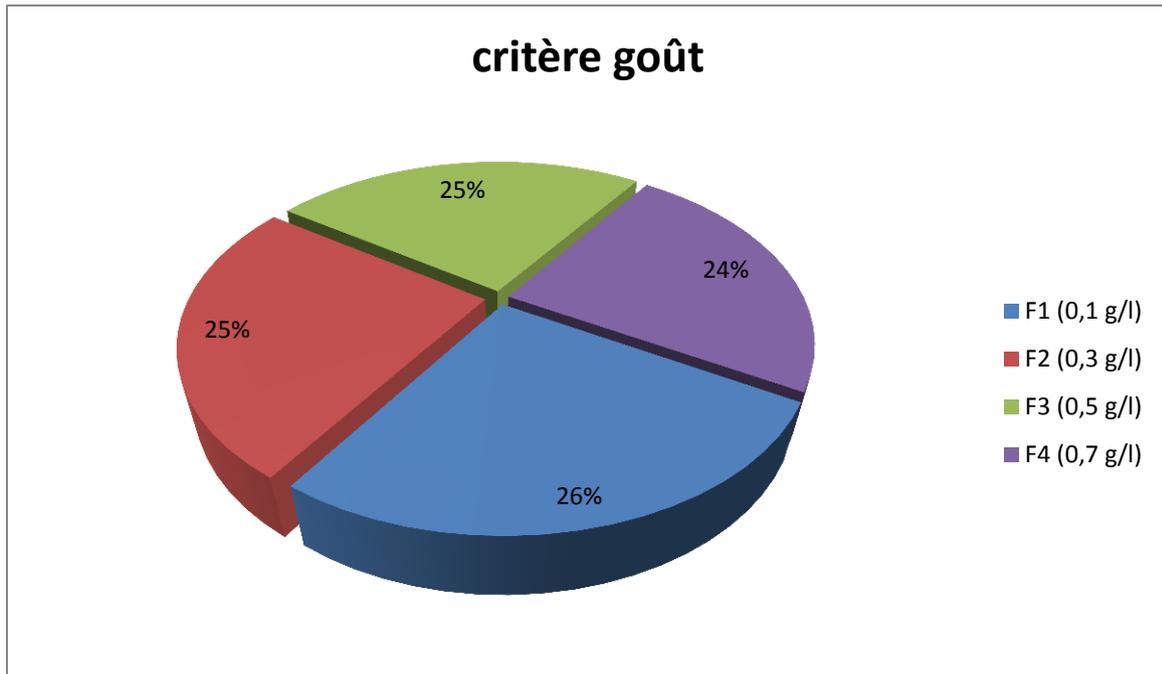


Figure N°14 : Classement des formulations selon le critère goût.

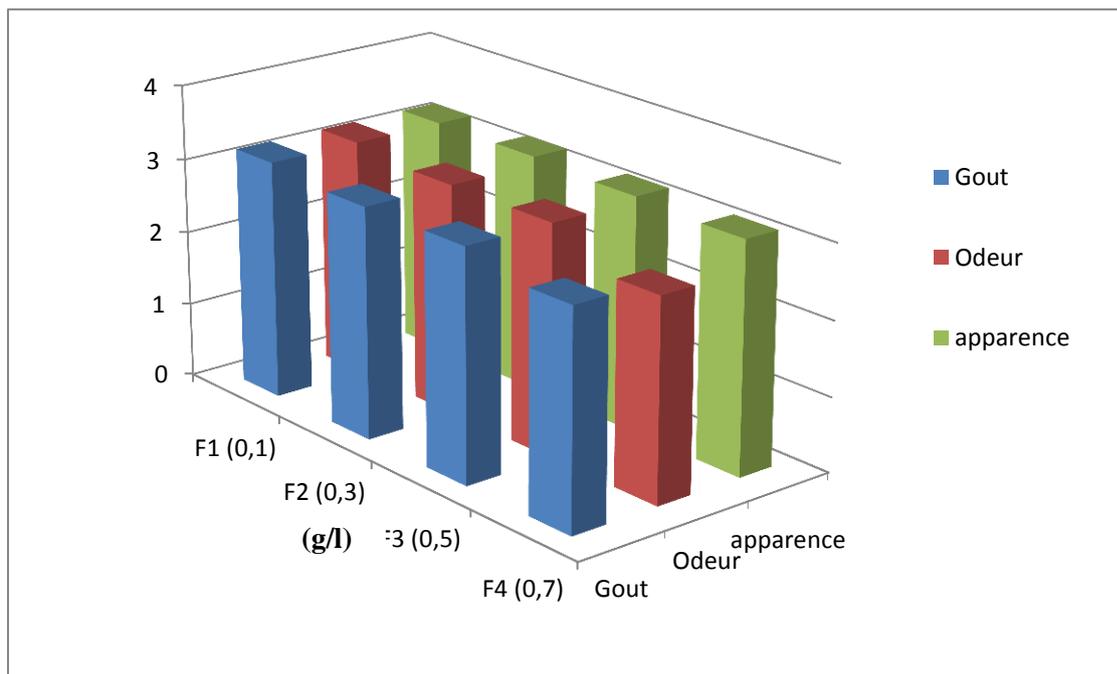


Figure (15) : classement des formulations selon les trois critères (apparence, odeur et goût).

V. Test de stabilité du jus F3

Les résultats du test de stabilité résumés dans les tableaux (XXVI) et (XXVII) sont interprétés selon les normes définies par l'arrêté du 24/01/98 paru dans le Journal Officiel de la République Algérienne n°35.

Tableau (XXVI) : Résultats de l'examen physicochimique la formulation F3

Contrôle de la stabilité	Jus enrichi à 22°C pendant 28 jours				Jus témoin			
Examen Physico-chimique	Aspect	° Brix	Acidité	pH	Aspect	°Brix	Acidité	pH
1^{er} Semaine	Pas de bombage	15	3,64	3,08	Pas de bombage	14,7	3,64	3,02
2^{eme} Semaine	Pas de bombage	15	3,78	3,08	Pas de bombage	14,7	3,64	3,02
3^{eme} Semaine	Pas de bombage	14,8	3,78	3,02	Pas de bombage	14,7	3,78	3,02
4^{eme} Semaine	Pas de bombage	14,8	3,78	3,02	Pas de bombage	14,5	3,78	3,02
Normes internes		°B (14,4 - 15,5)		Acidité (3,08 - 3,78)		pH (2,50-3,20)		

Les résultats de test de stabilité révèlent que les valeurs de l'acidité, Brix, pH du jus de raisin enrichi par la spiruline de la 1^{er} semaine, 2^{eme} semaine et 3^{eme} semaine sont conforme à la limite. On remarque que le jus enrichi est stable il n'y a aucun changement au niveau des critères physico-chimiques.

Pour les valeurs obtenues à partir de notre jus témoin (non enrichi) montrent qu'aucun changement n'est survenu au cours des deux premières semaines, donc un jus avec une bonne qualité physico-chimique.

4^{eme} semaine : nous observons la diminution de l'indice de réfractons à 14,8 mais ça reste toujours conforme aux normes, avec la stabilité des valeurs du pH et l'acidité.

Ces analyses sont accompagnées d'un test de dégustation, nous notons ainsi qu'il n'ya aucun changement au niveau de la qualité sensorielle (bon goût, bonne odeur avec une excellente couleur caractéristique au jus de raisin).

Les résultats des analyses physico-chimiques de la 4^{eme} semaine du jus témoin révèlent que

Les valeurs de Brix (14,5), pH (3.02) et l'acidité (3.78) sont inclus dans les normes. Ainsi que les résultats de la qualité organoleptique de la 4^{eme} semaine du jus témoin indiquent que la couleur, le goût et l'odeur n'ont subi aucun changement. Cela affirme la bonne qualité sensorielle de notre jus.

Tableau (XXVII) : Résultats de l'examen microbiologique de la formulation F3

Désignation	Echantillons témoins				Echantillons enrichi étuvés			
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄
Germes totaux à 30°C /ml	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Coliformes totaux à 37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Levures à 30°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Moisissures à 30°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

La formulation F3 est jugée stable. L'absence de la flore microbienne dans les échantillons étuvés n'est qu'une confirmation des résultats de l'examen physico-chimique, en particulier l'aspect physique (absence de bombage des bouteilles).

La variation du pH ne dépasse pas 0,5 unité. Ceci peut être attribué à la qualité des matières premières, l'efficacité du traitement thermique appliqué au jus de raisin et au jus final avant étuvage ainsi qu'aux bonnes conditions d'hygiène lors de la préparation et de l'analyse.

Les résultats représentés dans le tableau (XXVII), affirme que ce jus enrichi est de bonne qualité microbiologique. Nous démontrons par la fin que la spiruline n'a pas contaminée le jus.

VI. Analyses de la valeur nutritionnelle du jus enrichi :

La valeur nutritionnelle est la qualité d'un aliment en fonction des nutriments qu'il contient. Ce test a été réalisé sur un jus d'raisin fortifié par la spiruline (0.5g/l), pour étudier la valeur nutritionnelle de ce dernier.

Le bulletin suivant représente les résultats de la valeur nutritionnelle effectuée sur le jus de raisin enrichi et le jus témoin, obtenus à partir d'un laboratoire externe (LBQ).

Tableau (XXVIII) : La valeur nutritionnelle de jus d'raisin enrichi par la spiruline (0.5g/l) selon LBQ.

Déterminations	Unité	Jus témoin	Jus enrichi	Méthodes
Teneur de sucre (glucides)	%	12.00	14.00	Bertrand
Teneur en lipides	%	0.01	0.02	Extraction par l'éther de pétrole
Teneur en protéines	%	0,12	0.43	Kjeldalh
Valeur énergétique	KCAL /100ml	48,57	57.90	Calcul

Les résultats de la valeur nutritionnelle de jus de raisin enrichi révèlent que la teneur en protéines a augmenté par rapport au produit fini (jus d'raisin ordinaire).

Concernant les résultats de la valeur énergétique effectuée sur le jus de raisin enrichi démontrent l'augmentation de la valeur par rapport à la valeur énergétique de jus non enrichi (produit fini).

D'après ces résultats nous pouvons bien noter par la fin que la spiruline à influencer sur la valeur nutritionnelle avec l'augmentation de la teneur en protéines et donc l'augmentation de la valeur énergétique.

Conclusion

Conclusion

L'objectif général de ce travail est de faire une étude comparative entre deux boissons l'une d'entre elles est enrichie par une micro algue marine *spirulina platensis*, afin de tirer profit de ses divers vertus nutritionnelles et thérapeutiques.

A la lumière du résultat obtenu de notre étude Il y a lieu de souligner les principales conclusions suivantes :

Les analyses microbiologiques effectuées sur l'eau de process, concentrée présente une bonne qualité marquée par une absence totale des germes recherchés.

Le jus de raisin enrichi par la spiruline est également stérile de tout germe ce qui explique l'efficacité de notre pasteurisation et conditions stériles et aseptiques (matériels et manipulateurs).

Après avoir obtenu ces résultats, nous avons procédé à un test de dégustation qui nous a permis de conclure que le jus de raisin enrichi de spiruline 0.5g/l est le plus apprécié par rapport aux autres jus dont les différentes concentrations sont (0.1g/l - 0.3g/l – 0.7g/l) qui sont moins appréciables.

Nos résultats d'analyse de la valeur nutritionnelle de jus enrichi ont confirmé une augmentation non négligeable en protéines (31%) et en glucides (2%), par rapport au produit non enrichi, nous remarquons aussi que la valeur énergétique a considérablement augmentée par rapport au produit fini non enrichi, cela nous permet de juger que notre jus de raisin est hyper protéiné.

Le test de stabilité réalisé consiste à étudier l'évolution du jus de raisin enrichi au cours du temps pour estimer une date limite d'utilisation optimale, nous avons remarqué que ce jus de raisin ne se fermente pas au cours des 4 semaines à une température ambiante de 22°C.

Au terme de notre expérience, nos résultats nous ont amenés à opter à un jus de raisin stable et hyper protéiné avec une bonne qualité bactériologique, physico-chimique, organoleptique.

Il serait donc souhaitable de poursuivre les recherches dans ce domaine et réaliser ce qui doit:

- Augmentation des doses de la spiruline dans le jus et L'industrialisation de ce dernier tout en validant sa qualité nutritionnelle.
- Faire une étude économique sur le coût de ce produit.
- D'étudier l'effet de la pasteurisation sur les boissons enrichis en spirulines

*Références
Bibliographiques*

- Anonyme,(2009)** : (union nationale interprofessionnelle des jus de fruit) UNIjus, 23,BD, des capucines 75002 paris, e-mail :unpif@wandoo.fr .
- Baronet al** : alain baron, jean-michel le queré et jean-françois drilleau, multon 3^{ème} édition, 2002 .
- Barros, L., Ferreira, MJ., Queiros, B., Ferreira, ICFR., Baptista, P., (2007)**. Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. Journal food chem, vol 103,pp 413-419.
- Benamara Salem ali., Agougou, (2003)** : production des jus alimentaire. Technologique des industries agro-alimentaires.
- Belay, A., (2002)**. The potentiel application of *Spirulina (Arthrospira)* as a nutritional and thearapeutic supplement in health management (review). *Journal. Am . Nutraceutical*
- Berguey, s., (1994)**. Manualof Determinative Bacteriology. Ed Ninth, pp 1711-1807.
- Branger, b., Cadudal, J.I.,Delobel. M., Ouoba. H., Yameogo, P., Ouedraogo, D., Guerin, D., Valea, A., les personnels des CREN, Zombre, C., Ancel, P., (2003)**. La spiruline comme complément alimentaire dans la malnutrition du nourrisson au Burkina-Faso. Archives de pédiatrie, vol 10, pp 424-431.
- Charpy, L., langlade, M.J., Alliod, R., (2008)**. La spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? Vol 6, N°17, pp 31-41.
- Chisti, Y., (2007)**. biodiesel from microalgae. Biotechnology advances. Vol 25,pp 294-306.
- Codes Alimentarius., 1992:** Jus de fruit et produits derives, 2^{ème} edition, volume 6, p 23, 49.
- Coulon, L., (2004)**. Effet d'un hydroperoxyde lipidique et des LDL oxydées sur les enzymes impliquées dans la libération de l'acide arachidonique des phospholipides plaquettaires. Thèse de doctorat. Institut. National des science appliquées (lyon), pp 59-70.
- Ciferri, O., and Tiboni, O. ? (1985)**. The biochemistry and industrial potential of spirulina. Annu.Rev .microbiol. vol39, pp 503-526.
- Datta, AG., Bandyopadhyay, D., Chattopadhyay, A ., and Ghosh, G., (2004)**. Oxidative stress induced ischemic heart disease : protection by antioxidantrs. Gurr med chem, vol 11, N°3,pp369-387.
- Derache R.,1976:** Physiologie et biochimie de la nutrition, Doin Editeurs, paris, p 27.
- Décret n° 2006/352 du 20 mars 2006**, publié au journal officiel du 25mars 2006, in charpy, L., langlade, Mj., alliod, R., (2008). La spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le Développement en Afrique ? vol6,N°17, pp31-41.
- Espiard E., 2002** : Introduction à la transformation industrielle des fruits, édition TEC & DOC, paris, p 31-309.

- Falquet, J., et Hurni.,(2006).**spiruline : aspects nutritionnels. Antenna technologies.
- Fedkovic, Y. y Astre, C., Pinguet, F., Gerber, M., Ychou, Pujol, H., (1993).** Spirulina and cancer. bull. inst. Oceano., monaco NS 12. pp 117-120.
- Fox, RD., (1999).** La spiruline : technique, pratique et promesse. EDISUD, aix en provence. N°246.
- Fredot E., 2005 :** Connaissance des aliments : Base alimentaire et nutritionnelles de la diététique, édition TEC et DOC, paris, p337, 354.
- Girardin-andréani, C., (2005).** spiruline : système sanguine, système immunitaire et cancer. Phytother. Vol 4, pp 158-166.
- Habib M.A.B., Parvin M., Huntington T.C., Hsen M.R (2008).** A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. Fao fisheries and aquaculture circular. N°1034.rome, pp 33.
- Halland., (2006).** Energie-green-algae for carbon capture and biodiesel isis.
- Jacques V., Sophie C-H et Roger W., 1993 :** Le raisin de table, les éditions de centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, paris, p 12, 21 ,204.
- Jacotot B et Le parco J-C., 2000 :** Nutrition et alimentation.,2^{ème} édition, Paris, p157.
- Jaouen, P., Lépine, B., Rossignol, N., (1999).** Clarification and concentration with membrane technology of phycocyanin solution extracted from spirulina platensis. Biotechnology technique Vol 13, pp877-881.
- James, R., Sampath, K., Thangarathinam, R., Vasudevan, I., (2006).** Effect of dietary spirulina level on growth, fertility, coloration and leucocyte count in red swordtail, xiphophorus helleri. Israeli journal of aquaculture bamidegeh. Vol 58, pp502-503.
- Langlade, M.J., Alliod, R., Charpy, L., (2008).** Utilisations de la spiruline autrement que pour traiter la malnutrition. Urcyroco, ird, com. Paris.
- Luquet F.M et Corrieu G (2005).** « Bactéries lactiques et probiotiques ». Paris : Ed. Tec & Doc, 307p.
- Manoj G., Venkataraman L.V ., Srinivas, L., (1992).** Antioxydant proprieties of spirulina (spirulina platensis). Seshadri and bai spirulina MCRC. Pp 48-154.
- Materassi, R., Tredici, M., Ballon, W., (1984).** Spirulina culture in sea water. App. Microbiol. Biotechnol. Vol 19,pp384, 386.
- Norme NF ISO 4831** relative au dénombrement des coliformes –technique du nombre le plus probable
- Norme NF V 08 – 057 – 1** relative au dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37°C – 1: technique avec confirmation des colonies.

- Norme XP V 08 – 061** relative au dénombrement en anaérobiose des bactéries Sulfito-réductrices par comptage des colonies à 46°C. Méthode de routine.
- Norme XP V 08 – 059** relative au dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies à 25 °C.
- Norme NF EN ISO 6887-1** relative à la suspension mère et dilutions décimales;1. règle générale.
- Norme NF 08 – 051** relative au dénombrement des micro-organismes – méthode par comptage des colonies obtenues à 30°C.
- Reddy, C.M., bhat V.B., Kiranmai, G., Reddy, M.N., Reddanna, P., Madyastha, K.M., (2000).** Selective inhibition of cyclooxygenase-2 by c-phycoyanin, a biliprotein from spirulina platensis, biochem. Biophys. Res. Commu. Vol 3, pp599-603.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, j.B., Herdman, M., and Stanier, R.Y., (1979).** Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. Journal . GEN. Microbiol. VOL 11, pp 1-66.
- Richmond, A., et Grobbelaar, J.U., (1986).** Factors affecting the output rate of spirulina platensis with reference to mass cultivation. Biomass vol 10, pp 253-264.
- Rullier B., 1995:** L'hygiène alimentaire, édition Nathan, Paris, p25.
- Shizhong, L., Xueming, L., Feng, C., et Zijian, C.,(2004).** Curent microalgal health food R&D activities in china. Hydrobiologia. Vol 512, pp 45-48.
- Spolaore, P., Joannis-cassan, C., Duran, E., Isambert, A., (2006).** Commercial applications of microalgae. Journal .bioscience. bioengineering. VOL, pp 87-77.
- Santillan C., (1974).** Cultivation of the spirulina of human consumption and for animal feed international congress of food science and technologie. Madrid (spain) september.
- Trémolieres J., Serville Y., Jacqout R et Dupin H., 1980 :** Manuel d'alimentation humaine, Les aliments tome 2, éditions E.S.F, p 360, 382, 401.
- Tredecini, MR., Papuzzo, T., Tomaselli, L., (1986).** Outdoor mass culture of spirulina maxima in sea-water. Appl microbiol. Biotech. Vol 24, pp 47-50.
- Vonshak, A., (1997).** Spirulina platensis (arthrospira): physiology cell biology and biotechnology. Taylor & francis ltd. Hants-landon.
- Wihitton , B.A., et Potts, M., (2000).** Introduction to the cyanobacteria, 1-11, in the ecology of cyanobacteria : their diversity in time and space. Ed boston,kluwer academic publishers.

Annexes

Annexe I

Verrerie et appareillages :

- Pipettes pasteur.
- Tubes à essais stériles.
- Pipettes graduées 1ml, 10ml.
- Flacons stériles.
- Eprouvette graduée.
- Boite de pétri.
- Becher 100ml, 1000ml.
- Burette.
- Erlen Meyer 250ml.
- Etuves à 22°C, 37°C, 44°C.
- Balance de précision.
- Bec bunsen.
- Bain Marie.
- Réfractomètre.
- Densimètre.
- pH-mètre.
- Thermomètre.
- Ciseaux.
- Spatule.

.

Annexe II

Milieux de culture :

- Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromo Crésol (BCPL) simple concentration et double concentration.
- Bouillon Tryptone Sel Eau (TSE).
- Gélose Sabouraud au Ch
- Gélose Tryptone Glucose à extrait de levure (TGEA).
- Gélose viande foie(VF).
- Milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL).
- Milieux de Rothe simple concentration et double concentration.
- Milieux de Schubert.
- Milieux Eva Litsky.

Annexe III

Réactifs :

- Alun de fer.
- Sulfite de sodium.
- Phénophtaléine.
- Hydroxyde de sodium (NAOH)
- Noire d'ériochrome.
- Chromate de potassium
- Nitrate d'argent
- Solution tampon ammoniacal
- Ethyle diamine tétra acétique (E.D.T.A).

Annexe IV

TABLE DE MAC – GRADY ou Table NPP : “155”

1 X 50 ml	5 X 10 ml	5 X 1 ml	Nombre caractéristique	Limites de confiance	
				Inférieure	Supérieure
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0,5	4
0	0	2	2	<0,5	6
0	1	0	1	<0,5	4
0	1	1	2	<0,5	6
0	1	2	3	<0,5	8
0	2	0	2	<0,5	6
0	2	1	3	<0,5	8
0	2	2	4	<0,5	11
0	3	0	3	<0,5	8
0	3	1	5	<0,5	13
0	4	0	5	<0,5	13
1	0	0	1	<0,5	4
1	0	1	3	<0,5	8
1	0	2	4	<0,5	11
1	0	3	6	<0,5	15
1	1	0	3	<0,5	8
1	1	1	5	<0,5	13
1	1	2	7	1	17
1	1	3	9	2	21
1	2	0	5	<0,5	13
1	2	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	4	0	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	59
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	100
1	4	5	43	15	120
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	100
1	5	2	54	18	140
1	5	3	92	27	220
1	5	4	160	39	450
1	5	5	>240		

Annexe V

-Normes Physico-chimiques

-Normes de vitajus :

1 / Critères physico-chimiques de l'eau de process

Paramètres	Norme
Titre hydrométrique (°F)	<10
Chlorure (mg/l)	30
pH	7-8,5

- Critères physico-chimiques

2 / Critère Physico-chimiques du produit fini (jus de raisin) :

PARAMETRES	CARACTERISTIQUES
-Acidité	3.35 g/l \pm 5% ACM
-Degré Brix	15,2 \pm 2 %
-Densité d20/20	1,061 \pm 0,003
-pH (25°C)	2,50 à 3,20

- Critère physico-chimique du Concentré de raisin

Analyses	Limite Critiques
Acidité	14.5 -15.5
Brix	65-68.3

- Critères microbiologique

1 / Critères microbiologique des eaux

Eau de process	n	c	m
Germes aérobies à 37°C/ml	1	-	<20
Germes aérobies à 22°C/ml	1	-	<102
Coliformes totaux 37°C/100ml	1	-	<10
Coliformes fécaux 44°C/100ml	1	-	Absence
Anaéobies Sulfito-réducteurs 37°C/20ml	1	-	Absence
Streptocoques fécaux à 37°C/100ml	1	-	Absence

3 /Critères microbiologiques du produit fini (jus de raisin) :

PARAMETRES	CARACTERISTIQUES
- Germes Aérobie Mésophile Totaux	Absence dans 1 ml
- Anaérobies Sulfito-Réducteur	Absence dans 10 ml
-levure	< 20
- moisissures	10 / 100ml
- Teste de stabilité	Négatif

Annexe VI

1 / Informations Nutritionnelles :

(Valeur nutritionnelle moyenne pour 100ml de produit fini)

Valeur énergétique	262 Kj (62 Kcal)
Protéines	< 0,2 g
Glucides	< 15,0g
Lipides	< 0,1 g
Teneur en jus de fruits	50 %

Selon la fiche technique de jus de raisin (**Vitajus**)

2/ Valeur nutritionnelle de la spiruline :

Valeur nutritionnelle	Pour 3 g de spiruline	Pour 100 g de spiruline
Energie	11.4 Kcal	380 Kcal
Protéines	1.99 g	66.33 g
Glucides	0.483 g	16.1 g
Fibres	0.194 g	6.47 g
Acides gras totaux	0.172 g	5.73 g
Acides gras saturés	0.0741	2.47 g

Selon (La fiche technique de Marcus Rohrer spirulina®)

Annexe VII

Fiche de dégustation de jus de fruits

	insuffisant	Moyen	Bon	Très bon
Apparence				
Odeur				
Couleur				
Impression générale				

Annexe VIII



VITA SPIRULINE ®
Spiruline en poudre

Annexe IX

LBO

LABO-BIO-QUAL

المخبر المتخصص في تحاليل الجودة و النوعية

Laboratoire d'analyse de la qualité et de la conformité

Autorisé par décision du Mr Le Ministre du Commerce N° 055 DU 12/09/2011

Cité 490 Igs bloc A10 n° 01 Bougara-BLIDA /Té/Fax : 025 252 357 / Mob : 0661 719 938 & 0696 507 067

E-mail : labobloqual@yahoo.fr

BULLETIN D'ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE

JUS DE RAISIN ENRICHIS

0.5 G/L DE SPORELINE

ETUDIANTE : Mlle AKTOUF SOURAYA

UNIVERSITÉ DE BLIDA

PRODUCTION LE : -----** DLC :-----** LOT : -----

P.V N° 360PC/14 DU 03/09/2014



1. RÉSULTATS :

DETERMINATIONS	UNITE	RESULTATS	METHODES
-TENEUR DE SUCRES (GLUCIDES)	%	14.00	BERTRAND
-TENEUR EN LIPIDES	%	0.02	EXTRACTION PAR L'ETHER DE PÉTROLE
-TENEUR EN PROTEINES	%	0.43	KJELDALH
-VALEUR ENERGETIQUE	KCAL/100 ML	57.90	CALCUL

2. CONCLUSION:

L'ANALYSE A MIS EN EVIDENCE UN JUS DE 57.90 KCAL/100ML DE VALEUR ENERGETIQUE.

----- Bulletin établi -----

A BOUGARA Le : 07/09/2014

المخبر المتخصص في تحاليل
الجودة والنوعية
هذا وثيقة
المختصة

NB : Les résultats d'analyses ne concernent que les échantillons reçus au laboratoire

LABORATOIRE DE CONTROLE QUALITE

Laboratoire autorisé par décision du ministre du commerce N° 346 du 12/03/2000 actualisé après changement d'adresse N°164 du 23/06/2010.

Cité 160 logts.LSP Benyamina Local N° 13 Koléa W. Tipaza. 42400

Tél / Fax: (024).48.51.82

Tél. portable : 0771.16.38.76

Email : labolcq@hotmail.fr

RC : 2617422 A99 - M.F : 296542350014826 - A.P.F : 42350094131

LCQ



LCQ

Laboratoire Contrôle Qualité

BULLETIN D'ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE

Nom ou Raison Sociale: ETUDIANT

Adresse: UNIVERSITE DE BLIDA

Dénomination du Produit : NECTAR RAISIN

Date de réception : 01/09/2014

Date d'analyse: 02/09/2014

Date de fabrication: /

Date de péremption: 11/12/2014

Lot : /

Référence:07

VALEUR NUTRITIONNELLE POUR 100 ML DE BOISSON

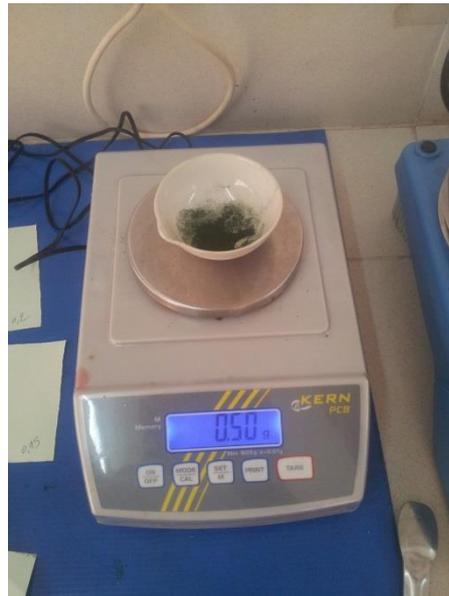
Glucides	12 g
Protéines	0.12 g
Lipides	0.01 g
Valeur énergétique	48.57 kcal

Koléa le : 14/09/2014

Chef du laboratoire
LABO CONTRÔLE
QUALITÉ
Cité 160 Lots LSP Benyamina
Koléa (w) Tipaza

Annexe X

Préparation des échantillons



Peser Les différentes doses de spiruline



Mélanger 500ml de jus de raisin avec les dose de spiruline choisie dans un bêcheur et bien agiter pendant 5mins avec un agitateur.



Renverser ce mélange dans les 500ml du jus de raisin restant, et le mélanger encore une fois pendant quelques minutes à l'aide d'un agitateur.