

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1

Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master 2 en :

Microbiologie et Toxicologie Alimentaire

Thème

Etude de l'effet de la durée et de la température de conservation sur la stabilité de la vitamine C et son activité antioxydante dans une boisson gazeuse à base d'orange

Soutenu par :

MOUSSA Omar

BELHADJ RABAH Oussama

Devant le Jury :

Mme HAMZI. W

MAA

U.S.D. Blida

Présidente

Mme BENBAIBECHE.H

MCB

U.S.D. Blida

Examinatrice

Mme BELMESKINE. H

MCB

U.S.D. Blida

Promotrice

Promotion : 2015/2016

Remerciements

En premier lieu on tient à remercier le bon Dieu pour avoir guidé nos pas et nous avoir donné le courage et la patience pour accomplir ce travail.

La préparation d'un tel mémoire a demandé la contribution et le soutien de nombreuses personnes.

Nous remercierons particulièrement notre promotrice Madame BELMESKINE Hayet (maître de conférences au département BPC de l'USDB) d'avoir accepté de nous encadrer ainsi pour ses conseils, son suivi et son aide.

On tient à remercier la présidente du jury Mme HAMZI (maître assistante au département BPC de l'USDB) d'avoir accepté de présider le jury et d'évaluer notre travail.

On est très honoré par la présence de Mme BENBAIBECHE (maître de conférences au département BPC de l'USDB) qui a accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à toute l'équipe du laboratoire de l'unité Orange Chréa et l'équipe de l'unité Saidal-Medea pour leur aide, soutien, la disponibilité et la mise à notre disposition de tout le matériel nécessaire pour mener à bien ce travail.

OUSSAMA BELHADJ RABAH,

OMAR MOUSSA.

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes chère parents, qui ont toujours été présents pour me chérir, me soutenir tant moralement que matériellement pour que je puisse atteindre mon but.

A mes chères sœurs Maroua, Isra et Nour-el-houda et mon frère Ayoub que dieu vous protège et consolide les lieux sacré qui nous unissent.

A ma chère grand- mère Fatiha et ma tante Thoria qui grâce à eux j'ai appris à apprécier tous ce qui est beau dans la vie.

A mes ami(e)s les plus chères : Rabah, Abdessamad, Rachid, Bachir, Lounes, Abdenour, Yacine, Tina et Maria, qui ont été toujours à mes cotés pour le meilleur et pour le pire et avec qui j'ai passé des moments inoubliables.

Pour mes collègues de la filière de MTA promotion 2016.

OUSSAMA BELHADJ RABAH

Que ce travail témoigne de mes respects :

A mes parents; Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

Ames sœurs

A la famille MOUSSA et TIDJINI :

Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.

*A tous mes professeurs et surtout à ma promotrice Dr.
BELMESKINE Hayet :*

Leur générosité et leur soutien m'oblige de leurs témoigner mon profond respect et ma profonde considération.

*A tous mes amis et mes collègues : Taha Benouda , Abd el alim Alili,
Mouloud Berkani, Fayçal Baghdadi, Farid Hamia, Mohamed Abbas,
Chafik, Ouarda Amrio, Ichrak Benkadour et Zoubida Amari...*

Ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.

MOUSSA Omar

Résumé

Cette étude a pour but de suivre de la stabilité physicochimique, microbiologique et organoleptique d'une boisson gazeuse commerciale à base de concentré d'orange « Chréa pulpe » pendant une période de stockage de 3 mois à 3 températures différentes soient 4°C, 25°C et 37°C. L'effet du temps et de la température sur la teneur en vitamine C et sur son activité antioxydante a été également évalué.

Les résultats des paramètres physicochimiques (pH, acidité, °Brix, titre alcalimétrique, titre alcalimétrique complet, chlorures) des matières premières et ceux du produit fini, se sont révélés conformes à la norme du JORA 1998. De plus, les résultats des analyses microbiologiques indiquent une absence totale des germes pathogènes (*Clostridium sulfite-réducteur*), des germes de contaminations fécales et des germes responsables d'altération.

Par ailleurs, les résultats obtenus indiquent que la vitamine C a été la plus influencée par le temps et la température de stockage. En effet, il a été enregistré des diminutions de 59%, 74% et 88% pour les températures de 4, 25 et 37 °C, respectivement. Ainsi, la diminution de la teneur en vitamine C a reflété la diminution en DPPH réduit, qui a diminué de 75%, 87% et 92% pour les mêmes températures, respectivement.

Mots clés : boisson gazeuse, contrôle de qualité, vitamine C, activité antioxydante,.

Abstract

The purpose of this study is to observe the microbiological, physicochemical and organoleptic stability of commercial carbonated beverage "Chr apulp." during a 3-month storage period at 3 different temperatures "4 C, 25 C and 37 C." The effect of time and temperature on the content of vitamin C and its antioxidant activity was also discussed.

The results of physicochemical parameters (pH, acidity, Brix, alkalinity, complete alkalinity, chloride) of raw materials and those of finished product during a 90-day storage period were found to be compliant with JORA 1998 and internal company standards "orange Chr a". The results of microbiological analyzes indicate a total absence of pathogenic bacteria (Clostridium sulfite reducer) germs of fecal contamination and germs responsible alteration.

The results indicate that vitamin C was most influenced by time and the storage temperature. In fact, decreases of 59%, 74% and 88% were noted for the temperatures of 4, 25 and 37 C, respectively. The decrease in vitamin C content reflected the decrease in reduced DPPH about 75%, 87% and 92% for the same temperatures, respectively.

Keywords: carbonated drink, vitamin C, antioxidant activity, physico-chemical analysis, microbiological analysis, organoleptic,.

ملخص

تم انجاز هذا العمل على مستوى مخبر مراقبة النوعية و التحاليل التابع لمجمع شريعة للمشروبات الغازية و في مخبر التحاليل الفيزيوكيميائية لمجمع صيدال الذي يوجد بولاية المدية لفترة ثلاثة أشهر. الغرض من هذا العمل هو متابعة استقرار المعايير الميكروبيولوجية الفيزيوكيميائية و الحسبة للمشرب الغازي الذي يحتوي على خلاصة عصير البرتقال خلال فترة تخزين المقدرة بثلاثة أشهر في ثلاثة درجات حرارية مختلفة (4 25 37) درجة مئوية. و سمح لنا هذا العمل بتقييم تأثير درجة الحرارة و الزمن على الفيتامين ج و كذا النشاط المضاد للأكسدة في نفس المشروب في نفس المدة الزمنية.

نتائج المؤشرات الفيزيوكيميائية (الحموضة، بركس، القلوية، القلوية كاملة، كلوريد) للماء المستعمل و المنتج النهائي وجدت متوافقة مع معايير الجودة للشركة .

جاءت نتائج التحاليل الميكروبيولوجية مطابقة لمعايير الجودة و أشارت إلى الغياب الكلي للبكتيريا المسببة للإمراض والجراثيم الناتجة عن التلوث البرازي و كذلك الجراثيم الدالة على التلوث.

و تشير النتائج أن الفيتامين ج يتأثر بشكل خاص بدرجة الحرارة و الزمن بنسب 59% 74% و 88% في درجات 4 و 25 و 37 و منه يتأثر بدوره النشاط المضاد للأكسدة و الدليل على ذلك هو تناقص إرجاع DPPH

. **كلمات البحث:** المشروبات الغازية، وفيتامين ج، والنشاط المضادة للأكسدة، وتحليل الفيزيائية والكيميائية وتحليل الميكروبيولوجي، الحسبة

Table des matières

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

Chapitre I : La vitamine C

I.1. Généralités.....	04
I.2. Structure chimique de la vitamine C.....	04
I.3. Métabolisme et physiologie.....	05
I.4. facteur favorisant la carence en vitamine C	06
I.4.1 Diminution des apports.....	06
I.4.2. Diminution de l'absorption.....	06
I.4.3. Augmentation des besoins.....	06
I.5. Le déficit en vitamine C « l'hypovitaminose » (Déplétions symptomatiques).....	06
I.5.1. Le scorbut.....	06
I.5.1.2. Manifestations cliniques.....	07
I.5.2. Déplétions asymptomatiques en vitamine C.....	07
I.6. Correction de la carence en vitamine C.....	07

Chapitre II : Notions de stress oxydatif et de l'activité antioxydante

II.1. Radicaux libres.....	09
II.1.1. Définition.....	09
II.1.2. Nature des radicaux libre.....	09
II.1.3. Rôles biologiques des radicaux libres.....	09
II.2. Stress oxydatif.....	10
II.2.1. Définition.....	10
II.2.2. Les conséquences du stress oxydant.....	10
II.3. Antioxydant et activité antioxydante.....	11
II.3.1. Définition des antioxydants.....	11
II.3.2. Mécanismes d'action des antioxydants.....	12
II.3.3. Classification des antioxydants suivant la nature chimique.....	12

II.3.3.1. Les antioxydants enzymatiques.....	12
II.3.3.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	13
II.4. Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire.....	13
II.5. Les antioxydants en agro-alimentaire.....	15
II.5.1. Additifs alimentaires.....	15

Chapitre III : Boissons gazeuses

III.1. Définition.....	18
III.2. Types de boissons gazeuses.....	18
III.3. Composition des boissons gazeuses.....	19
III.3.1. Eau.....	19
III.3.2. Sucre.....	21
III.3.3. Gaz carbonique (CO ₂).....	21
III.3.4. Additifs alimentaires.....	21
III.4. Altération des boissons gazeuses.....	22
III.4.1. Différents types d'altération des boissons gazeuses.....	22
III.5. Critères de qualité des boissons gazeuses.....	23
III.5.1. Critères microbiologiques.....	23
III.6. Critères physico chimiques.....	24

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1. Matériel.....	26
IV.1.1. Matériel biologique.....	26
IV.1.2. Matériel non biologique.....	26
IV.2. Méthodes d'étude.....	26
IV.2.1. Echantillonnage.....	26
IV.2.2. Analyses microbiologiques.....	27
IV.2.2.1. Préparation des dilutions décimales.....	27
IV.2.2.2. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale dans l'eau de process.....	28

IV.2.2.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux et <i>Escherichia coli</i>	29
IV.2.2.4. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	31
IV.2.2.5. Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs dans l'eau et le produit fini.....	33
IV.2.2.6. Recherche et dénombrement des levures et moisissure dans le produit fini.....	34
IV.2.3. Méthodes d'analyses physico-chimiques.....	34
IV.2.3.1. Eau de Procès.....	34
IV.2.3.1.1. Détermination du pH.....	34
IV.2.3.1.2. Détermination du titre alcalimétrique (TA).....	35
IV.2.3.1.3. Détermination du titre alcalimétrique complet(TAC).....	35
IV.2.3.1.4. Dosage de chlorures.....	36
IV.2.3.2. Analyses physicochimique du produit fini.....	37
IV.2.3.2.1. Détermination de pH (ISO, 1842-1991).....	37
IV.2.3.2.2. DéterminationdudegréBrix.....	37
IV.2.3.2.3. Détermination de l'acidité.....	37
IV.2.3.2.4. Dosage de la vitamine C (AFNOR, 1986).....	38
IV.2.3.2.5. Détermination de l'activité antioxydante.....	38
IV.2.4. Analyses sensorielle.....	39

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1. Résultats des analyses microbiologiques.....	42
V.1.1. Résultats des analyses microbiologiques des matières premières.....	42
V.1.1.1. Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process.....	42
V.1.1.2. Résultats des analyses microbiologiques de sucre.....	43
V.1.2. Résultats des analyses microbiologiques du produit fini.....	43
V.2. Résultats des analyses physico-chimiques.....	47
V.2.1. Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau.....	47
V.2.3. Résultats des analyses physico-chimiques du produit fini.....	47
V.2.3.1. pH.....	47

V.2.3.2. Brix :Le principe est de mesurer en degré Brix.....	48
V.2.3.3. Acidité.....	49
V.2.3.4. Vitamine C.....	50
V.2.3.5. Détermination de l'activité antioxydante.....	52
V.3. Résultats des analyses organoleptiques.....	53
V.3.1. Odeur.....	53
V.3.2. Goût.....	53
V.3.3. Couleur.....	54
Conclusion.....	55
Annexe.....	56
Références bibliographiques.....	73

Liste des tableaux

Tableau 1: Les principaux caractéristiques de quelques tests d'évaluation de l'activité antioxydant.....	14
Tableau 2: Classification des additifs alimentaires	16
Tableau 3: Les critères chimiques d'une eau potable	19
Tableau 4 : Les critères physico-chimiques des eaux des boissons gazeuses.....	20
Tableau 5: Norme de qualité bactériologique d'une eau de boisson gazeuse sucrée	20
Tableau 6: Les principaux additifs anti-oxygènes utilisés dans les boissons gazeuses sucrées.....	22
Tableau 7: Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de procès.....	42
Tableau 8 : Résultats des analyses microbiologique de sucre.....	43
Tableau 9: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis au jour de production.....	43
Tableau 10: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 15 jours de stockage.....	44
Tableau 11: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 30 jours de stockage.....	44
Tableau 12: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 45 jours de stockage.....	44
Tableau 13: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 60 jours de stockage.....	45
Tableau 14: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 75 jours de stockage.....	45
Tableau 15: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 90 jours de stockage.....	45
Tableau 16: Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau.....	47
Tableau 17 : Changement du pH de la boisson pendant 3 mois de stockage à 4°C, 25°C et 37°C.....	48
Tableau 18: Résultats des analyses organoleptiques (Odeur).....	54
Tableau 19 : Résultats des analyses organoleptiques (Goût).....	54
Tableau 20: Résultats des analyses organoleptiques (Couleur).....	55

Tableaux d'Annexe

Tableau 1: les principaux additifs conservateurs utilisés dans les boissons gazeuses sucrées.....	57
Tableau 2: les principaux colorants naturels utilisé dans les boissons gazeuse sucré.....	57
Tableau 3: les principaux colorants de synthèse utilisé dans les boissons gazeuse sucré.....	58
Tableau 4: Milieux de culture et leurs compositions.....	59

Liste des figures

Figure 1: Structure chimique de la vitamine C.....	5
Figure 2: Oxydation de l'acide ascorbique	13
Figure 3: Histogramme représentant les changements des valeurs du Brix dans la boisson gazeuse pendant 3 mois de stockage à 4°C, 25°C et 37°C.....	49
Figure 4: Histogramme représentant les changements de l'acidité de la boisson pendant 3 mois de stockage à 4°C, 25°C et 37°C.....	50
Figure 5: Histogramme représentant les changements dans la teneur en vitamine C dans la boisson pendant 3 mois de stockage à 4°C, 25°C et 37°C.....	51
Figure 6: Histogramme représentant les Changements de l'activité antioxydante (mesurée par DPPH) dans la boisson pendant 3 mois de stockage à 4°C, 25°C, 37°C.....	53

Liste des abréviations

Abs : absence

B G : **Boisson Gazeuse**

BRSA : **Boissons Rafraichissantes Sans Alcools**

C.S.R.: Clostridium Sulfito-Réducteur

D /C: double concentration

S/C : simple concentration

DPPH:diphenyl-picrylhydrazyle

Ech : échantillon

EPEI : eau peptonée exempte d'indole

ERO : **Espèces Réactives d'Oxygène**

GAMT : germe mésophile aérobie totale

°F : degré français

FAM : flore aérobie mésophile

FRAP : Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter

FZBG : frère Zahaf boisson gazeuse

Inh:inhibition

ISO : international organisation of standardisation

JORA : journal officiel de la république Algérienne

NPP : nombre le plus probable

OGA : **OxytetracyclineGlucose Agar**

ORAC : Oxygène Radical Absorbance Capacity

PET : polyéthylène téréphtalate

PH :Potentiel hydrogène

Ppm : partie par million

S/C : simple concentration

SM : solution mère

SOD : superoxydedismutase

TA : titre alcalimétrique

TAC : titre alcalimétrique complet

TRAP : Total Radical-TrappingAntioxidantParameter

TSE : tryptone-sel eau

TGEA : glucose eau tryptone agar

UV : Ultra-violet

VBL : bouillon lactose bilié au vert brillant

VRBL : milieu lactose biller au cristal violet et rouge neutre

VF : viande foie

Introduction

La vitamine C ou l'acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble, très essentielle pour l'être-humain (**Uddinet al, 2002**). Elle est généralement considérée comme l'indicateur de la qualité des nutriments pendant le traitement et le stockage des aliments, (**Uddinet al, 2002**).

La vitamine C est un supplément vitaminique très connu avec une large utilisation dans différents domaines soient ; dans le domaine de « nutrition et santé », utilisé grâce à ses rôles physiologiques assurant le maintien du bon fonctionnement de l'organisme (métabolisme du collagène, elle intervient dans la défense immunitaire, son apport a un lien direct avec le niveau de la tension artérielle...) (**Courret, 2015**). Ainsi, dans le domaine « agroalimentaire » où elle est utilisée comme additif (conservateur : E300) et dans le domaine médical, pour la prévention ou le traitement du Scorbut (**Courret, 2015**).

La vitamine C se trouve principalement dans les légumes et les fruits (**Frank et al, 2004**). Parmi les fruits et les produits de fruits, les oranges et les jus d'orange sont connus comme une source importante de vitamine C et des composés poly-phénoliques. Ainsi, la vitamine C est considérée comme l'antioxydant hydrosoluble le plus important. Il protège les composés dans les espaces extracellulaires et intracellulaires dans la plupart des systèmes biologiques et réduit les radicaux tocophérols à leur forme active au niveau des membranes cellulaires (**Kaur and Kapoor, 2001**). Elle peut directement piéger les radicaux superoxydes, l'oxygène singulier et, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle. Actuellement, l'acide ascorbique est la vitamine la plus largement utilisée dans le monde entier. Basé ,sur des études biochimiques, cliniques et épidémiologiques, l'acceptation quotidienne recommandée actuelle(RDA) pour l'acide ascorbique est suggéré d'être 100-120mg/jour pour atteindre la saturation cellulaire et la réduction optimale du risque de maladies cardiaques, accidents vasculaires cérébraux et le cancer chez les personnes en bonne santé (**Naidu, 2003**). La teneur en vitamine C dans le jus d'orange est d'environ 150 à 450 mg/l ; un verre de jus d'orange (200 ml) peut fournir environ 30-80% de l'apport quotidien recommandé en vitamine C (**Kaur and Kapoor, 2001**).

Toutefois, l'acide ascorbique dans les jus de fruits est facilement oxydé et perdu au cours du stockage. Il existe de nombreux facteurs qui influent sur ce processus d'oxydation, comme l'exposition à la lumière, pH (**Roig et al, 1995**), niveau d'oxygène dissout, présence

d'ions métalliques (**Serpenet al, 2007**), présence du sucre (**Hsiehet al, 1993**) et la température du stockage (**Uddinet al, 2002**). En outre, l'acide ascorbique est thermolabile et très sensible aux différentes conditions des traitements (**Valdramidis et al, 2010**).

La dégradation de l'acide ascorbique lors du stockage est le principal problème de la perte de qualité nutritionnelle dans les jus de fruits ce qui détermine aussi leur durée de vie.

L'étude de la cinétique de dégradation de l'acide ascorbique dans les boissons à base d'orange et les jus de fruit, était le point basique pour la détermination de la durée de vie du produit. Autrement dit, l'étude de la dégradation de la vitamine C dans les boissons fruités, ne va pas être seulement utilisée comme référence dont son objectif est de déterminer et investiguer la qualité nutritionnelle de ces boissons, mais aussi, qu'elle pourrait être utilisé pour prévoir l'influence des changements sévères des variables climatique (Temps et Température) durant le stockage.

L'objectif de ce travail est

- 1/ contrôle de la qualité des matières première utilisé dans la préparation de boisson gazeuse ;
- 2/ suivie de la stabilité physicochimique microbiologique et organoleptique de boisson gazeuse pendant un période de stockage de 3 mois dans 3 températures différentes « 4C°,25C°et 37 C° » ;
- 3/ l'évaluation de l'effet de la durée et de la température de conservation sur la teneur en vitamine C et sur son activité antioxydante dans une boisson commerciale à base de concentré d'orange « Chréa pulpe ».

Chapitre I

La vitamine C

I.1. Généralités

La vitamine C ou acide ascorbique, également connu par la vitamine antiscorbutique est un "enediolactone" d'un acide similaire à la L-glucose. Les Plantes et presque tous les animaux, sauf l'homme et les primates synthétisent cette vitamine. Elle est soluble dans l'eau et largement diffusé dans les plantes et les tissus animaux (**Etenget al., 2006**). La Vitamine C joue un rôle dans presque toutes les réactions chimiques de l'organisme et dans de nombreux métabolismes. Elle joue donc un rôle dans la santé de la peau, des ligaments, des parois des vaisseaux sanguins, des dents et des os. Elle intervient aussi dans le processus fournissant l'énergie nécessaire à l'effort musculaire et dans la synthèse des hormones surrénaliens (cortisol) qui jouent un rôle essentiel en cas de stress (**Kirsch, 2007**).

La vitamine C est très fragile, elle se dégrade par auto oxydation au contact de l'air et de la lumière. Elle est sensible à l'humidité, à la chaleur et à la congélation. Le stockage des aliments pour garantir une teneur optimale en vitamine C doit se faire à l'abri de l'air, de la lumière et de l'humidité. Les fruits et légumes frais doivent être consommés le plus vite possible après récolte (**Gaulier, 2011**).

Les fruits sont d'importantes sources de vitamine C. On parle d'agrumes ; orange, citron, citron vert, ananas, papayes et de fraises (**Etenget al, 2006**).

I.2. Structure chimique de la vitamine C

La vitamine C se présente sous la forme d'une poudre blanche cristalline. Elle est facilement soluble dans l'eau (300g/l), stable à l'état solide, rapidement oxydé au contact de l'oxygène lorsqu'elle est en solution aqueuse.

La vitamine C est de formule $C_6H_8O_6$, l'acide L-ascorbique ou (2-oxo-L-threo-hexono-4-lactone-2,3-enediol) comporte une fonction lactone, deux carbones asymétriques, les carbones 4 et 5, deux fonctions alcool et une fonction ene-diol sur les carbone 2 et 3 (**Guilland et Le Moel, 2007**).

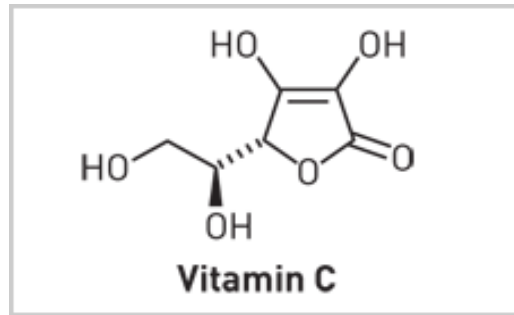


Figure 1: Structure chimique de la vitamine C.

I.3. Métabolisme et physiologie

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène (**Cocheton, 1996**). Le pool total de l'organisme est de 1500 à 2500 mg. Le turnover quotidien est de 45 à 60 mg/jour (soit 3 % du pool total). La demi-vie est de 10 à 20 jours. L'absorption de la vitamine C s'effectue au niveau de l'iléon, par un mécanisme de transport actif saturable au-delà de 180 mg/jour. Le coefficient d'absorption est de 85 %. Après ingestion, la vitamine C passe rapidement dans le sang puis diffuse de façon variable dans tous les tissus. Dans le sang total, on retrouve principalement l'acide ascorbique (80 à 95 %) ; l'acide déhydroascorbique ne représente que 5 à 20 % de la vitamine C circulante (**Cocheton, 1996**).

La carence en vitamine C induit une altération de la structure du collagène (**Carr, 1999**). Ceci explique les manifestations cliniques du scorbut : altération de la formation de dentine et perte de dents, atteinte de la paroi vasculaire et purpura avec syndrome hémorragique, œdèmes, altération cutanée par atteinte de la kératine, remaniements osseux du fait de l'incapacité des ostéoblastes à former la bordure ostéoïde chez l'enfant. L'action de la vitamine C sur les dioxygénases, qui interfèrent dans le métabolisme de la carnitine et donc celui des acides gras à longue chaîne de la mitochondrie, explique la fatigue décrite au cours du scorbut.

La vitamine C a un rôle de cofacteur dans la synthèse des catécholamines, notamment dans la transformation de la dopamine en norépinéphrine, ce qui peut rendre compte des troubles du comportement et de l'humeur observés au cours du scorbut. D'autres actions sont décrites : intervention dans le catabolisme de la phénylalanine et de la tyrosine, dans la transformation du cholestérol vers les acides biliaires, augmentation du métabolisme des toxiques et carcinogènes par le cytochrome P 450 hépatique. L'acide ascorbique favorise l'absorption du fer non hémérique (réduction des ions ferriques en ions ferreux et chélation des ions ferriques) et joue un rôle dans la mobilisation du fer d'un compartiment à l'autre (fer circulant lié à la sidérophiline et fer de réserve lié à la ferritine).

I.4. facteur favorisant la carence en vitamine C

I.4.1 Diminution des apports

Elle est la conséquence du mode de vie ou de conditions socioéconomiques particulières. Les hommes seuls, les personnes âgées, les éthyliques, les sujets ayant des régimes alimentaires volontairement restrictifs sont principalement atteints. Un certain nombre de facteurs de risque de carence ont été identifiés dans une étude menée en milieu hospitalier ; en analyse uni-variée : le sexe masculin, le fait d'être retraité ou chômeur, d'avoir une maladie infectieuse et une consommation alcool, tabagique excessive et en analyse multi-variée la consommation excessive d'alcool et de tabac (**Fainet *al*, 2003**).

I.4.2. Diminution de l'absorption

La carence peut être liée à une diminution de l'absorption au cours de pathologies intestinales : la maladie de Crohn (**Vasseur *et al*, 1997**), la maladie de Whipple (**Berger *et al*, 1984**) et la maladie cœliaque (**Zultaket *al*, 1986**).

I.4.3. Augmentation des besoins

Les besoins sont augmentés pendant la croissance, la grossesse, l'allaitement, et au cours du diabète. **Cunningham *et al*. (1991)** montrent que le taux d'acide ascorbique leucocytaire est plus bas chez les diabétiques insulino-nécessitantes malgré des apports quotidiens conformes aux recommandations.

I.5. Le déficit en vitamine C « l'hypovitaminose » (Déplétions symptomatiques)

La carence en vitamine C peut conduire à l'anémie, le scorbut, les infections, des saignements des gencives, la dégénérescence musculaire, une carence grave en vitamine C provoque le scorbut. Bien que rare, le scorbut inclut potentiellement de graves conséquences, et peuvent causer des morts soudaines (**Mansour et Aljoubbeh, 2014**). Un déficit en vitamine C peut être évalué par un dosage biochimique quantitatif dans le sérum prélevé à jeun (**Galinier et Astudillo., 2012**).

I.5.1. Le scorbut

Le scorbut est une maladie qui se traduit dans sa forme grave par le déchaussement et la purulence des gencives, des hémorragies, puis la mort. Elle était une importante cause de mortalité chez les marins lors des voyages océaniques. On rapporte, par exemple, qu'elle a

emporté les deux tiers des hommes de Vasco de Gama pendant son voyage vers les Indes en 1497-1498 (**De Keselet al, 2006**).

I.5.1.2. Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques associent des signes généraux : asthénie, anorexie, amaigrissement, des manifestations articulaires : arthralgies des genoux, des chevilles, des épaules, des poignets, des myalgies et des hémarthroses. Le syndrome hémorragique se traduit par un purpura pétéchial des membres et du tronc centré sur les follicules pileux, des ecchymoses, des hématomes mais également des hémorragies des gaines des nerfs « paralysie douloureuse du scorbut), des hémorragies intramusculaires pouvant être à l'origine de syndromes des loges, des hémarthroses responsables parfois d'ostéolyses, des hémorragies digestives voire des hémorragies gynécologiques ou cérébrales.

I.5.2. Déplétions asymptomatiques en vitamine C

À côté des carences symptomatiques (scorbut) correspondant à des valeurs d'ascorbémie inférieures à 2 mg/l, des états de déplétion (entre 2 et 5 mg/l) peuvent être délétères s'ils se pérennisent : augmentation de risque d'infarctus du myocarde (**Nyssönenet al, 1994**), de la sévérité des infections (**Buzina-Suboticanecet al, 1998**). En effet, la diminution de l'effet antioxydant induit une augmentation du risque de cancer(**Block , 1992**)de cataracte (**Simon et al, 1999**)et de mortalité chez les hommes (**Loriaet al, 2000**).

I.6. Correction de la carence en vitamine C

La correction d'un déficit en vitamine C se fait préférentiellement par voie orale. Suivant le degré du déficit dans sa traduction clinique et/ou biologique, les apports en vitamine C peuvent se faire à partir d'aliments riches en vitamine C consommés de préférence crus (afin d'éviter la dégradation –oxydation et hydrolyse- de la vitamine ou sa « perte » dans une eau de cuisson non ingérée) ou sur prescription (**Galinier et Astudillo, 2012**).

Chapitre II

Notions de stress oxydatif et de l'activité antioxydante

II.1. Radicaux libres

II.1.1. Définition

- A) L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres organiques (**Meziti, 2007**).
- B) Les radicaux sont des atomes ou des groupes d'atomes possédant un ou plusieurs électrons non liant. Ils sont produits naturellement par notre organisme et entrent, par exemple, dans les processus de production d'énergie. Ils interviennent également dans les mécanismes immunitaires en permettant de lutter contre l'invasion par des bactéries ou des virus. Mais, sous certaines conditions, ils peuvent être produits en excès et se mettent à dégrader les parois des cellules, les protéines et même l'ADN. On parle alors de « stress oxydatif ». L'antidote contre les radicaux libres, ce sont les antioxydants (**De Keselet al, 2006**).

Les radicaux libres sont très instables de par leur configuration électronique et leur durée de vie est très courte (de 4 à 10 S). Leur réactivité réside dans le fait qu'ils recherchent un électron pour rattraper leur électron célibataire, entraînant la propagation du phénomène par création d'un nouveau radical libre. Ils produisent ainsi des réactions en chaîne qui peuvent aboutir à des dénaturations ou destructions au niveau cellulaire (**Gardès-Albert, 2003**).

II.1.2. Nature des radicaux libre

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**).

II.1.3. Rôles biologiques des radicaux libres

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment.

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire. Ils contribuent également dans la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (Favier, 2003), à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire (Ardestani et Yazdanparast, 2007 ; Touafek, 2010 ; Marfak, 2011).

II.2. Stress oxydatif

II.2.1. Définition

Des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (Favier, 2003).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (Diallo, 2005). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (Aruoma, 1999).

II.2.2. Les conséquences du stress oxydant

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

La toxicité des EOR s'exerce également sur les protéines. Les EOR sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est

également une cible majeure des EOR. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant, telles que ; mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions (**Favier, 2003**).

II.3. Antioxydant et activité antioxydante

II.3.1. Définition des antioxydants

Les antioxydants sont des composés chimiques capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit. En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraîne ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques, et stable dans le produit fin (**Hellal, 2011**).

Les épices en général, sont très riches en métabolites antioxydants, une vaste revue scientifique a classé la cannelle moulue au quatrième rang parmi les 50 aliments renfermant le plus d'antioxydants (**Halvorsenet al.,2006**).

Ce sont essentiellement des vitamines (Ex. : Vitamine C) ou des oligo-éléments. En luttant contre les radicaux libres en excès, les antioxydants protègent notre organisme de nombreuses maladies. Ceux-ci vont réagir avec les radicaux libres et les rendre inoffensifs. Dans l'organisme, il y a un équilibre permanent entre l'une et l'autre de ces familles chimiques. Les antioxydants éliminent en permanence les radicaux libres en excès. Les problèmes se posent lorsqu'un déséquilibre apparaît. Un déséquilibre peut être lié à un manque d'antioxydants dans l'alimentation. Mais il peut également être dû à des facteurs

extérieurs, qui vont augmenter la quantité de radicaux libres dans notre organisme. Citons notamment : la cigarette, l'alcool, l'exposition au soleil, le stress, la pollution, certains médicaments. (De Keselet *al*, 2006).

II.3.2. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol.

En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Yaacoub, 2009 ; Hellal,2011).

II.3.3. Classification des antioxydants suivant la nature chimique

II.3.3.1. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont principalement de trois enzymes ; la superoxydedismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du $O_2^{\cdot-}$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel *et al.*, 2001).

II.3.3.2. Les antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols (**Kanoun, 2011**).

A. La vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes O_2^- , du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , des radicaux hydroxyles $HO\bullet$, et de l'oxygène singlet 1O_2 . Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, avant qu'ils initient la peroxydation lipidique le produit formé étant le radical ascorbyle. La vitamine C protège ainsi les biomembranes et les lipoprotéines. (**Bouldjadj, 2009**).

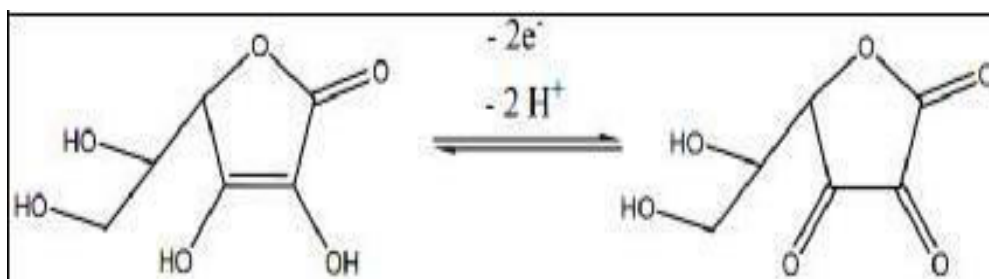


Figure 2: Oxydation de l'acide ascorbique

II.4. Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes $ROO\bullet$ par les méthodes ORAC (Oxygène Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) ou les radicaux ABTS \bullet (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH \bullet (diphényl-picrylhydrazyle). Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise (**Cristina et al., 2009**).

L'ensemble des tests, selon leurs mécanismes sont regroupés dans le tableau 1.

Tableau 1: Les principales caractéristiques de quelques tests d'évaluation de l'activité antioxydante.

Tests	DPPH	ABTS ou TEAC	FRAP	ORAC
Mécanismes réactionnels	Transfert d'électrons majoritaires	Transfert d'électrons et de protons	Transfert d'électrons	Transfert de protons
Nature des molécules testées	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles	Hydrophiles et lipophiles
Expression des résultats	50 et /ou en μmol équivalent trolox	CI 50 et /ou μmol équivalent trolox	En mg μmol équivalent Fe^{2+}	CI 50 et /ou μmol équivalent trolox
Avantages	Très faciles à mettre en œuvre et peu coûteux	-Très faciles à mettre en œuvre -Cinétique de la réaction très rapide -Peu coûteux	-Très faciles à mettre en œuvre -Peu coûteux	- Faciles à mettre en œuvre - Coûteux (nécessite un fluorimètre)
Inconvénients	-Encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires -Interférences possible à 515nm -Forte décoloration au pH et au solvant -Radical inexistant <i>in vivo</i>	-Produit de dégradation antioxydant - Radical inexistant <i>in vivo</i>	-pH utilisé non physiologique Interférences possibles à 595nm	- Mécanismes de génération des ROO° non physiologique - Interférences possibles des protéines
Référence	(Brand-William <i>et</i>	(Awika <i>et al.</i> , 2003 ; Osman <i>et</i>	(Benzie <i>et</i> Strain, 1996 ;	(Ou <i>et al.</i> , 2001 ; Lopez <i>et al.</i> , 2003)

	<i>al.,1995 ;Pineloet al.,2004)</i>	<i>al2006</i>	<i>Ou etal,2002)</i>	
--	-------------------------------------	---------------	----------------------	--

II.5. Les antioxydants en agro-alimentaire

L'un des principaux problèmes de l'industrie agro-alimentaire est d'assurer la conservation des aliments. Les phénomènes d'oxydation sont notamment redoutés. En effet, au niveau des lipides, les dégradations oxydantes conduisent à une perte en vitamines, une diminution de la valeur nutritionnelle (acides gras essentiels), une détérioration du goût (composés volatils à flaveur caractéristique, rancissement) et même parfois à l'apparition de substances toxiques (**Pascal, 1979**).

La dégradation des composés organiques sous l'action de l'oxygène de l'air est un processus d'oxydation important. Dans le cas des huiles et graisses, l'oxydation se déclenche au niveau des doubles liaisons des composés lipidiques (**Pascal, 1979; Fiess, 1996**).

Pour supprimer ou ralentir l'oxydation des lipides, deux voies sont envisageables :

- Tenter de réduire les facteurs favorables à cette oxydation et/ou
- Trouver un réactif qui ralentisse l'oxydation ; c'est le rôle de l'antioxydant.

En fonction du moment où ils interviennent dans ce processus, les antioxydants peuvent être classés en 3 groupes :

- **Antioxydant de rupture de chaîne** : l'antioxydant agit par interruption de la réaction radicalaire en chaîne. Cette catégorie regroupe la plupart des antioxydants (**Sherwin, 1976 ; Chazanet al., 1987**)
- **Antioxydant préventif** : l'antioxydant piège l'initiateur de la réaction d'oxydation, un radical libre ou l'oxygène singulet (**Chazanet al., 1987 ; Niki, 1987 ; Cloughet al., 1979**)
- **Antioxydants synergistes** : ces substances peuvent agir en synergie avec les antioxydants précédemment cités comme le lactate de sodium et lactate de potassium .

II.5.1. Additifs alimentaires

Une directive communautaire du 21 décembre 1988 publiée au **Journal Officiel algérienne le 11.02.1989** donne la définition d'un additif alimentaire :

"On entend par additif alimentaire toute substance habituellement non consommée comme aliment en soi, habituellement non utilisée comme ingrédient caractéristique dans l'alimentation, possédant ou non une valeur nutritive ; son adjonction intentionnelle aux denrées alimentaires est faite dans un but technologique, au stade de leur fabrication, transformation, préparation, traitement, conditionnement, transport ou entreposage : elle a pour effet de devenir elle-même, ou ses dérivés, uncomposant des denrées alimentaires".

Les additifs alimentaires sont classés en catégories et doivent répondre à un besoin (tableau 2), avoir un rôle d'amélioration sur la conservation, la stabilisation, l'emballage, le transport, ne présenter aucun danger pour la santé aux doses utilisées, être soumis à des essais toxicologiques permanents, répondre à des critères de pureté spécifiques...

Tableau 2: Classification des additifs alimentaires (Denilet *al.*, 2001).

Nom	Numérotation conventionnelle	Définition	Exemples
Colorant	E 100	Substance qui ajoute ou redonne de la couleur aux aliments	Curcumine (E 100)
Conservateur	E 200	Substance qui prolonge la durée de conservation des denrées alimentaires en les protégeant des altérations dues aux micro-organismes	Acide benzoïque et dérivés (E210-E219)
Anti-oxygène	E 300	Substance qui prolonge la durée de conservation des aliments en les protégeant des altérations provoquées par oxydation	Vitamine C (E 300) Vitamine E (E 306)

Chapitre III

Boissons gazeuses

III.1. Définition

Le nom de boisson gazeuse est réservé à l'eau gazéifiée sucrée, additionnée de matière aromatique et de colorants, acidulée et pouvant contenir des extraits des plantes (menthe, feuille de cola) (**codexalimentarius, 2005**).

Les boissons gazeuses appartiennent à la famille des boissons rafraichissantes sans alcools (BRSA), qui constituent un ensemble très hétérogène, parmi lesquelles, on peut distinguer les boissons à base d'extraits naturels de fruits ou végétaux, eau embouteillée, jus de fruits et nectars, thé et café glacé, boisson pour le sport et les boissons énergétiques (**Vierling, 1998**).

D'après (**Bourgeois et al., 1996**) les boissons gazeuses sont caractérisées par un pH bas, une forte concentration en sucre, une faible concentration en oxygène et concentration de gaz carbonique particulièrement sélective avec une faible concentration en azote assimilable notamment en acide aminée et vitamine.

III.2. Types de boissons gazeuses

-Limonade : Boisson gazéifiée sucrée, limpide et incolore additionnée de matière aromatique provenant du citron et éventuellement d'autres hespéridés (**Bourgeois, 2003**).

-Sodas C : Boissons gazéifiées, sucrées, acidulées, présentant une teneur en anhydride carbonique dissous supérieur à 4,7g/l et un pH inférieur (**Bourgeois, 2003**).

-Colas : Boissons gazéifiées, sucrées comportant des extraits de cola, de caféine, caramel, acide phosphorique (H₃PO₄) à une dose inférieure à 500ml/ (**Fredot, 2006**).

-Boissons « light » : Boissons sucrées avec des édulcorants, généralement un mélange d'aspartame et d'acesulfame de potassium (**Vierling, 1998**).

-Boissons fruitées (ou à base de concentré, ou boisson à la pulpe de fruits) : Boisson préparée à partir d'eau, sucre et jus de fruit, jus de fruits concentré, fruits ou mélange de ces composants. La teneur minimale en jus de fruits fixée à 10% quels que soient les fruits employés. Les boissons aux fruits peuvent être plates ou gazeuses (**Bourgeois, 2003**).

III.3. Composition des boissons gazeuses

III.3.1. Eau

L'eau livrée à la consommation humaine doit être potable. C'est le constituant principal d'une boisson gazeuse, elle représente plus de 95% de volume de la boisson finie (Roux et al., 1995).

Pour que l'eau soit considérée potable, elle doit répondre à un certain nombre de critères :

A) Critères organoleptiques

- **Couleur** : transparente ou incolore, dépourvue de toute substance organique (Rodier, 1984).
- **Odeur** : une eau de bonne qualité n'a pas d'odeur. Toute eau qui présente une odeur doit être considéré comme impropre à la consommation.
- **Saveur** : l'eau potable à un goût agréable qui provient en grande partie de l'oxygène et de l'acide carbonique qui s'y sont dissous (Lederer, 1986).

B) Critères chimiques

Pour les éléments minéraux suivants, les valeurs des concentrations doivent être inférieures ou égales aux valeurs indiquées dans le tableau 3.

Tableau 3: Les critères chimiques d'une eau potable (Cheftel et Besançon, 1976).

Eléments	Teneurs (mg/l)
Plomb (Pb)	0,1
Selenium (Se)	0,05
Fluorure (F)	1,0
Arsenic (As)	0,05
Cuivre (Cu)	1,0
Fer (Fe)	0,3
Manganèse (Mn)	0,1
Zinc (Zn)	5,0

C) Critère physico-chimiques des eaux des boissons gazeuses (tableau 4)

Tableau 4 : Les critères physico-chimiques des eaux des boissons gazeuses (**Rodier, 1984**).

Eléments	Teneur limite (°F)
Titre hydrométrique	12_13
Titre alcalimétrique simple	0
Titre alcalimétrique complet	40
pH	7

N.B : 1°f (degré français) =10mg de CaCO₃/l d'eau.

L'eau utilisée durant la fabrication de la boisson gazeuse (l'eau de process) doit répondre aux critères de potabilité recommandés par l'OMS et AFNOR.

D) Critères bactériologiques

Une eau alimentaire ne doit renfermer aucun germe pathogène. Les micro-organismes les plus utilisés comme indicateurs fécaux sont les coliformes totaux les coliforme fécaux (**Prescott et al., 2003**). Les normes de qualité bactériologiques de l'eau de process se trouvent dans le tableau 5.

Tableau 5: Norme de qualité bactériologique d'une eau de boisson gazeuse sucrée (**JORA, 1998**).

Germes recherchés	- microorganisme -
Germes aérobies à 37°C /ml	20
Germes aérobie à 22°C /ml	10 ²
Coliformes totaux à 37 °C /ml	Abs
Coliformes fécaux /ml	Abs
Clostridium sulfito-reduceur a 46°C/ ml	Abs
Clostridium sulfite-reducteur a 46°C/20ml	Abs
Streptocoques/50ml	Abs

M : nombre maximum de micro-organismes acceptés.

III.3.2. Sucre

Le sucre apporte la saveur sucrée et la flaveur aux boissons gazeuses sucrées. Le saccharose est le sucre utilisé(Linden et Lorient, 1994).

Une boisson gazeuse sucrées ne doit pas contenir plus de :

- 200 bactéries mésophiles/10g d'équivalence en sucre sec ;
- 10 levures/10g d'équivalence en sucre sec ;
- 10 moisissures/10g d'équivalence en sucre sec.

III.3.3. Gaz carbonique (CO₂)

Le CO₂ est un gaz incolore et inodore ; c'est un élément caractéristique de la boisson gazeuse. Le dioxyde de carbone ne se dissout que partiellement dans l'eau, la partie qui reste gazeuse donne l'effet pétillant et la sensation typique du goût(Rudi, 2004). Il attribue à la boisson un goût agréable et rafraichissant et améliore la qualité organoleptique de la boisson, et aussi joue un rôle de conservateur car il inhibe le développement de micro-organismes nocifs (Multon, 1994).

III.3.4. Additifs alimentaires

Selon Multon, (1992) les additifs alimentaires dans le secteur des boissons gazeuses sucrées ont essentiellement pour rôle :

- Augmentation de la durée de vie du produit fini.
- Amélioration de la présentation du produit fini.

A) Additifs conservateurs : Un additif conservateur est défini comme toute substance, non consommée en tant que denrée alimentaire et habituellement non utilisé comme ingrédient, possédant ou non une valeur nutritive, que l'on incorpore à un aliment en vue d'accroître sa sécurité et sa stabilité microbiologique.

B) Additifs colorants : Les colorants ne présentent aucun intérêt nutritionnel. Ce sont les additifs les moins indispensables, on les utilise principalement pour normaliser la couleur d'un aliment ou d'une boisson et secondairement pour leur aspect attractif (Charles, 2003).

C) Additifs anti-oxygènes : Ce sont des substances qui prolongent la durée de conservation des denrées alimentaire en les protégeant des altérations provoquées par l'oxydation qui accélère le vieillissement. Il peut s'agir d'altération due à l'oxygène de l'air, à la lumière, aux traces de métaux ou certaines enzymes (Multon, 2002). Les

principaux additifs anti-oxygènes utilisés dans les boissons gazeuses sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 6: Les principaux additifs anti-oxygènes utilisés dans les boissons gazeuses sucrées (Moll *et al.*, 2000).

Dénomination	Source	Code	DJA (mg/Kg)	Effet a fort dose
Acide ascorbique (vitamine C)	Naturel ou synthétique	Sin 300	100	Provoque des diarrhées et usure des dents
Acide citrique	Naturel	Sin 330	/	Usures des dents, irritation local
Acide tartrique	Naturel	Sin 334	30	Irritation gastro-entérites
Acide ortho-phosphorique	Chimique	Sin 338	70	Aucun effet à ce jour

D) Les arômes : Les arômes sont des principes odorants volatils qui s'échappent des différentes substances d'origine animale ou végétale. C'est un composant de la flaveur, résultante des réceptions olfactives et gustatives.

III.4. Altération des boissons gazeuses

Les changements de la qualité peuvent être le résultat des effets conjugués des facteurs chimiques, physiques et microbiologiques. La qualité initiale de l'aliment, sa composition, les conditions de stockage (température, lumière, humidité relative), et l'emballage provoquent des modifications diverses dans le produit fini (Varsabasky, 1990).

III.4.1. Différents types d'altération des boissons gazeuses

A) Modification de l'aspect :

Selon Juven et Shomer, (1985) les modifications de l'aspect peuvent se manifester par :

- Apparition d'une opalescence ou d'un trouble dans les boissons limpides (levures dans la boisson à base d'extrait).
- Apparition des flocons dans les boissons gazeuses (levures ou moisissure, acétobacter).
- Apparition d'un dépôt (levures).

- Augmentation de viscosité, gélification (bactérie lactique).
- Diminution du trouble dans les boissons naturellement trouble (organismes pectolytiques).
- Décoloration de boissons aux colorants naturels (levures ou bactérie)

B) Augmentation de la pression dans les récipients

Ce phénomène a différentes conséquences telles que le glissement, le bombage de contenant non rigide, éclatement (généralement levures fermentées, parfois bactéries lactiques hétéro fermentaires).

C) Modification de l'odeur et du goût

Plusieurs modifications peuvent se dérouler au cours de stockage telle que la diminution de goût (levures), odeur et goût de bière (levure), goût aigre (bactérie lactique et acétique), odeur et goût de beurre (bactérie lactique) (**Tortura et Massa, 1987**).

III.5. Critères de qualité des boissons gazeuses

III.5.1. Critères microbiologiques

Selon le **journal officiel algérien (2008)**, les examens concernant les critères microbiologiques des boissons gazeuses doivent comporter la détermination quantitative et le dénombrement des micro-organismes.

A) Coliformes totaux

Ce sont des bacilles à gram négatif, non sporulés, oxydase négative, aérobies ou anaérobies capables de se multiplier en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface ayant des propriétés équivalentes et capables de fermenter le lactose, avec une production d'acide et de gaz en 48 heures à une température de 35-37 °C (**Hasley et Leclerg, 1993**).

B) Coliformes fécaux

Les coliformes fécaux se développent à 44°C, au moins de 95% des souches fermentent le lactose avec production de gaz, si ces coliformes thermo-tolérants produisent l'indole à partir d'une peptone riche en tryptophane à 44 ° C (**Desjardins, 1997**).

C) Streptocoques fécaux

Ce sont des cocci de Gram+, en chainettes, catalase négative et possédants l'antigène de groupe D, ils sont plus importants en nombre que les coliformes (**Bourgeois, 1996**).

D) *Clostridium sulfito-réducteurs*

Les *Clostridium* sont des bactéries à gram positive, de grande taille, isolés ou en chainettes généralement mobiles, anaérobies stricts et sont capables de sporuler. Elles sont parfois responsables d'intoxication alimentaire. Les *Clostridium*sulfito-réducteur sont utilisées comme indice de contamination fécale (**Guiraud, 1998**).

E) *Levures*

Une levure peut être définie comme un champignon unicellulaire se reproduisant par bourgeonnement ou fission. Les cellules sont généralement ovoïdes et leur taille varie de quelque micron jusqu'à 25 à 30 microns. Certaines peuvent former des associations cellulaires ou se présentent sous forme filamenteuse à certain stade de leur vie (**Larpen, 1997**).

F) *Moisissure*

Les moisissures sont fortement aérobies, en générale acidophiles et mésophiles. Cependant certaines espèces sont psychrophiles. Les moisissures ont un besoin faible en eau. Leur métabolisme peut être oxydatif ou mixe (**Guiraud, 1998**).

III.6. Critères physico chimiques

A) *Température*

Elle doit être connue. Car elle a une très grande influence sur la solubilité des sels et des gaz, et donc sur la détermination du pH (**Rodier et al., 2005**).

B) *Pression*

Tout objet en contact avec un fluide subit les chocs des molécules du fluide, même si en apparence le fluide est immobile ; il subit donc une force, qu'on appelle la pression(Rodier et al., 2005).

C) *pH*

Le pH est une échelle logarithmique de 0 à 14 qui représente la teneur en ions d'hydrogène d'une solution (**Rondant et Lefransq,2005**).

D) *Indice de Brix*

Sert à mesurer en degré Brix (°B) la fraction de saccharose dans un liquide, c'est à dire le pourcentage de la matière sèche soluble (**Bourgeois, 1991**).

E) *Acidité*

L'acidité totale est constituée par environ 100%d'acide citrique (**Meziane, 1989**).

Chapitre IV

Matériel et méthodes

Lieu d'expérimentation

Notre étude a été réalisée en deux parties. La première partie était au niveau du laboratoire physicochimique, microbiologique de la société « FZBG » et qui a visé à effectuer une évaluation de la stabilité des paramètres physicochimique (pH, Brix, Acidité), de la qualité microbiologique et de la qualité organoleptique de la boisson gazeuse à base de concentré « Chréa-puple » conditionnée en PET, stockée à trois différentes températures pendant une durée de trois mois. En parallèle, la deuxième partie a été réalisée dans les mêmes durées et les mêmes conditions de stockage, au niveau du laboratoire physicochimique « SAIDAL » afin d'évaluer la quantité de la vitamine C et son activité antioxydante, dans cette boisson stockée pendant trois mois à trois différentes températures.

IV.1. Matériel

IV.1.1. Matériel biologique

Boisson gazeuse à base de concentré conditionnée dans PET composé par eau gazéifiée, concentré de jus d'orange, acide citrique, citrate, benzoate de sodium.

IV.1.2. Matériel non biologique(Annexes)

Matériel pour les analyses physicochimiques, microbiologiques et organoleptiques, (verrerie et appareillage, produits chimiques).

IV.2. Méthodes d'étude

IV.2.1. Echantillonnage

L'échantillonnage a été effectué au niveau de la sortie de la chaîne de production. Des échantillons (bouteilles de 2 Litres) ont été prélevés le jour-même de leur conditionnement « le même lot ». Ensuite, les échantillons ont été stockés à trois différentes températures (4, 27, et 37°C) pendant trois mois à l'abri de la lumière.

Au cours des trois mois de stockage, des analyses physicochimiques (pH, Brix, Acidité) et microbiologiques ont été effectuées chaque 15 jours ainsi que l'analyse sensorielle. Quant au suivi de la stabilité de la vitamine C et son activité antioxydante, le dosage a été effectué chaque mois.

IV.2.2. Analyses microbiologiques

Elles permettent de rechercher et dénombrer les micro-organismes pouvant être présents dans l'aliment. Les résultats obtenus sont comparés avec les normes exigées par le **journal officiel algérien N° 35 du 27 mai 1998.**

IV.2.2.1. Préparation des dilutions décimales

Cas des produit liquides (délutions décimales)

- Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile 1ml de la solution mère (SM) dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml de diluant tryptone sel eau (TSE), cette dilution alors constitue la dilution au 1/10, mélanger soigneusement.
- Introduire ensuite à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile 1ml de la dilution 1/10 dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml de dilution (TSE), cette dilution est alors au 1/100, mélanger soigneusement.
- Changer de pipette et prendre toujours aseptiquement 1 ml de dilution de 1/100 à introduire dans un tube à vis stérile contenant préalablement 9 ml de dilution (TSE), cette dilution est alors au 1/1000. Mélanger soigneusement.

Cas des produit solide/ semi solide (sucre)

- Dans le cas de produit solides, introduire aseptiquement 25g de produit à analyser dans un flacon stérile contenant au préalable 225ml de diluant (TSE), homogénéiser pendant 6 à 8 minutes selon la texture de produit, cette suspension constitue alors la dilution mère qui correspond donc à la dilution au 1/10.
- Les dilutions qui se suivent (1/100, 1/1000) sont réalisées de la même manière que les dilutions décimales dans le cas de produits liquides.

Remarque : pour exprimer les résultats des analyses microbiologiques utilisant les dilutions décimales, on doit multiplier le nombre trouvé par l'inverse de la dilution correspondante, faire ensuite la moyenne arithmétique, puis exprimer le résultat final en ml ou gramme de produit à analyser.

IV.2.2.2. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale dans l'eau de process

Principe (ISO 6222-1999)

La recherche et le dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux ou germes revivifiables se réalise à deux températures différentes afin de cibler à la fois les micro-organismes :

- A tendance psychrophile soit à 22°C.
- Et ceux franchement mésophiles soit à 37°C.

Mode opératoire

- À partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans deux boites de pétri vides préparées à cet usage et numérotées.
- Compléter ensuite chacune des boites avec environ 20 ml de gélose (Tryptone Glucose Extract Agar) TGEA fondue puis refroidir à 45°C (+/-) 1°C.
- Faire ensuite des mouvements circulaires en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose.
- Laisser solidifier sur paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose. Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.
- L'incubation : - la première boite sera incubée, couvercle en bas à 22°C.

-la seconde sera incubée couvercle en bas à 37°C.

-la lecture est effectuée chaque 24 h pendant 72h.

Expression des résultats

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies sous forme lenticulaire poussant en masse, en tenant compte des remarques suivantes

- Compter toutes les colonies dans la boite de pétrie (le maximum de colonies à compter de 300 par boite et le minimum de colonie est 30 par boite)
- Les résultats seront exprimés par millilitre d'eau à analyser à 22° et à 37°C.

IV.2.2.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux et *Escherichia Coli*

➤ **Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux et *Escherichia coli* dans l'eau de procès**

Mode opératoire (ISO 9308-1 : 2000)

La méthode utilisée est la filtration qui est une technique rapide, simple et normalisée.

Tout d'abord, il faudrait désinfecter avec l'éthanol à 90°C puis stériliser un entonnoir gradué et la membrane poreuse, à l'aide d'un bec benzène.

- Les refroidir avec l'eau distillée stérile.
- Mettre en place de façon aseptique une membrane de 0.45µm entre la membrane et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile.
- Fixer ce dernier avec la pince correspondante,
- Remplir de façon aseptique l'entonnoir avec le volume d'eau à analyser,
- Actionner la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane
- Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boîte de pétrie de 45 mm de diamètre contenant le milieu choisi « TERGITOL » (ce dernier doit avoir une épaisseur minimale de 5 mm et doit être sec),
- Cette boîte sera incubée à 37°C et à 44°C pendant 48h.

Expression des résultats

Après 48h d'incubation, les coliformes totaux et fécaux apparaissent sous formes de petites colonies qui fermentent le lactose sont marquées par un halo jaune.

Identification

-Coloration de Gram : les coliformes sont des bacilles à Gram négatif.

-Test oxydase : les coliformes ont une oxydase négative.

➤ **Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux et *Escherichia coli* dans le produit fini**

Principe

Les coliformes sont considérés comme indice de contamination fécale, sont des entérobactéries fermentant le lactose (avec production de gaz) à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux (**Joffin, 1999**).

Dans les boissons gazeuses les coliformes sont dénombrés soit en milieu liquide par la technique du NPP (nombre le plus probable) à l'aide de bouillon VBL (bouillon lactose bilié au vert brillant) réparti à raison de 10 ml par tube munis d'une cloche de Durham, soit en milieu solide, sur le milieu au désoxycholate à 1 % ou VRBL (milieu lactosé biliée au cristal violet et au rouge neutre) (**JORA, 1998**).

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des coliformes totaux.
- Le test de confirmation : appelé encore test de mac Kenzie et réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

Mode opératoire

Test de présomption

Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif (VBL) à raison de 3 tubes par dilution. À partir des dilutions décimales 1/1000, à 1/10, porter aseptiquement 1 ml dans chacun des 3 tubes correspondant à une dilution donnée, chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.

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

La lecture : sont considérés comme positifs tous les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/ 10 de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien, ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu.

Expression des résultats

La lecture finale et le dénombrement des coliformes totaux se fait selon la méthode du nombre le plus probable (NPP) en utilisant la table de Mac Grady.

Test de confirmation ou test de mac Kenzie

Les tubes de (VBL) positif, lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse de platine dans deux autres tubes l'un contenant le milieu (VBL) avec cloche et l'autre de l'eau peptonée d'indole (EPEI). incubation est réalisée à 44°C pendant 24 heures.

Expression des résultats

La lecture finale s'effectue après ajout du réactif de Kovacs selon les prescriptions de la table de Mac-Grady, en tenant compte du fait qu'Escherichia coli est à la fois producteur de gaz et l'indole à 44°C.

IV.2.2.4. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux ou streptocoques du groupe D se présentent sous forme de Gram positif, sphérique ou ovoïde, format des chainettes, ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène de groupe D (JORA, 1998).

➤ Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux dans l'eau de process

Mode opératoire

- Filtration de 50 ml d'échantillon à analyser
- Inoculation du filtre dans le milieu Slanetz et bartley (additionnée de son additif)
- Incubation à 36 (+/-) 2°c pendant 44 h

Expression des résultats

Après 24 heures d'incubation, les streptocoques apparaissent sous formes de fines colonies rouge, marron ou roses ; lisses et légèrement bombées.

Identification

S'il y a présence de colonies typiques, transposer la membrane avec une pince stérile sur le milieu BEA (Bile, Esculine Agar). Incuber à 44°C pendant 25 heures.

Les streptocoques présents vont alors hydrolyser l'esculine présente dans le milieu et se traduira par la présence de colonies bleues violettes voire noire.

Le nombre de colonies trouvées sera exprimé dans 50 ml d'eau à analyser.

➤ **Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux dans le produit fini**

Leur recherche et leur dénombrement se fait sur le milieu liquide de Rothe puis repiquage des tubes positifs sur milieu (Azide Éthyle Violet)EVA Respectivement appelés :

- Test de présomption.
- Test de confirmation réservé à la conformation réelle des streptocoques fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

Test de présomption

A partir du produit analysé, porter aseptiquement :

- 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu de Roth D/C (une seule répétition)
- 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu de Roth D/C (5 répétitions)
- 1 ml dans 5 tubes contenant chacun 10 ml de milieu de Rothe S/C (5 répétitions)
- Bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

Lecture : sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien seulement ces derniers :

Ne doivent en aucun cas faire l'objet de dénombrement.

Par contre doivent faire l'objet d'un repiquage sur milieu Eva-Litsky dans le but d'être confirmé

Test de confirmation

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption.

Les tubes de Roth trouvés positifs feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans les tubes contenant le milieu Eva-Litsky, bien mélangé le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait cette fois-ci à 37°C pendant 24 heures.

Lecture : sont considérés comme positifs, les tubes présentant :

- Un trouble microbien,
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.

Expression des résultats

La lecture finale s'effectue également selon la prescription de la table de (NPP)

IV.2.2.5. Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs* dans l'eau et le produit fini

Principe (JORA, 1998)

Selon les normes du journal officiel, dans l'eau de procès et les boissons gazeuses la recherche des spores *Clostridium sulfito-réducteurs* se fait sur de la gélose Viande-foie.

Mode opératoire

Préparation du milieu

Au moment de l'emploi faire fondre un flacon de gélose Viande Foie (VF), le refroidir dans un bain à eau à 45°C puis ajouter une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de Sulfite de sodium, mélanger soigneusement et aseptiquement. Maintenir le milieu ainsi préparé à 45°C dans une étuve jusqu'au moment d'utilisation.

Ensemencement

Les tubes contenant les dilutions 1/10 et 1/100 seront soumis :

- D'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes.
- Puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et garder uniquement les formes sporulées.
- A partir de ces dilutions, porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles, puis ajouter environ 15 ml de gélose viande-foie prête à l'emploi, dans chaque tube.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes.

Ces tubes seront ainsi incubés à 37°C pendant 16h à 24h ou au plus tard 48h.

Lecture : la première lecture doit se faire impérativement après 16 heure car ;

- D'une part les colonies de *Clostridium sulfito-réducteurs* sont envahissantes on peut se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse est à refaire.
- D'autre part il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussée en masse et d'un diamètre supérieur à 0.5mm

Dans le cas où il n'y a pas de colonies caractéristique ré-incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24 h voire 48h.

IV.2.2.6. Recherche et dénombrement des levures et moisissure dans le produit fini

Principe (JORA ,1998)

Le milieu utiliser doit inhiber toutes les bactéries. Il doit donc renfermer une substance inhibant leur développement, la substance choisie est une oxytetracycline glucosé agar (OGA) ou sabouraud au chloramphénicol. L'examen des milieux solides ensemencés avec un volume précis du produit ou d'une dilution, permet de conclure le dénombrement.

Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 4 gouttes dans une boîte pétrie contenant de la gélose OGA ou sabouraud au chloramphénicol
- Etaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile, puis incubé à 22°C pendant 5 jours.

Dans le souci de ne pas se trouver en face de boîtes envahies soit par les levures soit par les moisissures, on doit effectuer des lectures et des dénombrements tous les jours, levure à part et moisissures à part.

IV.2.3. Méthodes d'analyses physico-chimiques

L'analyse physico-chimique a pour but de contrôler la stabilité en vue de conserver ses caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles.

Les analyses physico-chimiques sont effectuées selon les méthodes officielles normalisées par (AFNOR 1986) et appliquées au niveau du laboratoire physico-chimique de l'unité du groupe orangeChrèa.

IV.2.3.1. Eau de Process

IV.2.3.1.1. Détermination du pH

Le pH est un indice permettant de mesurer l'activité des ions hydrogènes dans une solution.

Principe (ISO, 1842-1991)

Il est mesuré à l'aide d'un pH mètre qui est équipé d'une sonde de pH. Cet équipement doit être étalonné chaque matin avant de commencer l'analyse.

Mode opératoire :

- Mise sous tension du pH.
- Etalonnage de pH mètre par des solutions à pH connu.

- Introduire l'électrode dans la solution à contrôler.
- Laisser la valeur indiquée se stabiliser.
- Faire la lecture du pH directement sur l'écran.
- Rincer l'électrode à l'eau distillée après chaque utilisation.

IV.2.3.1.2. Détermination du titre alcalimétrique (TA)

Cette méthode consiste à mesurer la teneur en alcali libre, et en carbonates et bicarbonates alcalis caustiques.

Principe (AFNOR, 1986)

Ces déterminations sont basées sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide dilué en présence d'un indicateur coloré (le phénophtaléine).

Mode opératoire

- Verser 100 ml d'eau à analyser dans un bécher de 200 ml ;
- Ajouter 3 gouttes de phénophtaléine, une coloration rose doit apparaître.
- Verser ensuite doucement l'acide sulfurique ou HCl à l'aide d'une burette, en agitant constamment et ceci jusqu'à la décoloration complète de la solution ;
- Noter le volume V utilisé, celui-ci correspond au TA.
- Dans le cas contraire (pas de coloration), le TA=0.

Expression des résultats

- Si on n'a pas de coloration TA=0
- Si on a une coloration : TA=V

V : étant le volume nécessaire pour la décoloration de la solution.

Le titre alcalimétrique est exprimé en degré français (°F).

IV.2.3.1.3. Détermination du titre alcalimétrique complet (TAC)

Principe (AFNOR, 1986)

Ces déterminations sont basées sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un indicateur coloré (méthyle orange).

Mode opératoire

- Utiliser l'échantillon traité précédemment ou le prélèvement primitif s'il n'y a pas de coloration.

- Ajouter deux gouttes de méthyle orange avec l'acide sulfurique titré jusqu'au virage de jaune au jaune orange.
- Noter le volume V depuis le début du dosage, celui-ci correspond au TAC.

Expression des résultats

$$\text{TAC} = (V-0,1) *5$$

V : le volume d'acide a 0,02N versés depuis le début du dosage

5 : constante liée à l'ion d'hydroxyde, carbonates et bicarbonates dans l'eau

IV.2.3.1.4. Dosage de chlorures

Principe (ISO 7393/3 :1989)

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium. La fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

Mode opératoire

- Introduire 10ml d'eau à analyser, dans une fiole conique de 250ml.
- Ajouter 2 à 3 gouttes d'acide nitrique pur, puis une pincée de carbonate de chaux et 10 ml de solution de chromate de potassium à 10%.
- Verser alors au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à apparition d'une teinte rougeâtre, qui doit persister 1 à 3 min.

Soit V le nombre de millilitre de nitrate d'argent 0,1 N utilisé.

Expression des résultats :

$$\text{Cl mg/l} = v *35.5$$

35.5 : masse molaire de chlore

V : volume de nitrate d'argent

IV.2.3.2. Analyses physicochimique du produit fini

IV.2.3.2.1. Détermination de pH(ISO, 1842-1991)

IV.2.3.2.2. Détermination du degré Brix

Principe (AFNOR, 1986) : L'indice de réfraction « Brix » permet de connaître le degré de pureté d'un liquide ou la dose de solide (matière sèche) dissout dans une solution.

1° Brix=1g de sucre dans 100g de boisson

Mode opératoire

- Nettoyer et sécher le prisme en utilisant de l'eau distillée.
- Etalonner le refractomètre à « 0 » par l'eau distillée.
- Laisser s'écouler suffisamment le temps pour que la température se stabilise (10 seconde en générale).
- Appuyer et maintenir la touche zéro enfoncée pendant 4 secondes.
- L'écran affiche « 0000 » au début du calibrage.
- Une fois le calibrage terminé l'écran affiche « 000 ».
- Remplir l'assiette du prisme.
- Appuyer sur la touche READ.
- Après avoir effectué une mesure l'échantillon doit être retiré et le prisme nettoyé.

IV.2.3.2.3. Détermination de l'acidité

Principe (NF 05-101-01/1974) : La détermination de l'acidité est réalisée par une méthode titrimétrique à l'aide d'une base de normalité connue.

Mode opératoire

- Prélever 50 ml du produit.
- Ajouter 10 gouttes d'indicateur coloré, le phénophtaléine (1%).
- Remplir la burette avec la solution NaOH de normalité 1N.
- Faire le titrage jusqu'au virage pâle.
- Lire la quantité de la soude versée.

Expression des résultats : L'acidité titrable est exprimée en gramme par litre (g/l) de la boisson.

$$\text{Acidité} = v * 1.28$$

V : volume de la chute de burette (ml).

1.28 : facteur de coefficient d'acide citrique.

IV.2.3.2.4. Dosage de la vitamine C (AFNOR, 1986)

Principe

Le dosage de la vitamine C est basé sur la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide.

Mode opératoire

- Prendre 100 ml du produit dans une erlenmeyer de 250 ml ;
- Ajouter 2 ml d'empois d'amidon (2g/100 ml) ;
- Effectuer le titrage par l'iode 0,1N jusqu'à l'apparition d'une coloration violet.

Expression des résultats

$$\text{Teneur en vit C (mg/l)} = V * 20 * 4,4$$

V : volume en ml d'iode utilisé pendant le titrage

IV.2.3.2.5. Détermination de l'activité antioxydante

Les mesures de l'activité antiradicalaire libre « DPPH » ont été effectués selon la procédure de Sa'nchez-Moreno et *al.* (1998). Avec quelques modifications. Brièvement, 0.1ml d'échantillon de jus (dilué avec l'eau déminéralisée et centrifugé) a été ajouté à 2.46ml de 1,1-diphenyl-2 - picrylhydrazyl le radical (DPPH ; 0.025 g/l dans éthanol de 50 %) et mixte par tourbillon pendant 5 min. L'absorbance des échantillons a été mesurée à 515nm chaque 1 minute pendant 5 minutes utilisant le spectrophotomètre Genesys 2 (Milton Roy, les USA). Pour chaque échantillon, trois déterminations séparées ont été effectuées. L'activité d'antioxydant a été exprimée par le pourcentage de diminution de l'absorbance après 1 minute, par rapport au témoin, ce qui correspond au pourcentage de DPPH qui a été balayé. Le pourcentage de DPPH (inhibition%) qui a été piégé ou balayé, est calculé comme suivant :

Expression des résultats

$$\% \text{DPPH (inh \%)} = (\text{Abs de cont} - \text{Abs d'éch}) * 100 / \text{Abs de cont}$$

%inh : le pourcentage d'inhibition

Abs de cont : Absorbance de contrôle

Abs d'éch : Absorbance d'échantillon

IV.2.4. Analyses sensorielle

Examen des attributs organoleptiques d'un produit par les sens. Pour nos trois boissons conservées à trois différentes températures le goût, l'odorat et la couleur sont sollicités dans cette analyse sensorielle.

Produit à déguster :

Trois boissons à concentré de jus d'orange « Chrea pulpe », conservées pendant trois mois à trois différentes températures 4°C, 25°C et 37°C.

Le jury de dégustation :

Les jurys de dégustation, représentent l'exploitation systématique dans les conditions statistiquement valable, des réactions de groupe de consommateur ou de personnes spécialement entraînées auxquelles on demande leurs avis sur les caractères organoleptiques du produit.

Démarche :

- Il s'agit de présenter simultanément aux personnes la boisson d'orange ;
- Présenter à chaque dégustateur un formulaire (fiche de dégustation délivré par l'entreprise) ;
- Dans notre cas, le membre de jury est composé de 3 personnes.

Fiche de dégustation

Produit : Boisson Chréapuple

Nom :

Prénom :

Sexe : M/F

Fumeur : Oui/Non

Température de stockage	Goût	Odeur	Couleur
4 °C			
25°C			
37°C			

Goût :

3 : saveur agréable

2 : peu acide

1 : très acide

0 : repousse le dégustateur

Couleur :

3 : orange

2 : orange foncé

1 : rouge orange

0 : brunâtre

Odeur :

3 : fraiche caractéristique

2 : sans odeur, légèrement acide

1 : acide prononcée

0 : repousse le dégustateur

Chapitre V

Résultats et discussion

V.1. Résultats des analyses microbiologiques

V.1.1. Résultats des analyses microbiologiques des matières premières

V.1.1.1. Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de procès

Tableau 7: Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de procès

Germe	L'eau de procès	Norme JORA
<i>Germes aérobies à 37°C/ml</i>	Abs	20
<i>Germes aérobies à 22°C/ml</i>	Abs	100
<i>Coliformestotaux 37°C</i>	Abs	10
<i>Coliformesfécaux 44°C</i>	Abs	Absence
<i>Streptocoque D</i>	Abs	Absence
<i>Clostridium S.R a 46°C</i>	Abs	Absence

L'eau est un élément très important dans l'industrie agro-alimentaire, utilisée comme élément pour le lavage, nettoyage ainsi pour la reconstitution. Sa qualité microbiologique est liée directement avec la qualité microbiologique du produit fini.

Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process montrent l'absence totale des germes aérobies, coliformes totaux est fécaux, streptocoques et les Clostridium sulfito-réducteurs. Ces résultats sont conformes aux normes de **JORA (1998)**, cela nous permet de dire que l'eau utilisée pour la préparation de la boisson gazeuse est de bonne qualité microbiologique. Ces résultats révèlent une bonne qualité hygiénique et confirment aussi :

- Une bonne maîtrise du déroulement des étapes de traitement des eaux.
- Une bonne fiabilité des traitements des eaux, des traitements de désinfection et celui de chloration sur la qualité des eaux de process.

Selon **Vierling (2008)**, l'eau souterraine est une eau saine et pure protégée contre les risques de pollution, elle subit un traitement physique (chloration, filtration) ce qui justifie l'absence totale des germes pathogènes et non pathogènes.

Potelon et Zysman (1998) ont interprété cette absence par l'efficacité du traitement de chloration et de temps de contact satisfaisant pour la destruction des germes présents dans l'eau.

V.1.1.2. Résultats des analyses microbiologiques de sucre

Les résultats des analyses microbiologiques de sucre concernant la recherche des germes de contamination fécale, les germes d'altération et ceux qui sont considérés comme un maillon de risque comme les germes pathogènes.

Tableau 8 : Résultats des analyses microbiologique de sucre

<i>Germe (germe/ g)</i>	Sucre à analyser	Normes JORA
<i>Germes totaux</i>	Abs	200germes /g
<i>Clostridium S.R</i>	Abs	10 spores/g
<i>Levures et moisissure</i>	Abs	Absence

D'après les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur le sucre on observe une absence des germes totaux, les levures et les moisissures ainsi que les germes pathogènes (*Clostridium sulfitoréducteur*).

Ces résultats montrent une conformité aux normes établies par **JORA (1998)**, d'après ces résultats, on conclut le bon respect d'hygiène du personnel, des manipulations et des équipements utilisés en fabrication, ainsi les bonnes conditions de stockage.

Selon **Auclaire et Richard (1986)**, l'humidité élevée dans un lieu de stockage favorise la prolifération des germes saprophytes contaminatrices surtout les levures et les moisissures pouvant détériorer le produit.

V.1.2. Résultats des analyses microbiologiques du Produit fini

Tableau 9: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis au jour de production.

	Boisson Gazeuse à 4 C°	Boisson Gazeuse à 25 C°	Boisson Gazeuse à 37 C°	Norme JORA
<i>Coliformes totaux 37°C</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Coliformes fécaux à 44°C</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Streptocoque D</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Clostridium S. R</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Levures</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Moisissures</i>	Abs	Abs	Abs	Absence

Tableau 101: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 15 jours de stockage.

	Boisson Gazeuse à 4 C°	Boisson Gazeuse à 25 C°	Boisson Gazeuse à 37 C°	Norme JORA
<i>Coliformes totaux 37°C</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Coliformes fécaux à 44°C</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Streptocoque D</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Clostridium S. R</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Levures</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Moisissures</i>	Abs	Abs	Abs	Absence

Tableau 2: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 30 jours de stockage.

	Boisson Gazeuse à 4 C°	Boisson Gazeuse à 25 C°	Boisson Gazeuse à 37 C°	Norme JORA
<i>Coliformes totaux 37°C</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Coliformes fécaux à 44°C</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Streptocoque D</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Clostridium S. R</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Levures</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Moisissures</i>	Abs	Abs	Abs	Absence

Tableau 12: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 45 jours de stockage.

	Boisson Gazeuse à 4 C°	Boisson Gazeuse à 25 C°	Boisson Gazeuse à 37 C°	Norme JORA
<i>Coliformes totaux 37°C</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Coliformes fécaux à 44°C</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Streptocoque D</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Clostridium S. R</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Levures</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Moisissures</i>	Abs	Abs	Abs	Absence

Tableau13: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 60 jours de stockage.

	Boisson Gazeuse à 4 C°	Boisson Gazeuse à 25 C°	Boisson Gazeuse à 37 C°	Norme JORA
<i>Coliformes totaux 37°C</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Coliformes fécaux à 44°C</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Streptocoque D</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Clostridium S. R</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Levures</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Moisissures</i>	Abs	Abs	Abs	Absence

Tableau 14: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 75 jours de stockage.

	Boisson Gazeuse à 4 C°	Boisson Gazeuse à 25 C°	Boisson Gazeuse à 37 C°	Norme JORA
<i>Coliformes totaux 37°C</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Coliformes fécaux à 44°C</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Streptocoque D</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Clostridium S.R</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Levures</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Moisissures</i>	Abs	Abs	Abs	Absence

Tableau 15: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les produits finis après 90 jours de stockage.

	Boisson Gazeuse à 4 C°	Boisson Gazeuse à 25 C°	Boisson Gazeuse à 37 C°	Norme JORA
<i>Coliformes totaux 37°C</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Coliformes fécaux à 44°C</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Streptocoque D</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Clostridium S.R</i>	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Levures</i>	Abs	Abs	Abs	10
<i>Moisissures</i>	Abs	Abs	Abs	Absence

Les résultats de contrôle microbiologique des boissons gazeuses sont résumés dans les tableaux (9-15). D'après les résultats obtenus nous remarquons que les différents échantillons ont montré une absence totale des indicateurs de contamination fécale (coliforme totaux et coliforme fécaux) et les streptocoques fécaux ainsi pour les germes pathogènes (*Clostridium*).

Ces résultats témoignent une bonne qualité microbiologique et hygiénique de la matière première (sucre, eau gazéifié...) et de l'emballage, tout cela confirme une bonne maîtrise de la manipulation.

En ce qui concerne les germes d'altération nous remarquons aussi une absence des levures et des moisissures. Ces résultats sont conformes aux normes **JORA (1998)**.

Cette absence peut être expliquée par :

- Un pH bas, rend le milieu défavorable au développement des bactéries (**Bourgeois, 1996**).
- La préservation de la qualité bien que la température soit favorable au développement microbien s'explique par l'étanchéité de l'emballage aux microorganismes qui constitue une barrière physique (**Multon et Bureau, 1998**).
- La bonne maîtrise et la bonne pratique des manipulations et de préparation et la bonne pratique d'hygiène (**Hesley et Leclerc, 1993**).
- Absence totale des germes pathogènes qui sont responsables dans la plupart des toxi-infections alimentaires surtout l'espèce *Clostridium perfringens* qui est responsable des toxi-infections alimentaires industrielles ces résultats indiquent la bonne hygiène.
- D'après **Parish et Higgins (1998)** un pH inférieur à 4.5 défavorise le développement des germes pathogènes.
- D'après **Albagnacet al. (2002)**, l'absence des levures et moisissure revient à l'action de CO₂ qui a une action inhibitrice sur la croissance de certains microorganismes en particulier les moisissures.

Selon **Kouassi et al. (2008)**, l'absence des coliformes totaux et fécaux et les germes anaérobies sulfite-réducteurs fait de notre produit un aliment présentant une qualité microbiologique très satisfaisante.

VII.2. Résultats des analyses physico-chimiques

VII.2.1. Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau

Tableau 16: Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau.

Produit Analyses	Eau de process		Norme AFNOR
	Sortie Adoucisseur	Cuve de stockage	
TA (°F)	0	0	0
TAC	0	0	0
TH	0,9	3,6	0 à 5
Cl	30	30	Max 40
pH	7,9	8,02	7 à 8,5

Interprétation :

Les valeurs de tous les paramètres analysés, sont conforme aux normes **AFNOR** ceci montre que le traitement est efficace et l'eau est conforme à la norme exigée par l'entreprise.

VII.2.3. Résultats des analyses physico-chimiques du produit fini

VII.2.3.1. pH

Tableau 17 : Changement du pH de la boisson pendant 3 mois de stockage à 4°C, 25°C et 37°C.

Temps Températures	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
4°C	2,96	3,05	3,0	2,96	2,90	2,99	2,86
25°C	2,96	3,0	2,97	2,96	2,86	2,93	2,85
37°C	2,96	2,92	2,89	2,85	2,77	2,78	2,85

D'après les résultats obtenues, on remarque que les valeurs des pH pour les quatre préparations varient entre [2,77 ; 3,05], ces résultats sont conformes aux normes internes de l'entreprise [2,3 ; 3,5].

Dans les différentes boissons on observe des modifications au niveau du pH au cours de stockage, cela peut être expliqué par la neutralisation d'une quantité de l'acide citrique avec le benzoate de sodium (Vierling, 1998).

Le pH a une importance au moment de stockage des différents aliments, c'est un indice d'acidité de neutralité ou même d'alcalinité des solutions aqueuses (Louze, 2002).

Un milieu acide avec un pH inférieur à 4.5 est favorable à la conservation des boissons, cependant ce pH peut varier en fonction de la température (Vierling, 2008). On peut considérer qu'un pH acide augmente légèrement avec la température (Vaubourdolle, 2007).

D'après Multon et Bureau (1998), le PET possède une grande inertie thermique, donc le stockage du produit dans des bouteilles en PET a joué aussi un rôle dans la stabilité du produit.

VII.2.3.2. Brix :Le principe est de mesurer en degré Brix (°B) la fraction de saccharose dans un liquide, c'est à dire le pourcentage de la matière sèche soluble (Bourgeois, 1991).

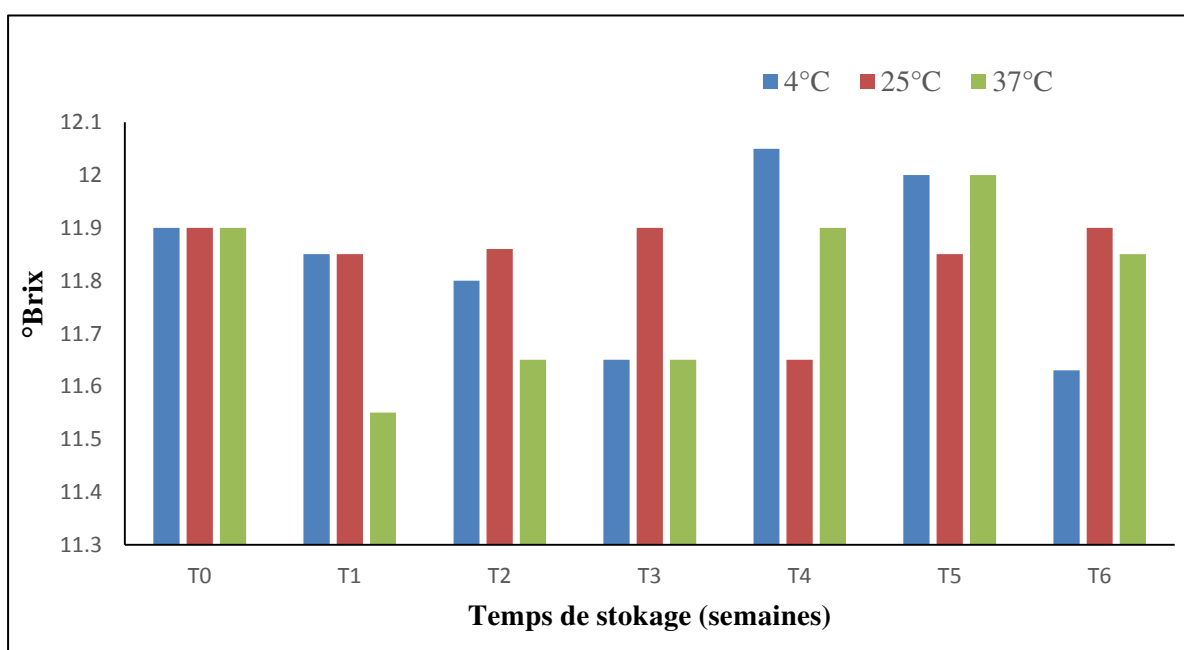


Figure 3: Histogramme représentant les changements des valeurs du Brix dans la boisson gazeuse pendant 3 mois de stockage à 4°C, 25°C et 37°C.

D'après les résultats obtenus on remarque une stabilité de la valeur de Brix pendant les premières semaines pour tous les échantillons, puis une légère augmentation à la fin de la période de stockage, mais elle reste toujours conforme aux normes internes de l'entreprise.

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

Le degré de Brix mesure le pourcentage de la matière solide en solution et peut donc être influencé par la présence de sel ou d'acide (Veron, 2001).

Les boissons gazeuses qui sont fabriqués à partir de saccharose peuvent subir une décomposition pour former le fructose et glucose due à l'acidité des boissons (Gilles, 2005).

VII.2.3.3. Acidité

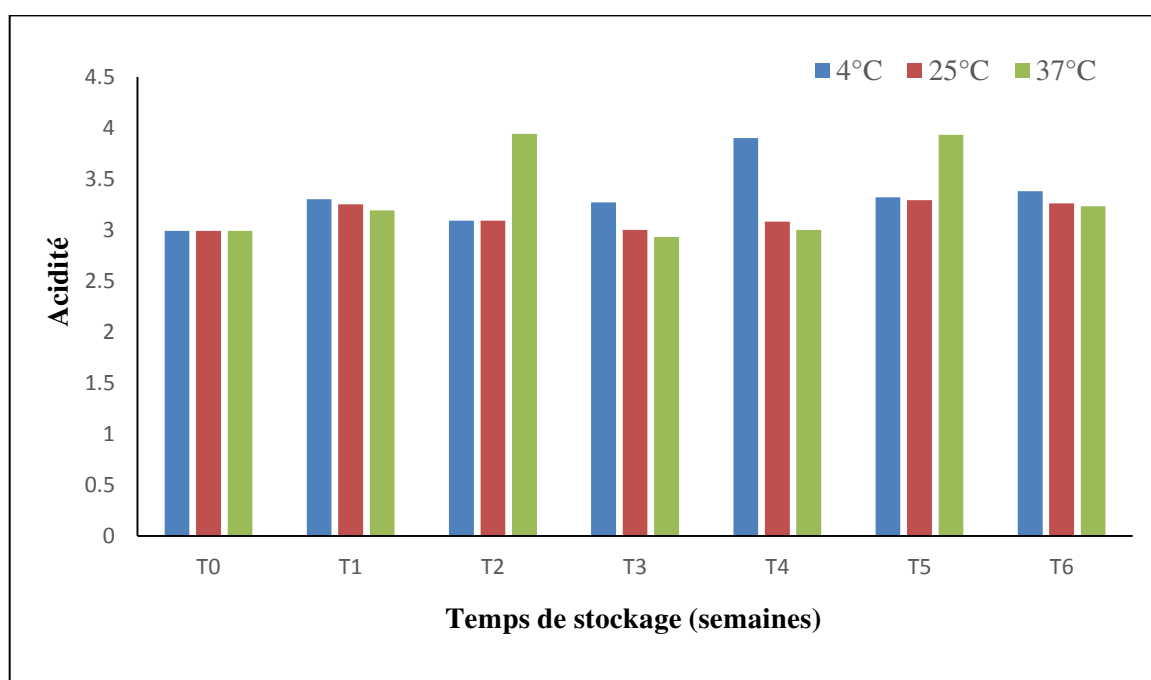


Figure 4: Histogramme représentant les changements de l'acidité de la boisson pendant 3 mois de stockage à 4°C, 25°C et 37°C.

A partir de la figure on remarque une stabilité de la valeur d'acidité durant toute la période de stockage, mais elle reste toujours conforme aux normes internes de l'entreprise.

Le pH indique l'acidité ou l'alcalinité d'un produit, tandis que l'acidité titrable indique la quantité d'acide présente dans ce produit (**Dadzie et Orchard, 1995**).

La diminution de l'acidité est due à la disparition de l'acide citrique par sa neutralisation avec le benzoate de sodium, mais aussi à la dissolution du dioxyde de carbone dans la boisson à cause de la température (**Rochester, 1970**).

VII.2.3.4. Vitamine C

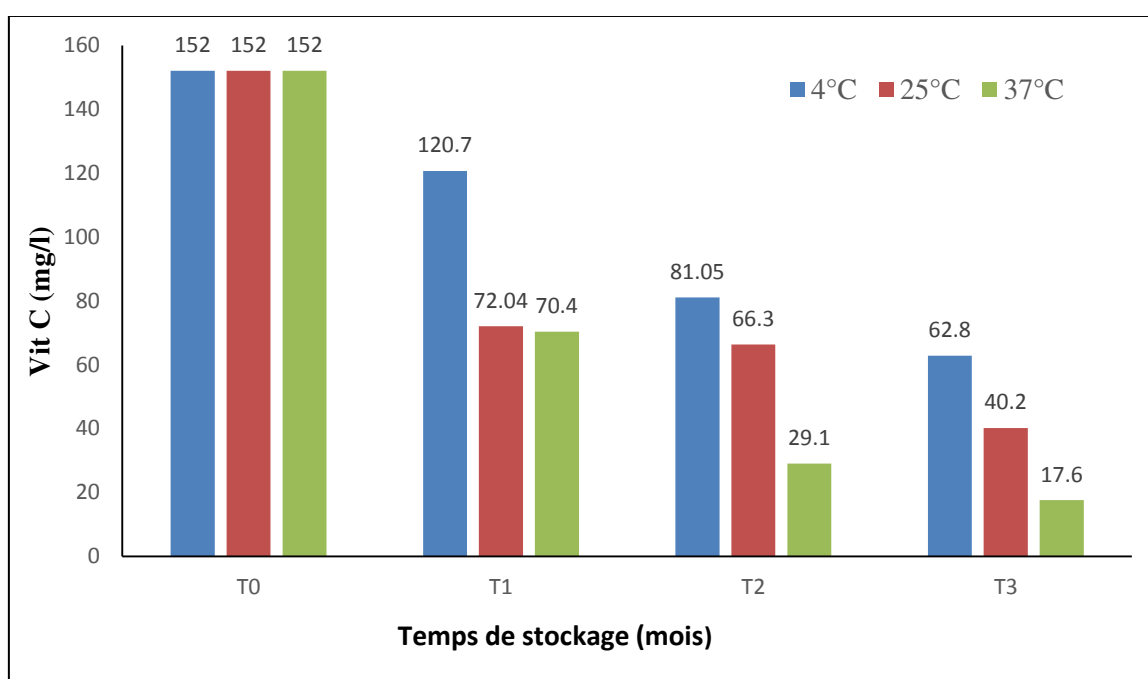


Figure 5: Histogramme représentant les changements dans la teneur en vitamine C dans la boisson pendant 3 mois de stockage à 4°C, 25°C et 37°C.

Les jus d'orange et les boissons à base d'orange sont une source riche de vitamine C, qui est un antioxydant important (**Miller and Rice-Evans, 1997 ;Rapisardaet al.,1999 ; Gardner et al., 2000 ; Arenaet al., 2001**). La concentration de la vitamine C dans le jus est un indicateur majeur d'une bonne qualité et elle peut même servir comme un indicateur, en indiquant que tous les processus qui assurent la bonne qualité du produit ont été appliqués dans le processus de production (**Post, 1998**). Dans cette étude, la teneur en vitamine C dans la boisson à base de concentré d'orange, est d'environ 152 mg/l.

Une étude précédente dans 14 jus d'oranges commercialisés, délivrés par différents fabricants, ont été analysés, a montré qu'ils contenaient entre 150mg/l et 440mg/l de vitamine C (**Gliszczyn et al., 2004**).

Parmi tous les composés analysés, la vitamine C a été la plus affectée par la température et le temps de stockage. Au bout de 3 mois de conservation à 4, 25 et 37 ° C, la teneur en vitamine C a baissé de 59%, 74% et 88%, respectivement. Les résultats présentés sont en ligne avec les données obtenues par **Kabasakaliet al. (2000)** et **Arenaet al. (2001)**, qui font état d'une diminution de la teneur en acide ascorbique dans les jus d'orange commerciaux après stockage.

Selon des études précédentes, la teneur en Vitamine C dans différents jus diminue au cours du stockage, dépendamment des conditions de stockage telles que la température, l'oxygène et la lumière (**Kabasakaliet al,2000 ;Zerdinet al, 2003**). Au cours du stockage réfrigéré, il a été prouvé que les boissons à base de jus sont sujettes à la dégradation de l'acide ascorbique et la perte d'autres nutriments essentiels pour la bonne santé, en particulier lors d'un stockage prolongé.

La perte en acide ascorbique est diminuée lorsque le jus est stocké à la température de réfrigération. Ceci a été confirmé par l'enquête précédente que le stockage à basse température pourrait ralentir le taux de dégradation de vitamine C (**Burdurluet al, 2006**). La diminution de l'acide ascorbique avec l'augmentation de la température de stockage est en corrélation avec des études antérieures.

Par la suite, l'oxydation de l'acide ascorbique va changer sa forme réduite pour devenir la forme oxydée ou connu comme l'acide déhydroascorbique. L'acide déhydroascorbique subit une hydrolyse à l'acide 2,3-dicétogulonique, qui ensuite polymérise et forme d'autres produits inactifs sur le plan nutritionnel.

VII.2.3.5. Détermination de l'activité antioxydante

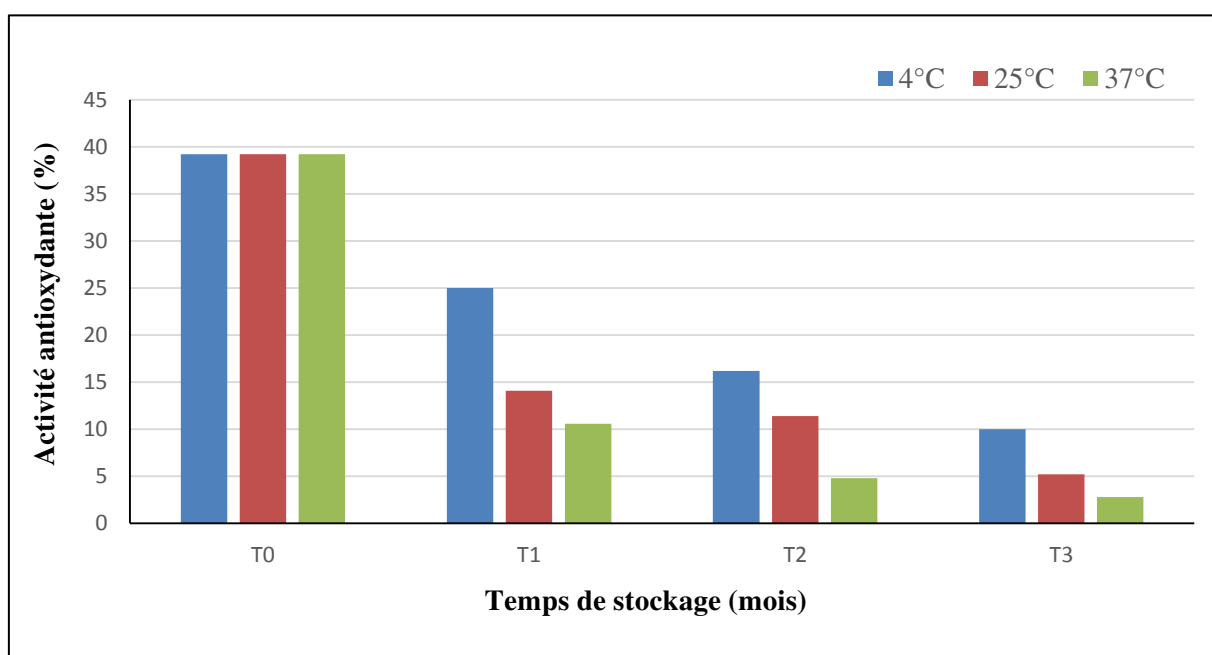


Figure 6: Histogramme représentant les Changements de l'activité antioxydante (mesurée par DPPH) dans la boisson pendant 3 mois de stockage à 4°C, 25°C, 37°C.

La figure 6 présente les résultats de l'activité antioxydante obtenue pour les boissons à base d'orange testées dans la présente étude. D'après le test de réduction du radical DPPH, l'activité antioxydante de la boisson est de 39,2% DPPH réduit (c.à.d. après une minute de temps en même solution, la vitamine C de la boisson a réduit 39,2%) du radical DPPH. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans une précédente étude (**Ma "Ecka et al, 2003**), dans lequel les jus d'orange réduisent 33-49% du DPPH.

L'activité antioxydante des boissons analysées dans la présente étude est diminuée par 75%, 87% et 92% après 3 mois de stockage à 4, 25 et 37 ° C, respectivement. Nos résultats coïncident avec ceux obtenus par **Arena et al. (1999)** et **Piga et al. (2002)**. **Arena et al. (1999)** ont montré la diminution de l'activité antioxydante au bout de 2 mois de stockage dans les jus d'orange reconstitués à partir de concentré d'orange. Selon **Piga et al. (2002)** la diminution de l'activité antioxydante peut être liée à une plus faible teneur en vitamine C dans le jus stocké par rapport aux frais.

Le jus qui a montré une activité antioxydante élevée contenait une concentration plus élevée de la vitamine C.

VII.3. Résultats des analyses organoleptiques

VII.3.1. Odeur

Tableau 18: Résultats des analyses organoleptiques (Odeur)

Temps Températures	T₀	T₁	T₂	T₃
4°C	3	3	1	1
25°C	3	2	2	1
37°C	3	2	1	0

VII.3.2. Goût

Tableau 19 : Résultats des analyses organoleptiques (Goût)

Temps Températures	T₀	T₁	T₂	T₃
4°C	3	3	3	2
25°C	3	2	2	1
37°C	3	1	1	0

VII.3.2. Couleur

Tableau 20:Résultats des analyses organoleptiques (Couleur)

Temps Températures	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
4°C	3	3	3	2
25°C	3	3	2	2
37°C	3	2	0	0

Les modifications des caractères organoleptiques de la boisson qui est stockée à une haute température pendant 3 mois peuvent être expliqués par :

- Le brunissement non enzymatique : **Romanet al, (2006)** ont montré que la réaction de Maillard est fortement influencée par le couple température-temps appliqués au produit.
- La dégradation de la vitamine C et l'apparition des composés volatiles odorants à impact négative (le furfural), et la formation de composés bruns responsables d'une modification de couleur (**Berlinet, 2006**).
- L'augmentation du barème temps température a un effet négatif sur la fraction aromatique du jus (**Moshonaset Shaw, 2000 ; Bazemoreet al., 1999**) en étudiant les composés formés dans des jus d'orange excessivement chauffés à 96°C pendant 240 secondes, ont montré l'existence d'une perte d'intensité pour le terpinen-4-ol et le 4-vinylgàicolqui sont responsables de l'arôme oxyde et cuit dans le jus.
- Ainsi l'altération de couleur peut être due à l'instabilité des anthocyanes (Les anthocyanes changent facilement de couleur sous l'action d'un long chauffage (**Benamara et Agougou, 2003 ; Zhenget al, 2007**) ont confirmé qu'une dégradation des anthocyanes est dépendante de la durée du procédé et de sa température.

Conclusion

Notre travail avait pour objectif d'étudier l'effet de la température et de la durée de conservation sur la stabilité de la vitamine C ainsi que sur son activité antioxydante, dans une boisson gazeuse à base de concentré d'orange. Le stockage s'est déroulé pendant trois mois à trois températures différentes soient : 4, 25 et 37°C. En plus de la vitamine C, d'autres paramètres microbiologiques et physico-chimiques ont été suivis.

Les résultats obtenus indiquent que, parmi tous les paramètres analysés, la vitamine C a été la plus touchée par la durée de stockage et la température du stockage. La diminution de sa teneur dans la boisson lors du stockage se traduit par la réduction du radical DPPH donc la diminution de l'activité antioxydante.

La sécurité microbiologique de la boisson d'orange pendant le stockage réfrigéré (4°C) pendant 90 jours n'a pas montré de différence significative, elle était donc sans danger pour la consommation. En effet, la conservation du jus dans ces dernières conditions pourrait fournir plus d'avantages pour la santé qu'à des températures plus élevées. En outre, la quantité de vitamine C nécessaire pour les adultes est d'environ 80 mg / jour sur la base des apports nutritionnels recommandés (AJR). La vitesse de dégradation de l'acide ascorbique peut être prévenue en stockant les boissons à base de concentré d'orange à des températures plus basses.

Cette étude sur la dégradation de la vitamine C dans la boisson d'orange serait utile pour les consommateurs d'obtenir plus de perspicacité sur la diminution de la qualité nutritionnelle des boissons fruitées lors du stockage.

En perspectives, il serait souhaitable de faire des tests pour des températures plus élevées 40-45 °C (en été) et dans des conditions réelles c'est-à-dire prendre des échantillons chez des grossistes où les bouteilles sont bien exposées au soleil, tel qu'on observe au quotidien !.

Annexe

Annexe 01

Tableau 9: les principaux additifs conservateurs utilisés dans les boissons gazeuses sucrées (Multon, 2002).

dénomination	Source	Code	Formule brute	D J A (mg/Kg(propriété
Acide sorbique	Naturel ou synthétique	SIN 200	C6H8O2	0 ?25	Antibactérien et antifongique
Acide benzoïque	synthétique	SIN 210	C6H6O2	5	antifongique
Benzoate de sodium	Synthétique	SIN 211	C6H5COONa	5	Possède une certaine activité contre Listeria
Acide lactique	naturel	SIN 270	C3H6O3	Non spécifiée	antibactérien
Anhydride carbonique	synthétique	SIN290	CO2	Non spécifiée	Antibactérien et antifongique

Tableau 10: les principaux colorants naturels utilisé dans les boissons gazeuse sucré : (moll et al, 1998_multon, 2002).

Colorant	Source	Code	Couleur	DJA (mg/Kg°
Curcumine	Extrait de safran	Sin 100	Jaune orangé	0,1
Riboflavine ou lactoflavine	A partir de levure, germes de blé, œufs, foie d'animaux	Sin 101	Jaune orangé	0,5
Cochenille ou acide carminique	A partir des corps desséchés des familles de l'insecte <i>coccus cacti</i> renfermant surtout des œufs de jeunes larves	Sin 120	Rouge	5
Caramel	Obtenue par l'action contrôlée de la chaleur sur des sucre des nutritifs	Sin 150	Brun	Non spécifiée
Caroténoïde	Dans les végétaux, fruit (citron, pêche abricot...) légumes (tomates, carotte)	Sin 160	Nuances divers	5
Xanthophylles	Obtenue par extraction a l'hexane de la durée alimentaire avec l'élimination du solvant	Sin 161	Nuances diverse	Non attribuée
Rouge des betteraves ou betanine	A partir des racines de la betterave rouge	Sin 162	Rouge	non spécifiée

Tableau 11: les principaux colorants de synthèse utilisé dans les boissons gazeuse sucré : (Multon, 2002).

Colorant	Code	Couleur	DJA (mg/Kg)	toxicité
Tartazine	Sin 102	Jaune	7,5	Peut présenter des risques d'allergie
Jaune de quinoléine	Sin 104	Jaune	10	Aucun effet n'a ce jour
Jaune orangée S	Sin 110	Orange	2,5	Réactions possible chez les personne sensible a l'aspirine
Azorubine ou carmoisine	Sin 122	Rouge	4	Réaction possible chez les asthmatiques
Rouge cochenille	Sin 124	Rouge	4	Déconseillé pour les asthmatiques
Erythrosine	Sin 127	Rouge	1,25	Risque d'hyperthyroïdie
Bleu patenté	Sin 131	Bleu	15	Déconseillé pour les personnes allergiques
Indigotine ou carmine d'indigo	Sin 132	Bleu	5	Déconseillé pour les personnes allergiques
Vert s	Sin 142	Vert	5	A fort dose augmente l'appétit

Annexe 02

Tableau 12: Milieux de culture et leurs compositions.

Milieux de culture	Composition des milieux
Gélose sabouraud pH=6.3	. peptone de viande.....5g . peptone de caséine.....5g . glucose massé.....20g . agar- agar15g . eau distillée.....1000ml . vitamine et facteur de croissance
Milieu VF (viande foie) pH=7.5	.Extrait de viande foie.....30g .glucose.....2g .amidon.....2g .gélose.....12g
Gélose VRBL	.peptone.....7g .extrait de viande.....3g .lactose.....10g .désoxycholate de sodium.....1.5g .cristal violet.....2mg .chlorure de sodium.....5g .agar.....15g .eau distillée.....1000ml
Milieu Eva-litsky pH=6.8	.peptone.....20g .glucose.....5g .chlorure de sodium.....5g Phosphate di potassique.....2.7g .phosphate mono potassique.....2.7g .eau distillée.....1000ml
Eau physiologique pH=7.5	.NaCl.....9g .eau distillée.....1000ml
Milieu VBL pH=7.4	.peptone.....7g .extrait de levure.....3g .lactose.....10g .chlorure de sodium.....0.5g . mélange sel biliaire.....1.5g .cristal violet.....0.002g .rouge neutre.....0.03g .agar- agar15g .eau distillée.....1000ml
OGA	.peptone.....23g .amidon.....1g .sodium chlorure.....5g .esculine.....1g

	.fer ammonium citrate.....0.5g .Lithium chlorure.....15g .agar.....13g
Milieu Roth pH=6.8	.peptone.....20g .glucose.....5g .acide.....0.2g .NaCl.....5g .hydrogenophosphate de potassium.....2.7g .dihydrogenophosphate de potassium.....2.7g
Milieu TERGITOL	.Peptone..... 10 g .Extrait de viande5g .Extrait de levure6g .Lactose20g .Tergitol..... 0,01g .Bleu de bromothymol.....0,05g .Agar13g
Bea	-Peptone:.....17,0 g -Peptone pepsique de viande:.....3,0 g -Extrait de levure:.....5,0 g - <u>Esculine</u> :.....1,0 g - <u>Citrate</u> de sodium:.....1,0 g -Citrate de fer ammoniacal:.....0,5 g -Bile de bœuf déshydratée:.....10,0 g - <u>Azide de sodium</u> :0,25 g - <u>Chlorure de sodium</u> :.....5,0 g
Gélose de Slanetz	<u>Agar-agar</u>10 g <u>Peptone</u>20 g <u>Azide de sodium</u>0,4 g <u>Glucose</u>2 g TTC (chlorure de 2-3-5 triphényl- tétrazolium).....0,1 g

Annexe 03

Matériels utilisé pendant les manipulations

1-matériels d'analyse microbiologique



Bain marie.



2-matériels d'analyse physico-chimique

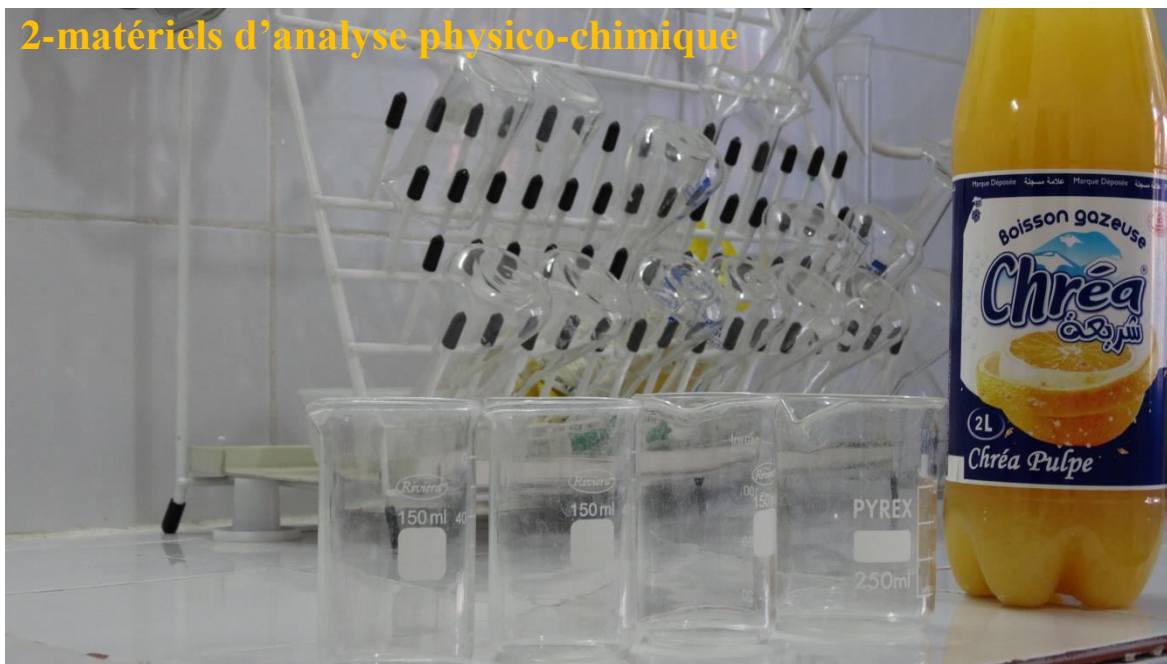


Figure 4: pH mètre.



Figure 5: Réfractomètre.



Figure 6: Burette + Agitateur.



Figure 7: Centrifugeuse.

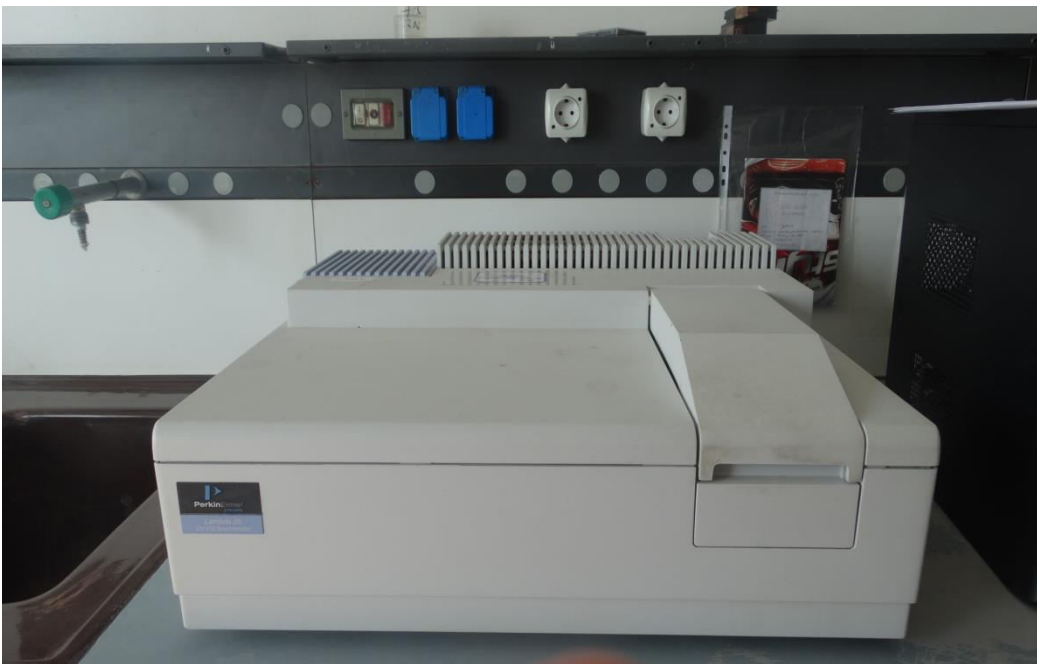


Figure 8: Spectrophotomètre.



Figure 9: Spectrophotomètre relié à un ordinateur.

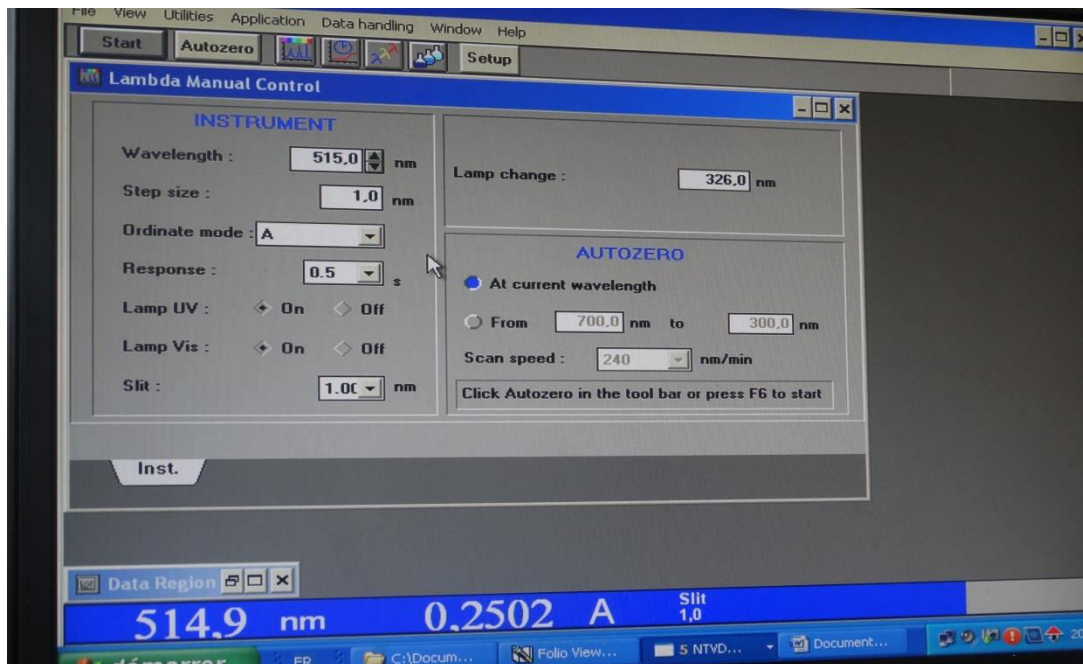


Figure 10 : Logiciel informatique "contrôle de spectrophotomètre".



Figure 11: verrerie.



Figure 12: Dosage de la vitamine C par titrage " Boisson, Iode 1N, Amidon"

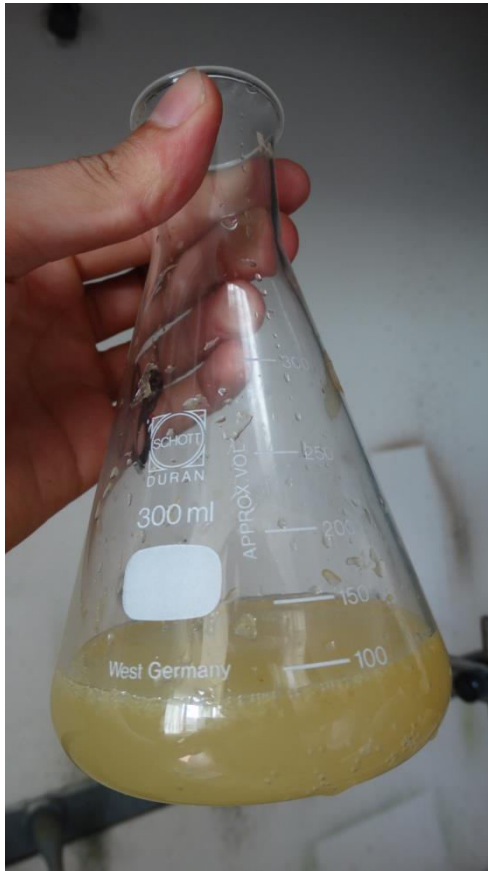


Figure 13: Virage de la couleur de solution lors du dosage de la vitamine C par titrage colorimétrique.



Figure 14: DPPH en solution "couleur violette".



Figure 15: Virage de la couleur du DPPH en solution avec la vitamine C

Annexe 04

Qualité organoleptique et stockage



Figure 16: Qualité organoleptique " La couleur", premier jour du stockage.



Figure 17: Qualité organoleptique après 3 mois de stockage " changement de la couleur de la boisson".



Figure 18: Boissons stockées à température ambiante "25 °C", à l'abri de la lumière.



Figure 19: Boissons stockées à 37°C, à l'abri de la lumière.



Figure 20: Boissons stockées à 4°C, à l'abri de la lumière.

Annexe 05

Industrie FZBG et chaîne de production



Figure 21: Siffleuse de bouteille.



Figure 22: Traitement de l'eau de forage par chloration selon les normes exigées pour l'eau de procès.



Figure 23: étiquetage.



Figure 24: Flash-pasteurisateur.



Figure 25: Stockage des lots.

Annexe 06

Etude cinétique

Le spectromètre est fixé en mode d'étude cinétique, de façon à relever l'absorbance à 515 nm en fonction du temps, pendant 05 minutes. Les solutions d'antioxydant et de DPPH sont ajoutées à $t = 0$ min dans une cellule de quartz qui est placée sous agitation magnétique, dans l'enceinte du spectromètre. Et on trace le graphique.

AT_0 la densité optique de la solution contrôle était : **DO : 0.4300**

Références bibliographiques

- Albagnac.G., Varquaux.P., Montignad.J,C 2002** : technologie de transformation des fruits. Edition TEC&DOC (803p) .
- ANTWERPEN PV., 2006.** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myclopéroxydase / Peroxyole d'hydrogène / Clilorure. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Science Pharmaceutiques Bruxelles.
- Arena, E., Fallico, B., Maccarone, E., 1999:**L'attivitaaantiossidante dei succhi di arancepigmentate. In: Piga, A., Agabbio, M., Gambella, F., Nicoli, M.C. (Eds.), 2002. Retention of Antioxidant Activity in Minimally Processed Mandarin and Satsuma Fruits.Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie.vol. 35. pp. 344–347
- ARDESTANI A., YAZDANPARAST R. 2007** . Antioxidant and free radical scavenging potential of Achilleasantolina extracts. Food Chem. 104: 21-29.
- Arena, E., Fallico, B., Maccarone, E., 2001.**Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage.Food Chemistry 74, 423–427.
- ARUOMA O I., 1999.**Free radicals, antioxidants and international nutrition.Asia Pacific J Clin Nutr. 8: 53-63.
- Badoud.R et Bauer.W. ,2001** : Les boissons école polytechnique Lausanne P5-8(550p).
- Bateman, L.,** Olefin oxidation, Quarterly Reviews, 8, 147-167 (1954).
- Berger ML, Siegel DM, Lee EL.** Scurvy as an initial manifestation of Whipple's disease.Ann Intern Med 1984 ; 101 :58–9.
- Block G., 1992:** Vitamin C status and cancer.Epidemiological of reduced risk. Ann NY AcadSci1992 ; 669 :280–90.
- Blois, M. S.** Antioxidant determination by the use of a stable radical.Nature, 4617, 1199-1200 (1958).
- BOULDJADJ R., 2009.**étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'Artemisia herba alba Asso. Université de Constantine.
- Bourgeois C.M et Leveau J.Y., 1991** : technologie d'analyse et de contrôle dans l'industrie agro-alimentaire. Volume III : le contrôle microbiologie .2eme édition. Technique & documentation. Lavoisier p 206-233.

Bourgeois C.M., Mesclé J.F et Zucca J., 1996 : microbiologie alimentaire tome I. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. 2eme édition. Édition technique & documentation .p 416-439.

Bourgeois.C-M, 2003 : les vitamines dans les industries agro-alimentaires. Collection science et technique agro-alimentaire. Edition technique et documentation.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. et Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28, 25-30 (1995).

Burdurlu HS, Koca N, and Karadeniz F. Degradation of Vitamin C in Citrus Juice Concentrates during Storage. *Journal of Food Engineering* 2006 ;74 : 211-216.

Buzina-Suboticanec K, Buzina R, Stavljenic A, Farley TM, Haller J, Bergman Markovic B, et al: Ageing, nutritional status and immune response. *Int J Vitam Nutr Res* 1998 ; 68 :133–41.

Chazan, J. B. et Szulc, M. Radicaux libres et vitamine E. *Cahier de Nutrition et de Diététique*, 22, 66-76 (1987).

Cheftel J.C. et Besancon P ., 1976 : Introduction a la biochimie et a la technologie des aliments. Volume II édition technique et documentation. LAVOISIER.PARIS PP367.(407).

Clough, R. L., Yee, B. G. et Foote, C. S. Chemistry of singuletoxygen. 30. The unstable primary product of tocopherol photooxidation. *Journal of the American Chemical Society*, 101, 683-686 (1979).

Cocheton JJ., 1996. Le scorbut : la peste des mers. *Presse Med* 1996;31: 144–8.

Cunningham JJ, Ellis SL, Mc Veigh KL, Levine RE, Calles-Escandon J. Reduced mononuclear leukocyte ascorbic acid content in adults with insulin-dependant diabetes mellitus consuming adequate dietary vitamin C. *Metabolism* 1991;40:146–9.

Dadzie B, K .Orchard, J.E .1995 : évaluation post récolte des hybrides des bananier et bananier platine : critères et méthodes réalisations CIRPAC , France

DELATTRE J., BEAUDEUX ET J.L., D. BONNEFONT., ROUSSELOT 2005.

Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques . P 87 .108.

De Kesel m, P. Hautier, B. Tinant, C. Vander Borght 2006 : VIS TA MINE !
Didactique spéciale en sciences naturelles

Desjardins H, 1997 : le traitement des eaux édition. Ecole polytechnique de Montréal p56-70.

Dufour, C., da Silva, E., Potier, P., Queneau, Y. et Dangles, O. Gallic esters of sucrose as efficient radical scavengers in lipidperoxidation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 3425-3430 (2002).

DURAND P., PROST M., 2001. Stress oxydant et pathologies humaines. La Presse médicale. P 30-1076-1081.

Ecole, J. Les antioxydants : rôles et domaines d'emploi. Parfums, Cosmétiques, Arômes, 65, 87-89 (1985).

EVANS R J ; REYNHOUT G S. 1992. Alternates to synthetic antioxidants. Food Science and human Nutrition. P 29: 27-42.

Fain O, Pariès J, Jacquart B, Le Moël G, Kettaneh A, Stirne-mann J, et al. 2003 .: Hypovitaminosis C in hospitalized patients. Eur J Intern Med 2003 ; 14 :419–25.

FAVIER A., 2003. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique. p108-11.

Fiess, M. Lipides : comment prévenir l'oxydation ? Revue de l'Industrie Agroalimentaire , 556, 48-50 (1996).

Franke AA, Custer LJ, Arakaki C, Murphy SP: Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. Journal of Food Composition and Analysis 2004 ;17 : 1-35.

Fredot E ., 2005 : Connaissance des aliments, bases nutritionnel de la diététique, TEC&DOC édition médicales internationales (337p).

Fredot.E, 2006 : connaissance des aliments. Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Edition techniques et documentation. Lavoisier p : 379.

Galinier A et Astudillo L., 2012 : LES DEFICITS EN VITAMINE C

Gardner, P.T., White, T.A.C., McPhail, D.B., Duthie, G.G., 2000: The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. Food Chemistry 68, 471–474.

GAULIER C, 2011 : Lutte contre la carence en vitamine C Les moyens d'action du médecin coordonnateur.

Gliszczyn´ska-S´wig"o, A., Wro´blewska, J., Leman´ska, K., Klimczak, I., Tyrakowska, B., 2004: The contribution of polyphenols and vitamin C to the antioxidant activity of commercial orange juices and drinks. In: Proceedings of 14th IGWT Symposium Focusing New Century: Commodity-Trade-Environment, China, pp. 121–126.

Gilles . Gagnon, F 2005 : évaluation de l'utilisation d'adsorbants sur le degré Brix , le pH et les propriétés optiques du sirop université laval, (148p)

GOUDABLE J. ET FAVIER A. 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Laboratoire de biochimie C. hôpital Edouard. Herriot. Lyon. GREPO. Université de Grenoble. la Tronche.

Goupy, P., Dufour, C., Loonis, M. et Dangles O. Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 615-622 (2003).

Guiraud J P., 1998 : MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE EDITION DONUD. Paris.652p.

Guilland J C et Le Moel G .,2007 : Cahier de formation biologie médicale, les vitamines
HALVORSEN B L., CARLSEN M H ., PHILIP K M., BOHEN S K ., HOLTEK ., JACOBS D R., JR AND BLOMHOFF R ., 2006 .Content of redox-active compounds (antioxidants) in foods consumed in the United States *Am J ClinNutr*. P 84,95-135.

Haslay.C et Leclerc.H, 1993 : microbiologie des eaux d'alimentation. Edition Lavoisier, paris.

HELLAL Z., 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

Houdert.j.C., 2005 : les additifs alimentaires : un mal nécessaire .Edition médicaux, P16-22(620p).

Hood J, Burns Ca, Hodges RE., 1970: Sjögren's syndrome in scurvy. *N Engl J Med* 1970 ; 282 :1120-4.

Hsieh Y-H. P., and Harris ND ., 1993: . Effect of Sucrose on Oxygen Uptake of Ascorbic Acid in a Closed Aqueous System.*J. Agric. Food Chemistry* 1993 ; 41 : 259-262.

Jacob RA, Otradovec CL, Russel RM, Munro HN, Hartz SC, Mc Gandy RB, et al., 1998 :Vitamin C status and nutrient interactions in a healthy elderly population. *Am J Clin Nutr* 1988 ;48 :1436-42.

Jeantet.R., Croguenne.T., Schuck.P., ET Brule.G. , 2007 : Sciences des aliments vol 2 technologie des produits alimentaires. Édition TEC&DOC Lavoisier, paris (383p).

Joffin C. et J.N., 1999. Microbiologie alimentaire. DOIN éditeur. Centre de documentation pédagogique d'aquitaine, 5eme édition Pp : 61, 124-153.

Johnston CS, Thompson LL., 1998 : Vitamin C status of an outpatient population. *J Am CollNutr*1998 ; 17 :366-70.

Johnston CS, Solomon RE, Corte C: Vitamin C status of a campus population: college students get a C minus. *J Am Coll Health* 1998; 46(20):9-13.

Juven.B-J., Shomer. ; 1985: spoilage of soft drinks caused by bacterial flocculation –j-food protection: 48, 52 and 53.

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

Kahl, R. et Hidebrandt, A. G. Methodology for studying antioxidant activity and mechanisms of action of antioxidants, *Food and Chemical Toxicology*, 24, 1007-1014 (1986).

Kaur, Ch., Kapoor, H.C., 2001: Antioxidants in fruits and vegetables— the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology* 36, 703–725

Kirsch D,R 2009 : Mensonges & Vérités, les solutions pour votre santé

KOECHLIN-RAMONATXO C., 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20: 165-177.

Kouassi .B., Traore.,Sirpe.G2008: transformation et consommation des denrées alimentaire en Afrique de l'ouest.

Larpent J.P ., 1997 : microbiologie alimentaire. Technique de laboratoire. Édition technique et documentation LAVOISIER P691, 1073.

Lederer J., 1986 : encyclopédies modernes de l'hygiène alimentaire. Tome II : hygiène des aliments 3eme édition. Edition NAUWELAERTS. PP : 20.(295p).

LINDAU-SEHPARD B; SHAFFER J., 1993: Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free rad boil Med*. p 8-15-581.

Linden G et Lorient D., 1994 : Biochimie agro-alimentaire .valorisation alimentaire de la production agricole. Masson.Paris p 213.

Loria CM, Klag MJ, Caulfield LE, WheltonPK ., 2000: Vitamin C status and mortality in US adults. *Am J Clin Nutrition* 2000 ; 72 :139–1114.

Louze, D 2002, guide pratique de gestion d'un établissement public local d'enseignement tome 2 (325p).

Mansour rita et Aljoubbehmalak., 2014 : The effect of Storage Time and Humidity on Vitamin C level in Infant's baby milk powder after opening the package

MARFAK A., 2003. Radiolyse gamma des flavonoides, étude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : Formation de depsides .Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges.

MARFAK A., 2011. Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur reactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. Thèse de doctorat Université de Limoges. P 6-7-27-45.

M. U ETENG*, H. A. IBEKWE, T. E. AMATEY, B. J. BASSEY, F. U. UBOH, and D. U. OWU, 2006 : EFFET DE VITAMINE C sur les lipides sériques ET ÉLECTROLYTE PROFIL DES RATS WISTAR ALBINOS.

Mehta CL, Cripps D, Bridges A., 1996: Systemic pseudovasculitis from scurvy in anorexia nervosa. *ArthrRheum* 1996; 39 :532–3.

- Meziane Z, 1989** : situation actuelle des boissons non alcoolisées en Algérie, qualité de quelques produits commercialisés. Mémoire d'ingénieur INA Alger P2 (106p).
- MEZITI .A., 2007.** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Etude in vitro et in vivo. Mémoire de Magister Université de Batna.p 30-35-49-67.
- MILLER N J ; SAMPSON J ; CANDEIAS L P ; ET AL., 1996.** Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls.FEBS Lett.384 : 240-2.
- Miller, N.J., Rice-Evans, C.A., 1997:** The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. Food Chemistry 60, 331–337.
- MOHAMMEDI Z., 2013.**Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. université Abou BekrBelkaid. Tlemcen Algérie. p 60.
- Moll M et N., 2000** : précis des risque alimentaires. Edition technique et documentation paris. Pp : 65.
- Mouchet ,p .2000** : traitement des eaux avants utilisation , technique d'ingénieur Vol G1_170 :4_18.
- MOURE A; CRUZ J.M; FRANCO D; DOMINGUEZ J M., SINEIRO J.,2001.** Natural antioxydants from residual sources.Food Chemistry. P 72- 145-171.
- Multon.J.L., 1994** : la qualité des produits alimentaires : politique incitation et gestion et contrôle, paris collection science et technique agro-alimentaire, édition TEC&DOC lavoisier, paris P30 (920p).
- Multon J.L., 1992:** le sucre, les sucres, les édulcorants et les glucides de charge dans les IAA. Edition technique et documentation. Lavoisier. APRIA PP : 259_263. (816p).
- Multon J .L 1996** : microbiologie alimentaire aspect microbiologique de la qualité des aliments. Collection science et technique agro-alimentaire .édition Tech&doc paris p930.
- Multon J.L., Bureau G., 1998** : l'emballage des denrées alimentaire de grande consommation.2eme édition .technique et documentation,. Paris pp : 930.(1082p).
- Multon J.L., 2002** : additifs et auxiliaires de fabrication dans les IAA .3eme EDITION : TEC&DOC.lavoisier. Paris. (799p)
- Namiki, M.** Antioxidants/Mutagenes in food. Critical Reviews in Food Science and Nutrition,29, 273-300 (1990).
- Niki, E.,** Antioxidant in relation to lipid peroxidation. Chemistry and Physic of Lipids, 44, 227-253 (1987).

Nguyen.S.Y., Bourouine, R .Claude, A., 2008 : manuelle d'anatomie et physiologie. 4eme edition lamarre, France (408P).

Nyyssönen K, Parviainen MT, Salonen R, Tuomilehto J, Salonen JT: Vitamin C deficiency and risk of myocardial infarction: prospective population study of men from eastern Finland. *BMJ* 1997 ; 314 :634– 63.

Ohrvall M et al., 1996. Tocopherols and heart disease nutrition report: 20/ Gamma. but not alpha. tocopherol levels in serum are reduced in coronary heart disease patients. *Journal of InternalMedicine.* P 239:111-117.

Pascal, G. Les antioxygènes alimentaires. *Cahier de Nutrition et de Diététique*,14, 271-290 (1979).

Piga, A., Agabbio, M., Gambella, F., Nicoli, M.C., 2002: Retention of antioxidant activity in minimally processed mandarin and Satsuma fruits. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 35, 344–347.

Prish M.F, Higgins.D.P, 1998: survival of listeria monocytogenese in low pH.

Pierre Mollo et Anne Noury, 2013 : Le Manuel du plancton : Éditions Charles Léopold Mayer p38-39 (p198).

Polydera AC, Stoforos NG, Taoukis PS. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. *Journal of Food Engineering* 2003; 60: 21-29.

Post, G., 1998:Technologiaprodukcjiwysokiejjakoscisok u pomarańc-zowego z koncentratuprzyumiarkowanymkoszcie. *Przemys"Fer-mentacyjnyiOwocowo-Warzywny* 12, 36–39.

Potelon J-L ET Zusman, K . , 1998 : les guides d'analyses de l'eau potable, edition de lettre : (1025) p.

Prescott M., Harley J.P. etKein D., 2003: microbiologie de BOECK.2EME EDITION (1137P).

Rapisarda, P., Tomaino, A., Cascio, R.L., Bonina, F., de Pasquale, A., Saija, A., 1999 :.Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *Journal of Agricultural and Food nChemistry* 47, 4718–4723.

Rochester .C.H 1970: acidity functions. London academy press (300p).

Roche, M., Dufour C., Mora, N. et Dangles O. Antioxidant activity of olive phenols: mechanistic investigation and characterization of oxidation products by mass spectrometry. *OrganicBiomolecularChemistry*, 3, 423-430 (2005).

Rodier J, 1984: l'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 7eme édition. Paris p1146-1364.

Rodier J.2005. L'analyse de l'eau. 8eme edition. DUNOD. Paris Pp :57.

Roig MG, Rivera ZS, Kennedy JF.: A model study on rate of degradation of L-ascorbic acid during processing using home-produced juice concentrates. International Journal of Food Sciences and Nutrition 1995 ; 46 : 107-115.

RouxB.,Clement J.M et Guvelier G., 1995 : Larousse encyclopédie (produit alimentaire)édition paris (1190p).

Rudi.P : alimentaire et boisson. 2004 adresses du site web.

Serpen A, Gökmen V: Reversible degradation kinetics of ascorbic acid under reducing and oxidizing conditions. Food Chemistry 2007 ; 104 : 721–725.

Simon JA, HudesS .,1999: Serum ascorbic acid and other correlates of self-reported cataract among older Americans. J ClinEpidemiol 1999;52: 1207–11.

TOUAFEK O ., 2010 : Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algerien. Thèse de doctorat. Université de Constantine. PP 9-12-76.

Turtura. G etC.Massa, 1987: microbiological researches on soft drinks-VII A case of alteration of fruits juices packaged in flexible) in bourgeois. 1996.

Uddin MS, Hawlader MNA, Luo Ding, Mujumdar AS: Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. Journal of food engineering2002 ;51 : 21-26.

Varsabasky S, 1990 : microbiologie alimentaire, 1996. Tec&doc-Lavoisier p201.

Vasseur E, Delaunay J, Meyniel D, Cocheton JJ.,1997 : Scorbut après un régime sans résidu au cours d'une maladie de Crohn. Presse Med 1997 ; 26 :214.

Veron .M2011 : lexique du vin. ISBN (165p)

Vierling.E., 1998 : aliment et boisson, technologie et aspect réglementaire. Centre régionale et documentation pédagogique d'aquitaine (900p).

Valdramidis VP, Cullen PJ, Tiwari BK, O'Donnell CP: Quantitative modelling approaches for ascorbic acid degradation and non-enzymatic browning of orange juice during ultrasound processing. Journal of Food Engineering 2010; 96: 449-454.

Voubourdoule.M2007 : toxicologie, science mathématique, physique et chimique ; édition wolters Kluwer S A (1000p).

Vasseur E, Delaunay J, Meyniel D, Cocheton JJ.,1997 : Scorbut après un régime sans résidu au cours d'une maladie de Crohn. Presse Med 1997 ; 26 :214.

Yaacoub R., 2009. Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. Intéret de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés.

Thèse de doctorat. N° 2009AGPT 0048. Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agro paris tech).

Zerdin, K., Rooney, M.L., Vermue; J., 2003: The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. Food Chemistry 82, 387–395.

Zultak M, Mollet E, Rotty JM, Humbert P, Blanc D, Agache P, et al. Scorbut révélant une maladie cœliaque. Presse Med 1986 ; 15 :173.

