

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Blida 01

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie

Option : Microbiologie et Toxicologie Alimentaire

Thème :

**Contrôle de la qualité des jus (sucrés et light)
et effet de certains édulcorants sur le poids
corporel et le bilan glycémique chez les souris
Albinos en stade de croissance**

Présenté par :

Mlle ARROUDJ Kheira

&

Mlle BOUYOUCEF Fatma Zohra

Devant le jury :

- | | | |
|------------------------------|---|---------------|
| ➤ Mme BENCHAAABENE S. | MCB Université Blida-1 | Présidente |
| ➤ Mme BELMESKINE H. | MCB à l'Université Blida-1 | Examinatrice |
| ➤ Mme KANANE A. | MAA à l'Université Blida-1 | Promotrice |
| ➤ Mme DJELLAB L. | Responsable de laboratoire
SARL COJUNA | Co-promotrice |

Promotion 2016/2017

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leur aide et encouragement tout au long de la réalisation de ce mémoire

A ma très chère grande mère Aicha

Mes frères : *Mustapha, Rabah, Hamza, Omar* et sa femme *Khadidja*
avec leur fils *Salah*

Mes sœurs ; *Noura, Hakima, Hamida* et son mari *Mouhamed*
Pour leursoutien

A toute la famille **ARROUDJ** et la famille **DJELLABI**

A mon très cher binôme *BOUYOUCEF Fatma Zahra*

A mes amies : *Aicha, Zahra, Lineb* et *Nassima*

Et à toute la promotion de post graduation 2016/2017
Microbiologie et Toxicologie Alimentaire
Pour leur précieuse aide

Avec toute mon affection et ma reconnaissance

KHEIRA

Dédicaces

Je dédie ce mémoire de fin d'étude :

A la plus belle créature que Dieu a créée sur terre...

A cette source de tendresse, de patience et de générosité :

A ma mère !

A la personne qui m'a soutenu et encouragé tout au long de mon cursus scolaire

Et qui m'a aidé pour arriver à ce niveau :

A mon père !

A mes sœurs : *Khaoula, Rachida, Khadidja* et mes frères *Abd-Allah, Ahmed Radhi* et *Baraa*, merci pour votre soutien et encouragement

A toute la famille **BOUYOUCEF** et **FILLALI** et surtout mon oncle *Fichem*

A mon cher binôme *Kheira* **ARROUDJ**

A tous mes amis (es) que j'ai connus pendant mon chemin étudiantin...Merci pour les bons souvenirs

A tous mes collègues de la promotion 2016/ 2017

A tous ceux qui par un mot, m'ont donné la force de continuer...

FATMA ZOHRA

Remerciement

Qu'il nous soit permis de remercier ici profondément tout d'abord :

- ❖ Le bon **DIEU** tout puissant de nous avoir aidé à réaliser ce travail dans de meilleures conditions:
- ❖ Notre Promotrice **M^{me} KANANE A, Maitre assistante A** du Département biologique et physiologie cellulaire à l'Université de BLIDA 1. qui a bien voulu suivre et diriger ce travail. Ses conseils précieux, ses orientations et ses justes critiques ont été pour nous un encouragement permanent.
- ❖ Notre Co-promotrice **M^{me} DJELLAB L, responsable du laboratoire SARL COJUNA** pour ses conseils, sa patience, sa disponibilité et sa bienveillance.
- ❖ **M^{me} BENCHAABANE S, Maitre de conférence B** au Département de biologie et physiologie cellulaire à l'Université BLIDA 1, d'avoir accepté de présider le jury.
- ❖ **M^{me} BELMESKINE H, Maitre de conférence B** au Département de biologie et physiologie cellulaire à l'Université BLIDA 1, qui a accepté de nous accorder une partie de son précieux temps pour lire et examiner ce travail.
- ❖ **M^r BOUKHATEM MN, Maitre de conférence B** au Département de biologie et physiologie cellulaire à l'Université BLIDA 1. Faculté des sciences de la nature et de la vie qui nous a aidés dans l'étude statistique de notre travail.
- ❖ L'équipe du laboratoire physico-chimique et microbiologique de SARL COJUNA qui nous a aidé et orienté tout au long de ce travail.
- ❖ **M^{me} BENMZIRA.M**, responsable du laboratoire de toxicologie du groupe SAIDAL pour son accueil
- ❖ **Mr SALL.O et Mr BOUZIDI.Y**, pour leur assistance et présence durant toute la phase expérimentale au sein du groupe SAIDAL.

Nous voudrions aussi souligner notre extrême gratitude à l'égard de nos enseignants qui nous ont soutenus tout au long de notre cursus universitaire.

Résumé

Cette étude porte sur un contrôle physico-chimique et microbiologique de la matière première jusqu'au produit fini d'un jus sucré et de quatre jus lights à base de l'un des édulcorants suivants:

Aspartame, Acésulfame K, Mélange (Aspartame + Acésulfame K) et Stévia, formulés dans l'entreprise agroalimentaire algérienne « **COJUNA** ».

Les jus sucrés et lights sont administrés aux souris par voie orale afin de suivre l'évolution du poids corporel et de la glycémie durant une période de 45 jours.

Les résultats des analyses physico-chimiques de la matière première jusqu'au produit fini sont conforme aux normes.

Par ailleurs, l'analyse microbiologique des deux types de jus ne montre aucune contamination microbienne.

L'étude expérimentale a révélé une augmentation significative du poids corporel chez les souris soumis au jus sucré par rapport au Témoin et au lot Stévia, alors qu'aucun effet significatif n'est observé pour les édulcorants (Aspartame, Acésulfame K) séparés ou en combinaison et l'édulcorant naturel Stévia.

Par ailleurs, les édulcorants [Aspartame, Acésulfame K et le Mélange (Aspartame + Acésulfame K)] augmentent significativement la glycémie ($P < 0.0001$) par rapport au témoin et l'édulcorant naturel Stévia.

Ceci laisse conclure que la consommation des boissons lights (composées des édulcorants Aspartame, Acésulfame K séparés ou en combinaison) pourraient être associé à un risque de développer un diabète par rapport aux boissons contenant un édulcorant naturel « Stévia » qui stabilise le taux de la glycémie.

Mots clés : Jus light, Contrôle qualité, Edulcorants, Glycémie, Souris.

Abstract

This study based on a physic-chemical and microbiological control of the raw material up to the finished product of sweetened juice and of four juices lights based on one of the following sweeteners:

Aspartame, Acésulfame K, mixture (Aspartame + Acésulfame K) and Stevia, formulated in the Algerian food-processing company “COJUNA”.

The sweetened juices and lights are administered by oral route to mice in order to follow the evolution of the body weight and the blood sugar during a period of 45 days.

The results of the physic-chemical of the raw material up to the stage finished product are in conformity with the standards.

In addition, the microbiological analysis of the juices shows no germ contamination.

The experimental study revealed a significant increase in body weight in mice subjected to sweetened juice compared to standard and share of Stevia. While, no significant effect was observed for the sweeteners (Aspartame, Acésulfame K) separated or in combination and Stévia.

Otherwise, the sweeteners [(Aspartame, Acésulfame K and mixture (Aspartame+ Acésulfame K)] increase significantly the blood sugar ($P < 0.0001$) compared with standard and natural sweetener Stevia.

This lets conclude that the consumption of the drinks lights (consisted with two sweeteners: Aspartame, Acésulfame K separated or in combination) could be associated with a risk of developing diabetes compared to sweet drinks containing a natural sweetener “Stévia” that stabilizes the blood sugar.

Keywords: Light juice, Quality control, Sweeteners, blood sugar, mice.

ملخص

تقوم هذه الدراسة على تحاليل فيزيوكيميائية و ميكروبيولوجية لمراقبة النوعية من المادة الأولية إلى المنتج النهائي لمشروب بلب البرتقال الذي يحتوي على السكر و أربعة مشروبات محلات تحتوي على إحدى المحليات التالية:

أسبرتام ، أسيسولفام البوتاسيوم ، خليط من الأسبرتام وأسيسولفام البوتاسيوم، ستيفيا محضرين في شركة المواد الغذائية الجزائرية "كوجونا".

العصائر السكرية و المحلات أعطيت للفئران عن طريق الفم لدراسة تأثيرها على وزن الجسم و نسبة السكر في الدم لمدة 45 يوما.

نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية من المادة الأولية إلى المنتج النهائي كانت موافقة للمعايير.

من جهة أخرى نتائج التحليل الميكروبيولوجي للمشروبات برهنت عدم احتوائها على اي تلوث ميكروبي.

أثبتت الدراسة التجريبية ارتفاع معتبر في وزن الفئران الذين تناولوا العصير السكري مقارنة بالشاهد و مجموعة ستيفيا. أما بالنسبة للمحليات (الاسبرتام، أسيسولفام البوتاسيوم مفترقين أو مجتمعين و ستيفيا). فلا يوجد أي مفعول .

كذلك، المحليات الاسبرتام، أسيسولفام البوتاسيوم، خليط من الأسبرتام وأسيسولفام البوتاسيوم فقد ساهمت في ارتفاع نسبة السكر في الدم ($P < 0.0001$) مقارنة مع الشاهد و المحلى الطبيعي ستيفيا.

و هذا يسمح باستنتاج أن استهلاك المشروبات المخففة التي تتألف من محليين أسبارتام، أسيسولفام البوتاسيوم مفترقين أو مجتمعين تترافق مع خطر الإصابة بمرض السكري مقارنة بالمشروبات التي تحتوي على المحلى الطبيعي ستيفيا الذي يساعد على استقرار نسبة السكر في الدم.

الكلمات المفتاحية: مشروب محلى، مراقبة النوعية، محليات ، نسبة السكر في الدم، فئران.

Liste des tableaux

Tableau I :	Analyses physico-chimiques des différents produits.....	p 18
Tableau II :	Analyses microbiologiques des différents produits.....	p 23
Tableau III :	Résultats d'analyses microbiologiques de l'eau de procédé	p 45
Tableau IV :	Résultats d'analyse microbiologique de la pulpe.....	p 46
Tableau V :	Résultats d'analyse microbiologique du sucre.....	p 47
Tableau VI :	Résultats d'analyse microbiologique du produit fini.....	p 48
Tableau I :	Gamme des produits du SARL COJUNA.....	Annexe I
Tableau II :	Table NPP = Table de Mac-Grady.....	Annexe V
Tableau III :	Détermination de l'acidité et de la vitamine C.....	Annexe V

Liste des figures

Figure n°1 :	Structure chimique de l'aspartame.....	p 04
Figure n°2 :	Structure chimique de l'acésulfame K.....	p 05
Figure n°3 :	Structure chimique de Stévia.....	p 06
Figure n°4 :	Les différentes étapes de la phase expérimentale.....	p 35
Figure n°5 :	Variation du pH de l'eau de procédé en fonction de différents édulcorants.....	p 36
Figure n°6 :	Variation du TH de l'eau de procédé en fonction de différents édulcorants.....	p 37
Figure n°7 :	Variation du Cl ₂ de l'eau de procédé en fonction de différents édulcorants.....	p 37
Figure n°8 :	Variation du pH de la pulpe d'orange en fonction de différents édulcorants.....	p 39
Figure n°9 :	Variation du degré Brix de la pulpe d'orange en fonction de différents édulcorants.....	p 40
Figure n°10 :	Variation de l'acidité de la pulpe d'orange en fonction de différents édulcorants.....	p 40
Figure n°11:	Variation du pH du produit fini en fonction de différents édulcorants.....	p 41
Figure n°12:	Variation de l'acidité du produit fini en fonction de différents édulcorants.....	p 42
Figure n°13 :	Variation de la température du produit fini en fonction de différents édulcorants.....	p 42
Figure n°14 :	Variation de degré Brix du produit fini en fonction de différents édulcorants.....	p 43

Figure n°15 :	Variation de la vitamine C du produit fini en fonction de différents édulcorants.....	p 44
Figure n°16 :	Variation du poids corporel en fonction de certains édulcorants	p 49
Figure n°17 :	Variation du taux glycémie en fonction de certains édulcorants	p 50
Figure n°1 :	Processus du traitement de l'eau au niveau du SARL COJUNA	Annexe II
Figure n°2 :	Diagramme de fabrication du jus d'orange au niveau du SARL COJUNA.....	Annexe II
Figure n°3 :	Conditionnement du jus d'orange au niveau du SARL COJUNA.....	Annexe II
Figure n°4 :	Préparation de la solution mère et les déluitions décimales pour les produits liquides.....	Annexe V
Figure n°5 :	Préparation de la solution mère et les dilutions décimales pour les produits solides.....	Annexe V
Figure n°6 :	Recherche et dénombrement des Germes Aérobie Mésophiles Totaux dans l'eau de procédé.....	Annexe V
Figure n°7 :	Recherche et dénombrement des Coliformes et d' <i>Escherichia coli</i> dans l'eau de procédé (test de présomption).....	Annexe V
Figure n°8 :	Recherche et dénombrement des Coliformes et d' <i>Escherichia coli</i> dans l'eau de procédé (test de confirmation).....	Annexe V
Figure n°9 :	Recherche et dénombrement des spores d'Anaérobies Sulfite-Réducteurs dans l'eau de procédé.....	Annexe V
Figure n°10 :	Recherche et dénombrement des Streptocoques de groupe D dans l'eau de procédé (test de présomption).....	Annexe V
Figure n°11 :	Recherche et dénombrement des Streptocoques de groupe D dans l'eau de procédé (test de confirmation).....	Annexe V
Figure n°12 :	Recherche et dénombrement des Germes Aérobie Mésophiles Totaux à 30°C dans la pulpe, le sucre et le produit fini.....	Annexe V

Figure n°13 :	Recherche et dénombrement des Coliformes et d' <i>Escherichia coli</i> dans la pulpe, le sucre et le produit fini.....	Annexe V
Figure n°14 :	Recherche et dénombrement de Clostridium Sulfito-Réducteurs dans le sucre, la pulpe et le produit fini.....	Annexe V
Figure n°15 :	Recherche et dénombrement des levures et moisissures dans le sucre et le produit fini.....	Annexe V
Figure n°16 :	Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> dans la pulpe.....	Annexe V
Figure n°17 :	Recherche et identification des salmonelles dans la pulpe.....	Annexe V
Figure n°18 :	Variation de couleur pour le titrage de Vitamine C.....	Annexe VI
Figure n°19 :	Variation de couleur pour le titrage de l'acidité.....	Annexe VI
Figure n°20 :	Différents jus.....	Annexe VI
Figure n°21 :	Résultats de l'analyse microbiologiques.....	Annexe VI
Figure n°22 :	Résultat de recherche des Streptocoque dans l'eau de procédé	Annexe VI
Figure n°23 :	Résultat de recherche des coliformes dans l'eau de procédé....	Annexe VI
Figure n°24 :	Aliment des souris.....	Annexe VI
Figure n°25 :	Contention des souris.....	Annexe VI
Figure n°26 :	Gavage des souris.....	Annexe VI
Figure n°27 :	Différents régimes.....	Annexe VI
Figure n°28 :	Différents lots de souris.....	Annexe VI

Liste des abréviations

Acé: Acésulfame de potassium

AFNOR: Association Française de Normalisation

Asp: Aspartame

BCPL: Bouillon Lactose au Pourpre de Bromocrésol

Cl : Chlore

CSR: Clostridium Sulfito-Réducteurs

***C. perfringens* :** *Clostridium perfringens*

DJA : Dose Journalière Admissible

DM: Dilution Mère

DPD: Diéthyl-Phénylène-Diamine

D/C : Double Concentration

EA : Edulcorants Artificiels

EDTA : Ethylène Diamine Tétracétique

EFSA : European Food Safety Authority

EPEI : Eau Peptonée Exempte d'Indole

EPT: Eau Peptonée Tomponée

E.coli: *Escherichia coli*

GAMT: Germes Aérobie Mésophiles Totaux

GC: Giolitti Cantoni

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point

HDL : High Density Lipoprotein

ISO: Organisation International de Normalisation

JORA: Journal Officiel de la République Algérienne

Mlg: Mélange (Aspartame + Acésulfame)

NPP: Nombre Plus Probable

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONAB: Office National des Aliments du Bétail

PET: Poly Ethylène Téréphtalate

pH : potentiel d'Hydrogène

RNE : Réseau National d'Essais

SARL : Société à Responsabilité Limitée

SFB: Bouillon au Sélénite de sodium et à la cystéine

SIN: Système International de Numérotation

SM: Solution Mère

Stv: Stévia

Suc: Sucré

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S/C : Simple Concentration.

T: Témoin

TGEA: Gélose Tryptone Glucose à l'extrait de levure Agar

TH: Titre Hydrométrique

TSE : Tryptone Sel Eau

UFC: Unité Formant Colonie

UV: Ultra-Violet

VF: Viande Foie

VRBL : Gélose Lactosée Bilié au cristal Violet et au Rouge neutre

Sommaire

Introduction.....	01
Chapitre I : Etude bibliographique	
I.1 Les boissons.....	02
I.1.1 Jus de fruits.....	02
I.1.2 Jus de fruits à base de concentré.....	02
I.1.3 Nectar de fruits.....	03
I.1.4 Jus de fruits déshydraté ou en poudre.....	03
I.2 Les édulcorants.....	03
I.2.1 Définition.....	03
I.2.2 Edulcorants utilisés dans les boissons lights.....	04
I.3 Avantages et inconvénients des édulcorants.....	07
I.3.1 Avantages.....	07
I.3.2 Inconvénients.....	07
I.4 Population cibles des édulcorants.....	08
I.4.1 Utilisation des édulcorants de synthèse chez le diabétique.....	08
I.4.2 Utilisation des édulcorants de synthèse chez la personne en surpoids et obèse.....	08
I.4.3 Utilisation des édulcorants dans la prévention de la carie dentaire.....	08
I.4.4 Utilisation des édulcorants dans l'hypertriglycéridémie.....	08
I.5 Les édulcorants dans la législation algérienne.....	09
I.6 Jus d'orange commercialisé.....	09
I.6.1 Eau de procès.....	09
I.6.2 Sucre.....	09
I.6.3 Pulpe d'orange.....	09
I.6.4 Additifs alimentaires.....	10
I.7 Procédé de fabrication de jus.....	11
I.7.1 Traitement de l'eau.....	11
I.7.2 Reconstitution du jus.....	12
I.7.3 Traitement thermique.....	12
I.7.4 Conditionnement.....	12
I.8 Les altérations pouvant toucher le jus d'orange.....	13
I.8.1 Altérations physico-chimiques.....	13

I.8.1.1 Brunissement enzymatique.....	13
I.8.1.2 Brunissement non enzymatique.....	13
I.8.1.3 Dégradation de la vitamine C.....	13
I.8.2 Altération microbienne.....	14
I.9 Diabète.....	15
I.9.1 Effets des édulcorants intenses sur le risque de diabète de type 2 (DT2).....	15

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1 Matériels.....	16
II.1.1 Matériels biologiques.....	16
II.1.2 Matériels non biologiques.....	16
II.2 Méthodes.....	16
II.2.1 Echantillonnage.....	16
II.2.2 Méthodes d'analyses physico-chimiques.....	17
II.2.3 Méthode d'analyses microbiologiques.....	22
II.2.4 Etude expérimentale.....	33

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Résultats des analyses physico-chimiques.....	36
III.2 Résultats des analyses microbiologiques.....	45
III.3 Résultats de l'étude expérimentale.....	50

Conclusion	52
-------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

L'usage des édulcorants artificiels (EA) est populaire et depuis fort longtemps ils étaient considérés comme des additifs utiles dans la prise en charge du diabète en raison d'absence d'effet néfaste sur l'index glycémique et de réponse insulínique contrairement aux boissons sucrées (**Tran et Jornayvaz, 2015**).

Actuellement, les données de la littérature sont insuffisantes pour conclure définitivement la place des EA dans l'alimentation et leur impact sur l'homéostasie glucidique, voire l'apparition d'une intolérance au glucose ou d'un diabète. Leur interprétation est compliquée du fait que les EA sont généralement consommés par des personnes présentant déjà un risque accru de développer un diabète (**Tran et Jornayvaz, 2015**).

Les édulcorants intenses non énergétiques, comme l'aspartame et l'acésulfame, n'apportent pas de calories. Pour cette raison, ces substances ont été largement utilisées pour traiter ou prévenir l'obésité, mais à ce jour il n'existe aucune preuve pour dire que ces édulcorants jouent un rôle bénéfique dans le contrôle du poids corporel.

Le nouvel édulcorant intense, le Rebaudioside A (Stévia) est aujourd'hui considéré comme la « Start » montante sur le marché commercial. Il est fort probable que d'ici peu, il pourrait remplacer les «vieux édulcorants » (**Monnier et Colette, 2010**).

La substitution de sucres ajoutés par des EA n'améliore pas forcément la qualité du régime alimentaire. En effet, l'utilisation des EA dans l'agroalimentaire est actuellement considérée comme sûre, mais ces aliments issus d'un processus industriel ne remplaceront jamais les aliments et boissons naturels tels que les fruits, les légumes et l'eau, qui devraient être privilégiés autant que possible chez les individus sains et particulièrement chez le patient diabétique mais également dans la population générale (**Tran et Jornayvaz, 2015**).

C'est dans ce contexte que s'incère l'objectif de cette étude qui consiste à :

- Contrôler les paramètres physico-chimiques et microbiologiques d'un jus sucré et des jus lights composés de différents édulcorants [l'Aspartame, l'Acésulfame K, (l'Aspartame + l'Acésulfame K) et la Stévia (Rebaudioside A)];
- Evaluer l'effet de ces différents jus sur le poids corporel et la glycémie chez des souris albinos en croissance.

I.1 Les boissons

Une boisson ou breuvage est un liquide nutritif que l'on boit en premier lieu pour se désaltérer, c'est-à-dire apaiser sa soif, mais aussi pour le plaisir.

La boisson la plus naturelle est l'eau, la seule que boivent les animaux et la seule qui étanche vraiment la soif. L'eau est aussi le composant essentiel de la plupart des autres boissons (**Fredot, 2012**).

De plus, les boissons permettent de compenser la majorité des pertes physiologiques en eau mais elles sont consommées aussi pour :

- Leur saveur : Sucrée, salée, acide... ;
- Leur qualité thermique : Chaleur, fraîcheur ;
- Leur qualité visuelle : Couleur attrayante, transparence... ;

-Leurs apports en minéraux : Certaines boissons telle que l'eau minérale participe à la couverture de certains éléments minéraux comme le calcium, le magnésium ou le fluor (**Fredot, 2012**).

I.1.1 Jus de fruits

C'est des Jus obtenu à partir de fruits par des procédés mécaniques, fermentescibles, mais non fermenté, possédant la couleur, l'arôme et le goût du fruit d'où il provient. Dans le cas des agrumes, le jus provient de l'endocarpe ; toutefois le jus de limette peut être obtenu à partir du fruit entier (**Vierling, 2008**).

I.1.2 Jus de fruits à base de concentré

C'est des produits obtenus à partir de jus de fruits concentré, après restitution de la proportion d'eau extraite du jus lors de la concentration, l'eau ajoutée présentant des caractéristiques appropriées, notamment des points de vue chimique, microbiologique et organoleptique de façon à garantir les qualités essentielles du jus. La restitution de son arôme se fait au moyen des substances aromatisantes récupérées lors de la concentration du jus de fruits dont il s'agit, ou de jus de fruits de la même espèce avec des caractéristiques organoleptiques et analytiques équivalentes (**Vierling, 2008**).

I.1.3 Nectar de fruits

Produit non fermenté, obtenu par addition d'eau et souvent du sucre ou du miel au jus de fruits, au jus de fruits concentré déshydraté ou en poudre, à la purée de fruits et au mélange de ces produits (**Vierling, 2008**).

I.1.4 Jus de fruits déshydraté ou en poudre

Il est obtenu à partir du jus de fruits par élimination physique de la quasi-totalité des constitutions. Pour les jus de fruits déshydratés, le qualificatif « déshydraté » peut être accompagné ou remplacé par le qualificatif « lyophilisé » ou toute autre mention analogue selon le procédé de déshydratation utilisé et l'addition du sucre est autorisée comme pour les jus de fruits (**Vierling, 2008**).

I.2 Les édulcorants

I.2.1 Définition

Les édulcorants sont des denrées douées d'un pouvoir sucrant. Ce dernier représente la capacité d'une substance à provoquer une saveur sucrée. Il existe une échelle du pouvoir sucrant selon les différents édulcorants. Ainsi, le saccharose a été choisi comme sucre de référence et pour définir cette échelle, on estime que le saccharose a un pouvoir sucrant égal à 1 (**Fredot, 2012**).

Il existe différentes catégories d'édulcorants, les plus connus sont :

- a. **Edulcorants intenses** : Ils ont un pouvoir sucrant significativement élevé à celui du saccharose (environ 30 à 500 fois plus si le saccharose est pris comme référence avec un pouvoir sucrant égal à 1), tels que la saccharine, les cyclamates, l'aspartame, le sucralose et le rébaudioside A (ou stévia) ;
- b. **Edulcorants nutritifs** : Ils ont un pouvoir sucrant limité par rapport à celui du saccharose (1,5 fois). Les plus connus sont les polyols comme le sorbitol, le xylitol et le mannitol (**Amouyal et Andrelli, 2014**).

I.2.2 Edulcorants des boissons lights

I.2.2.1 Aspartame (SIN 951)

L'aspartame est découvert aux Etats-Unis en 1965, il est composé de deux acides aminés naturels (la phénylalanine et l'acide aspartique) qui sont couplés à un groupe méthyle. Dans l'organisme, l'aspartame se décompose en phénylalanine, acide aspartique et méthanol (**Shaywitz *et al.*, 1994**).

C'est un édulcorant faiblement calorique et considéré comme virtuellement non calorique, dont le pouvoir sucrant est d'environ 200 fois supérieur à celui du saccharose. Son goût est agréable et son cout reste faible. Il permet de réduire la teneur calorique des denrées alimentaires et des boissons dans lesquels il est utilisé à la place du sucre (**Fredot, 2012**).

En 2011, la Commission européenne, l'EFSA (Européen Food Safety Authority ou Autorité Européenne de Sécurité des Aliments), avait demandé de réexaminer les risques liés à cet édulcorant (**Shaywitz *et al.*, 1994**).

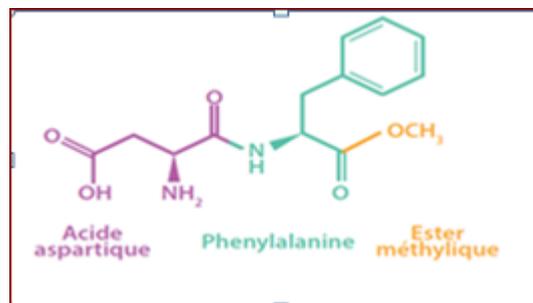


Figure n° 1. Structure chimique de l'Aspartame

a. Effets indésirables :

- L'aspartame contient de la phénylalanine et c'est un édulcorant instable à la chaleur. (**Ndeukou, 2014**) ;
- Sur le plan lipidique, l'aspartame a un effet athérogène via l'apolipoprotéine AI et le HDL (**Moffa, 2007**). De plus, il altère le système anti oxydant humain en réduisant l'activité de la glutathion réductase et le taux de glutathion au niveau du cerveau et du foie (**Bloino, 2009**) ;

- L'aspartame entraîne chez le rat des tumeurs malignes au niveau de l'uretère, le foie, le poumon et les voies urinaires, ainsi que des leucémies, lymphomes et carcinomes rénaux **Bloino, 2009** ;
- En association synergique avec d'autres additifs alimentaires il a des effets cytotoxiques en déclenchant une apoptose cellulaire chez le rat et en inhibant la croissance de neurones chez les souris **(Horio et al., 2014)** ;
- L'aspartame est impliqué dans l'augmentation des risques de prématurité **(Afssa, 2002)**

I.2.2.2 Acésulfame de potassium ou acésulfame K (SIN 950)

C'est un édulcorant non calorique découvert en 1967. Son pouvoir sucré est 130 à 200 fois plus élevé à celui du sucre **(Fredot, 2012)**.

L'acésulfame K est souvent mélangé avec de l'aspartame ou d'autres édulcorants. Ces mélanges donnent un goût ressemblant à celui du sucre ou chaque édulcorant masque l'arrière-goût de l'autre et par effet de synergie le mélange est plus doux que la somme de ses composants **(Fredot, 2012)**.

C'est une substance non métabolisée par l'organisme mais ne s'y accumule pas et il est éliminé sous une forme inchangé dans les urines **(Fredot, 2012)**.

En 1985, le comité scientifique de l'union européenne pour l'alimentation, a accepté l'utilisation de l'acésulfame K dans les aliments et les boissons, sachant que son utilisation est sans risque, avec un taux inférieur à 15 mg/kg de poids corporel (DJA) **(Fredot, 2012)**.

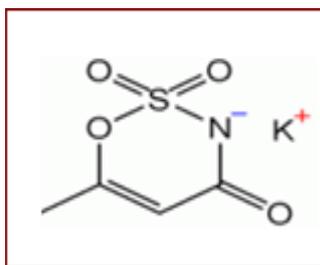


Figure n°2. Structure chimique de l'Acésulfame K

a. Effets indésirables

Mise à part son arrière-goût amer. L'acésulfame de potassium ne présente aucun effet secondaire. Cette amertume est corrigée par l'usage du ferulate de sodium ou la combinaison à d'autres édulcorants comme l'aspartame **(Bloino, 2009)**.

- Augmentation des dépôts de graisses en présence d'une insulino-résistance (**Zheng et al., 2014**) ;
- Pas d'effet cancérigène (**Boidron, 1992**) ;
- En utilisation conjointe avec l'aspartame aucun effet de génotoxicité n'est observé (**Bloino, 2009**) ;
- Pas d'effet tératogène chez les rats et les lapins (**Boidron, 1992**).

I.2.2.3. Stévia (Rebaudioside A)

Issu de la *stévia rebaudiana*, une plante d'Amérique latine dont les feuilles ont un pouvoir sucrant élevé. Dans son usage de base, les feuilles sont broyées et réduites en poudre pour sucrer les préparations.

Le pouvoir édulcorant est obtenu par des composés spécifiques à partir des feuilles de la plante. Ces composés sont appelés « glycosides de stéviols » ou « stéviolides » (**Dejong, 2014**).

La stévia a un pouvoir sucrant 300 fois plus élevé que le sucre classique (**Serio, 2010**)
En 1931, des chimistes français ont isolé les hétérosides (stéviolides et les rébaudiosides) qui confèrent le goût Sucré à cette plante.

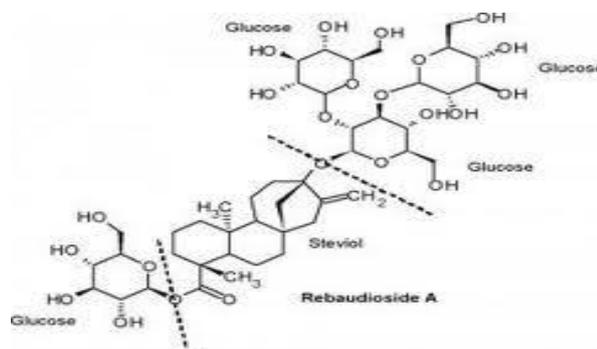


Figure n°3. Structure chimique du Rebaudioside A

Au début des années 1970 et dans le but de remplacer les édulcorants artificiels, les Japonais se sont intéressés aux cyclamates et la saccharine qui sont suspectés d'être cancérigènes. En effet, Le liquide extrait de ses feuilles et les stéviolides représentent 40 % du marché des édulcorants purifiés commercialisés au Japon depuis 1977 (**Serio, 2010**).

En 1986, des chercheurs brésiliens ont démontré que la stévia augmentait la tolérance au glucose et abaissait le taux de glycémie chez 16 volontaires sains (**Curi et al., 1986**).

En 2000, une autre équipe brésilienne a rapporté lors d'une étude *in vitro*, que les stévioides agissaient directement sur le pancréas, afin de stimuler la production d'insuline (**Jeppesen *et al.*, 2000**).

Par ailleurs, une autre étude menée sur des îlots de Langerhans isolés de souris, a montré que le rebaudioside A possède des effets analogues à l'insuline à forte doses (**Abudula *et al.*, 2004**).

En 2006, l'OMS a réalisé une évaluation approfondie sur les expériences concernant le stévioides et les stéviols menées sur l'homme et l'animal, elle a conclu que « le stévioides et le rebaudioside A ne sont pas mutagènes (*in vitro et in vivo*), de plus, les effets mutagènes du stéviol observés *in vitro* ne se sont pas manifestés *in vivo* ».

En outre, l'analyse de l'OMS n'a mentionné aucun effet cancérigène (**Serio, 2010**).

I.3 Avantages et inconvénients des édulcorants

I.3.1 Avantages

Les édulcorants sont utilisés largement dans le domaine agro-alimentaire. Ils permettent de réduire la teneur calorique des denrées alimentaires et des boissons pour remplacer le sucre. (**Fredot, 2012**)

L'utilisation de ces sucres peut aider les gens qui contrôlent leur poids à limiter leur apport en calories et réduire leur apport en sucres de leur régime alimentaire (**Goudable2011**).

Les polyols et les édulcorants intenses sont de plus acariogènes et convient aux diabétiques. Ainsi ; la stévia est utilisée comme une alternative naturelle des sucres synthétiques du faite de leur double intérêt, l'inaction sur la glycémie et l'absence de calories. (**Fredot, 2012**).

I.3.2 Inconvénients

Les polyols peuvent provoquer des douleurs abdominales par ballonnements et des diarrhées s'ils sont consommés en trop grand quantité. (**Fredot, 2012**)

Ils habituent de plus en plus au goût sucré, ce qui peut amener à manger plus de desserts, de barres chocolatées, ou de laitages édulcorés. Même si c'est de façon beaucoup moins marquée que pour les aliments sucrés, les aliments ou les boissons sucrées aux édulcorants intenses déclenchent une sécrétion d'insuline par le pancréas (**Serio, 2010**).

I.4 Population cibles des édulcorants

I.4.1 Utilisation des édulcorants de synthèse chez le diabétique

L'activité cérébrale est modifiée après l'ingestion de glucose, alors qu'elle ne l'est pas après la consommation d'édulcorants. Dans le premier cas, la glycémie est modifiée et déclenche donc la sécrétion d'insuline. Dans le second, l'édulcorant n'est pas reconnu par l'hypothalamus, il n'y a donc pas de « phase céphalique » de sécrétion de l'insuline.

En conséquence, le diabétique peut garder le plaisir du goût sucré aucune répercussion sur sa glycémie est ainsi gérer au mieux son diabète (**Moffa, 2007**).

I.4.2 Utilisation des édulcorants de synthèse chez la personne en surpoids et obèse

L'avantage des édulcorants de synthèse et en particulier des édulcorants intenses, est d'apporter un très fort pouvoir sucrant et cela sans aucune calorie.

L'utilisation d'édulcorants de table ou encore de produits industrialisés peut aider le patient en surcharge pondérale à contrôler son poids. De plus, la métabolisation des édulcorants de synthèse ne contribue pas à la formation de graisse dans le tissu adipeux contrairement au glucose (**Bloino, 2009**).

I.4.3 Utilisation des édulcorants dans la prévention de la carie dentaire

Les édulcorants de synthèse, et en particulier les polyols ne sont pas cariogènes. En effet, ils ne sont pas fermentescibles par les bactéries de la flore buccale. Ainsi, ils ne participent pas à la formation de la plaque dentaire, ni à la formation d'acide cariogène. De plus, ils modifient le pH de la bouche et l'activité des bactéries sera neutralisée (**Bloino, 2009**).

I.4.4 Utilisation des édulcorants dans l'hypertriglycéridémie

Il s'agit d'une maladie métabolique caractérisé par une augmentation du taux de triglycérides dans le sang du patient. Les origines de cette dyslipidémie sont véritables :

- Des causes héréditaires peuvent être impliquées ;
- Une consommation excessive d'alcool, de graisse alimentaire ou de sucres simples aggrave les complications ;
- Un diabète préexistant, une sédentarité ou encore des pathologies rénales.

Cette maladie est souvent associée à une obésité abdominale, une hypertension artérielle, une hyperglycémie et de faibles taux d'HDL-cholestérol (**Moffa, 2007**).

I.5 Les édulcorants dans la législation algérienne

Le régit de l'arrêté interministériel du 15 décembre 1999 relatif aux conditions d'utilisations des édulcorants dans les denrées alimentaires et l'article 16 de la loi n° 89-02 du 7 février 1989 et à ses modalités d'application fixées par les dispositions du décret exécutif n° 97-254 du 8 juillet 1997 concernant les édulcorants, définie celui-ci comme une substance non ou faiblement calorique, utilisée pour donner une saveur sucrée aux denrées alimentaires. Les édulcorants autorisés par la législation algérienne sont les polyols incluant le sorbitol, mannitol, isomalt, maltitol, lactitol, xilitol et les édulcorants intenses incluant l'acésulfame K, aspartame, saccharine et ses sels de sodium, de potassium et de calcium (**JORA, 1999**).

I.6 Jus d'orange commercialisé

I.6.1 Eau de procédé :

Le constituant majeur d'un jus de fruit est l'eau qui représente environ 85%.

Cette eau doit être potable tout en répondant à des critères physico-chimiques et microbiologiques (**Rodier, 1984**).

I.6.2 Sucre :

Désigne les produits obtenus en raffinerie provenant des plantes saccharifères, c'est-à-dire riche en saccharose (**Fredot, 2006**).

Le sucre est utilisé sous deux formes, l'une en poudre et l'autre en liquide. Le premier est employé pour les aliments secs lorsqu'il n'est pas souhaitable d'ajouter de l'eau, le sucre liquide est particulièrement aisé car il peut être pompé. Il est utilisé pour les boissons et doit être dissout comme le sirop blanc (**Cheftel, 1976**).

I.6.3 Pulpe d'orange :

La pulpe (endocarpe) est le résultat d'une première transformation d'orange.

La dénomination pulpe veut dire la partie comestible des fruits. Elle est transformée par l'endocarpe qui renferme des poils à boisson fruitée dans une mince membrane formée à partir de l'épiderme des carpelles qui les séparent en quartiers bien différenciés et se détachant généralement aisément les uns des autres.

L'orange douce diffère physiquement de l'orange amère par sa particularité d'avoir un centre solide (**Lehrner, 2000**).

I.6.4 Additifs alimentaires :

Les additifs alimentaires sont des substances habituellement non consommée comme aliment en soi et non utilisée comme ingrédient caractéristique dans l'alimentation. Ces substances possèdent ou pas de valeur nutritive et dont l'adjonction intentionnelle aux denrées alimentaires, dans un but technologique au stade de leur fabrication, préparation, traitement, conditionnement, transport ou entreposage, a peut être estimée avoir pour effet, qu'elle devient elle-même ou que ses dérivés deviennent, directement ou indirectement un composant des denrées alimentaires.

Les additifs alimentaires sont des produits ajoutés aux produits alimentaires de base dans le but d'en améliorer la conservation, la couleur, le goût et l'aspect...(**Mameche, 2009**).

Les additifs utilisés dans la fabrication de jus d'orange sont :

a) Les antioxydants (SIN 300, SIN 330)

Les antioxydants interviennent dans ces processus d'oxydation et empêchent la formation des produits de réaction gênants.

Un antioxydant convient d'exposer néanmoins son utilité en tant que sels puisqu'ils participent à la stabilisation chimique des produits agro-alimentaire (**Multon, 1992**).

b) Les conservateurs (SIN 202, SIN 211, SIN 223)

Ce sont des substances qui prolongent la durée de vie d'un aliment en le protégeant des altérations dues aux micro-organismes (bactéries, levures et moisissures...) (**De reynal et Multon, 2009**).

c) Les colorants (SIN 160, SIN 102)

Ce sont des facteurs importants, parfois décisifs dans le choix car la couleur est un élément immédiatement accessible pour l'évaluation de la qualité d'un aliment.

Ils sont employés pour séduire le consommateur ou pour distinguer certains aliments **(De reynal et Multon, 2009)**.

d) Les épaississants (SIN 466, SIN 415)

Ce sont des macromolécules qui se dissolvent ou se dispersent aisément dans l'eau pur, ce qui augmente remarquablement la viscosité et quelquefois sous l'action d'agents physiques telle que la température et/ou chimiques comme la présence d'ions **(De reynal et Multon, 2009)**.

e) Les arômes

Substances ou préparations ajoutées à un aliment ou à une boisson, pour lui conférer un nouvel arôme ou modifier celui qui existait déjà **(De reynal et Multon, 2009)**.

I.7 Procédé de fabrication de jus au niveau du SARL COJUNA

La fabrication de jus d'orange passe par quatre étapes essentielles.

I.7.1 Traitement de l'eau

L'eau utilisée dans la fabrication des jus est une eau issue des forages installés au sein de l'usine. Cette eau est rendue potable selon les étapes suivantes : **(Annexe II)**

a. Décantation

C'est un procédé utilisé dans toutes les usines d'épuration et de traitement des eaux, dans le but d'éliminer les particules en suspension et des colloïdes rassemblés en floc dont la densité est supérieur à celle de l'eau **(Desjardins, 2007)**.

b. Désinfection par le chlore (chloration)

La désinfection est un traitement visant à éliminer les micro-organismes pathogènes tels que (les bactéries, virus, parasites et la majorité des germes banals moins résistants). C'est le moyen de fournir une eau bactériologiquement potable, tout en maintenant un pouvoir

désinfectant suffisamment élevé pour éviter les reviviscences bactériennes dans les réseaux de distribution (**Cardot, 2002**).

c. Filtration

La filtration est un procédé physique destiné à clarifier un liquide qui contient des matières solides en suspension en le faisant passer à travers un milieu poreux constitué d'un matériau granulaire (**Cardot, 2002**).

d. Adsorption sur charbon actif :

Le charbon actif fait partie d'une gamme de substances présentant une très grande porosité et une surface spécifique importante de l'ordre de 500 à 1500 m²/ gramme de charbon. Ces qualités confèrent au charbon actif un grand pouvoir d'adsorption (**Cardot, 2002**).

e. Adoucissement

Cette technique s'emploie pour éliminer la dureté des eaux potables et industrielles lorsque leurs utilisations conduisent à un entartrage ou à des dépôts gênants (**Germain, 1976**).

I.7.2 Reconstitution du jus

La reconstitution du jus d'orange passe par différentes étapes : (**Annexe II**)

I.7.3 Traitement thermique (pasteurisation)

Il s'agit en général d'une Flash-pasteurisation (température élevée pendant un temps très court) permettant de limiter la dégradation des composés aromatiques induite par le chauffage (**Brat et Cuq, 2007**).

Le processus de pasteurisation est spécialement conçu pour détruire les organismes pathogènes qui peuvent être associés à la nourriture et prolonger la durée de conservation des produits (**Potter et Hotchkiss, 1998**). Ainsi, ce traitement thermique est essentiel pour inhiber les activités enzymatiques endogènes (**Brat et Cuq, 2007**).

I.7.4 Conditionnement

Habituellement les contenants sont stérilisés avec de la vapeur surchauffées ou par application de température élevés au moyen d'autres méthodes. Le conditionnement aseptique

est une méthode de conservation qui a récemment gagné en popularité pour la stérilisation des emballages faites de matériaux, tels que le papier contrecollé ou des matières plastiques, qui ne tolèrent pas le traitement thermique courant. Les matériaux d'emballage, stockés sous forme de rouleaux, sont amenés en continu dans une machine qui les stérilise avec de l'eau oxygénée chaude et parfois, de la lumière ultraviolette. Dans un environnement stérile, on fabrique avec le matériau des emballages que l'on remplit ensuite avec un aliment liquide préalablement stérilisé par une méthode thermique conventionnelle, les emballages remplis ne sont pas stérilisés après avoir été scellés.

I.8 Altérations pouvant toucher le jus d'orange

I.8.1 Altérations physico-chimiques

I.8.1.1 Brunissement enzymatique

On appelle « brunissement enzymatique » la transformation enzymatique dans ses premières étapes, de composés phénoliques en polymères colorés, le plus souvent bruns ou noirs (Cheftel, 1977).

I.8.1.2 Brunissement non enzymatique

Le terme « brunissement non enzymatique » désigne un ensemble très complexe de réaction aboutissant dans divers aliments à la formation de pigment bruns ou noirs et souvent à des modifications favorables ou indésirables de l'odeur ou de la saveur. Le brunissement non enzymatique est appelé aussi « réaction de Maillard », « caramélisation », ou « formation de mélanoidines » ; ce dernier mot désigne en général les pigments bruns ou noirs qui résultent des réactions de brunissement non enzymatique (Cheftel, 1977).

I.8.1.3 Dégradation de la vitamine C

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. Pour garantir une teneur optimale en vitamine C, les aliments doivent se conserver 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 la récolte (Gaulier, 2011).

I.8.2 Altération microbienne

Les germes présents dans les jus de fruits et les autres boissons hygiéniques non alcoolisées proviennent en grande partie de la matière première.

Le nombre de microorganismes dans les jus fraîchement pressés est souvent très élevé : il dépend de l'état des fruits (maturation, propreté) et du type d'extraction.

Les germes qui peuvent altérer les jus sont :

- a. **Les levures :** Elles provoquent la fermentation alcoolique qui peut être accompagné d'une production importante d'acide volatiles, de la formation de troubles ou des dépôts ainsi que l'apparition d'odeurs et des goûts anormaux.

L'altération se manifeste par un gout alcoolisé et surtout par un dégagement gazeux intense qui rend la boisson pétillante et qui peut faire gonfler ou éclater les emballages. L'action des levures se manifeste lorsque la température est inférieure à 35°C.

- b. **Les bactéries :** Il s'agit des bactéries lactiques hétérofermentaires et homofermentaires (*Lactobacillus* et *Leuconostoc*) qui peuvent fermenter les sucres et entrainer l'apparition des goûts et d'odeurs anormales,

Certaines bactéries dégradent les acides organiques comme les *Lactobacillus pastorianus*, d'autres peuvent libérer de grande quantité de diacétyl, ce qui donne un goût de beurre.

De plus les *Leuconostoc*, peuvent donner une viscosité anormale, un aspect huileux, ou une gélification par l'excrétion de polysaccharide.

- c. **Les moisissures :** Elles sont susceptibles d'entrainer des modifications de texture, elles se développent lorsque les conditions d'aération sont favorables.

Certaines moisissures peuvent clarifier les jus naturellement troubles. D'autres au contraire donne des troubles, des flocons et un brunissement des jus tels que les *Mucor*, *Aspergillus* et *Penicillium*.

Toutes ces altérations sont peu dangereuses de point de vue sanitaire, mais elles ont une grande importance de point de vue économique. Elles sont souvent très lentes et peuvent

apparaître après un temps de latence important. Dans d'autres cas au contraire, elles apparaissent très rapidement (**Larpen, 1987**).

I.9 Diabète

Le diabète se définit par un taux de sucre trop élevé dans le sang (glycémie), en rapport avec une carence absolue ou relative en insuline. Cette hormone, produite par le pancréas, permet au glucose de pénétrer à l'intérieur des cellules pour les nourrir. L'insuline est donc bien incontournable lorsqu'on évoque le diabète et son « manque » renvoie à la notion de dépendance (**Popelier, 2006**).

I.9.1 Effets des édulcorants intenses sur le risque de diabète de type 2 (DT2)

Des études de cohorte (**Bhupathiraju et al., 2013, Koning et al., 2011, Schulze et al., 2004**), d'une durée de 9 à 24 années, ne trouvent pas de relation entre la consommation de boissons édulcorées et le risque de développer un diabète de type 2 après ajustement sur l'indice de masse corporelle et l'apport énergétique des sujets.

Trois autres études de cohorte suggèrent une association positive entre consommation de boissons édulcorées et incidence du DT2 (**Fagherazzi G, 2012, Nettleton J, 2009, Sakurai et al., 2014**). Dans l'étude réalisée en France (**Fagherazzi G, 2012**), l'incidence du DT2 est significativement plus élevée dans le groupe des plus fortes consommatrices de boissons édulcorées (consommant plus de 600 mL par semaine) suivies pendant 14 ans, et les auteurs précisent que l'association est linéaire et dose-dépendante. La deuxième étude, réalisée aux Etats-Unis pendant 7 ans, a rapporté une augmentation de l'incidence du DT2 chez les consommateurs de plus d'une boisson édulcorée par jour dans un modèle avec ajustement sur les principaux facteurs de confusion. La troisième étude qui rapporte une incidence du DT2 augmentée chez les consommateurs de plus d'une boisson édulcorée par semaine porte sur une population japonaise d'effectif limité et non représentative de la population générale, suivie pendant 7 ans.

Il convient de souligner l'hétérogénéité de ces données, notamment au regard des caractéristiques des populations et des durées de suivi (de 7 à 24 ans). Par ailleurs, dans ces études, les consommations de boissons édulcorées sont recueillies au moment de l'inclusion des sujets, souvent par des questionnaires de fréquence auto-administrés, sans mise à jour des données alimentaires au cours du temps (**Anses, 2015**).

Cette étude a été réalisée au niveau de laboratoire du SARL COJUNA de Blida pendant un mois, et au laboratoire de toxicologie SAIDAL Biotic de Gué de Constantine Alger pendant 45 jours.

Au cours de ce stage nous avons suivi le procédé de fabrication d'un jus à base de pulpe d'orange, de la matière première jusqu'au produit fini.

Nous avons proposé à l'unité COJUNA de faire une formulation de quatre (04) jus à base de pulpe d'orange composer des édulcorants ci-dessous afin de suivre le poids corporel et la glycémie des souris *Albinos* en stade de croissance :

1. Jus light à base d'un seul édulcorant (Aspartame).
2. Jus light à base d'un seul édulcorant (Acésulfame K).
3. Jus light à base d'un mélange (Aspartame+Acésulfame K).
4. Jus light à base d'un seul édulcorant naturel (Stévia).

NB : ces produits subissent les mêmes analyses physico-chimiques et microbiologiques que le produit fini.

II. 1 Matériels

II.1.1 Matériels biologiques

- L'eau de procès.
- Les jus à base de pulpes d'orange.
- La pulpe d'orange.
- Les souris albinos. (le modèle animal a été choisi selon la disponibilité des souris dans le groupe SAIDAL)

II.1.2 Matériels non biologiques

- Verrerie et appareillages. (**Annexe III**)
- Milieux de cultures. (**Annexe IV**)
- Réactifs et solutions. (**Annexe III**)

II.2 Méthode

II.2.1 Echantillonnage

II.2.1.1. Echantillonnage de la matière première

- **Eau de procès**
 - ✓ Stérilisation du robinet par l'alcool.
 - ✓ Flambage du robinet par une flamme.
 - ✓ Ouvrir le robinet du bac pour laisser sortir une petite coulée.
 - ✓ Recueillir l'eau dans un flacon stérile et fermé à côté de la flamme.
- **Pulpe d'orange**

Le prélèvement est effectué juste avant la production, les échantillons sont pris directement des futs dans des conditions d'asepsie de la manière suivante :

- ✓ A l'aide d'une spatule stérile, prélever des échantillons au moment de l'ouverture des futs.
- ✓ Les échantillons prélevés sont mis dans une boîte de pétrie puis entouré avec du papier aluminium.

- **Sucre**

Le prélèvement est effectué au moment de l'ouverture des sacs en suivant le même principe utilisé pour le prélèvement au niveau des futs :

- ✓ Stériliser tout autour de l'ouverture des sacs de sucre par le flambage.
- ✓ Le prélèvement été réalisé à l'aide d'une spatule dans une boîte de pétrie stérile et fermé puis entouré avec du papier aluminium.

II.2.1.2 Echantillonnage du produit semi fini

Le produit semi-fini est envoyé dans un bac de correction, une fois homogénéisé le prélèvement est réalisé dans des récipients stériles.

II.2.1.3 Echantillonnage du produit fini

- ✓ Les échantillons ont été prélevés aléatoirement sur une même ligne de production.
- ✓ Prélever 5 bouteilles, qui seront analysés.

II.2.2 Méthodes d'analyses physico-chimiques

Le tableau I représente les différents analyses physico-chimiques effectuées de la matière première jusqu'au produit fini.

Tableau I. Analyses physico-chimiques des différents produits.

Paramètres Produits	pH	TH (°F)	CL ⁻ (mg/l)	Brix (°B)	Acidité (mg/l)	Vitamine C (mg/l)	Température (°C)
Eau de procès	+	+	+	-	-	-	-
Sucre	-	-	-	-	-	-	-
Pulpe d'orange	+	-	-	+	+	-	-
Produit semi fini	-	-	-	+	-	-	-
Produit fini	+	-	-	+	+	+	+

+ : Analyses effectuées.

- : Analyses non effectuées.

II.2.2.1 Analyse physico-chimique de l'eau de procès

II.2.2.1.1 Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH est une grandeur mesurant la concentration des ions d'hydrogène dans une solution. Il est l'un des paramètres les plus importants lorsqu'il s'agit de déterminer la qualité d'une eau.

Les mesures du pH ont été relevées à l'aide d'un pH mètre préalablement étalonné. (Annexe VI) (Benayad, 2010).

- **Etalonnage**

La mesure correcte du pH implique l'étalonnage périodique de l'ensemble instrument-électrode au moyen des solutions tampons.

Dans un premier temps un tampon à pH7est utilisé ensuite un deuxième tampon à pH 4 ou 9 cela permet de compenser la perte de sensibilité de l'électrode (**Polycopie interne de COJUNA**).

Pour le produit semi-fini et le produit fini on utilise le tampon pH 7 et pH 4.

- **Mode opératoire**

- ✓ Verser 50 ml du produit à analyser dans un Becher.
- ✓ Introduire l'électrode dans le Becher.
- ✓ Laisser la valeur indiquer se stabiliser.
- ✓ Lire la valeur du pH apparue sur l'écran de l'appareil.
- ✓ Rincer l'électrode avec de l'eau distillée.

- ✓ La mesure du pH permet de déterminer l'acidité de la boisson.

- **Résultat**

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

II.2.2.1.2 Mesure du chlore (Cl_2)

Le chlore libre se présente sous forme d'acide hypochlorite ou de Cl_2 élémentaire dissous. La réaction est directe avec le Diéthyl-Phénylène-Diamine (DPD) qui s'oxyde en donnant une coloration rouge (**Rodier et al, 2005**).

- **Mode opératoire**

- ✓ Mettre 10ml de l'eau à analyser dans une cuve.
- ✓ Ajouter une pastille de Diéthyl-Phénylène-Diamine (DPD).
- ✓ Attendre la dissolution totale de la pastille, puis le virage de couleur.
- ✓ Verser ensuite le contenu de la cuve dans un comparateur de couleur (les couleurs vont du rose très pâle au rose foncé). (**Annexe VI**)
- ✓ Lire ensuite la valeur à laquelle correspond la coloration de l'échantillon.

- **Résultat**

Lire la concentration du chlore libre en mg/l dans la fenêtre de l'échelle.

II.2.2.1.3 Mesure du Titre Hydrométrique (TH)

Il détermine la dureté de l'eau, le TH correspond à 10 mg de carbonate de calcium par litre d'eau (**Germain, 1976**).

La mesure du TH permet de doser la somme des ions Mg^{2+} et Ca^{2+} , les alcalinoterreux tels que le magnésium et le calcium présent dans l'eau sont amenés à former un complexe de type chélate par le sel disodique de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à pH =10.

La disparition des dernières traces d'éléments libres à doser est décelée par le virage d'un indicateur spécifique, le noir d'ériochrome, en milieu convenablement tamponné, pour empêcher la précipitation de magnésium (**Rodier et al, 2005**).

- **Mode opératoire**

- ✓ Mettre 5 ml de l'eau à analyser dans une cuve.
- ✓ Ajouter 5 gouttes du réactif « Hardness Buffer » en mélangeant par des mouvements circulaires.

- ✓ Ajouter 1 goutte de réactif « calmagite indicator » ; solution se teinte en rouge violet.
- ✓ Remplir la seringue avec le réactif HI3812-EDTA (le piston doit se trouver sur la marque 0).
- ✓ Ajouter le réactif goutte à goutte (15 secondes entre chaque goutte) en mélangeant par des mouvements circulaires.
- ✓ Lorsque la solution vire au bleu le titrage est terminé.

Pour obtenir la dureté, multipliez la quantité du réactif rajoutée (lu sur la seringue) par 300 (HANNA, 2005).

- **Résultat**

$$\text{TH } (^{\circ}\text{F}) = \text{V} \times 300$$

TH: Titre Hydrométrique ($^{\circ}\text{F}$).

V : Volume du réactif lu sur la seringue (ml).

II.2.2.2 Analyses physico-chimique (pulpe d'orange, produit semi-fini, et produit fini)

II.2.2.2.1 Mesure de l'indice de Réfraction (degré Brix)

Il sert à mesurer en degré Brix ($^{\circ}\text{B}$) la fraction de saccharose dans un liquide, c'est-à-dire le pourcentage de la matière sèche soluble (Bourgeois, 1991).

L'indice de réfraction est mesuré par le réfractomètre (Annexe VI).

- **Mode opératoire**

- ✓ Etalonner l'appareil par de l'eau distillée.
- ✓ Nettoyer délicatement la surface du puits de mesure.
- ✓ Remplir le puits de mesure avec l'échantillon à l'aide d'une pipette en plastique
- ✓ Appuyer sur la touche « READ », les mesures sont affichées en degré Brix ($^{\circ}\text{Brix}$).
- ✓ Oter l'échantillon en l'absorbant avec un tissu doux.
- ✓ Rincer soigneusement le prisme à l'eau distillée.

- **Résultat**

Les résultats sont affichés directement par le réfractomètre.

II.2.2.2.2 Mesure de l'acidité

La détermination de l'acidité est réalisée par une méthode titrimétrie à l'aide d'une base de normalité connue.

L'acidité titrable représente l'acide citrique anhydre présent dans le fruit.

- **Principe**

L'acidité titrable est obtenue par titration de 50 ml de jus par de la soude 1 N avec le phénol phtaléine comme indicateur coloré.

La totalité de l'acide est consommée par la base lorsque la couleur de la solution initiale dévier vers le rouge en présence de phénolphtaléine (**AFNOR, 1986**).

L'acidité est exprimée en mg/l.

- **Mode opératoire**

- ✓ Verser 50 ml du produit à analyser dans un Becher
- ✓ Ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine
- ✓ Titrer à l'aide d'une solution de soude (NaOH) (1N), jusqu'au virage de couleur jaune vers l'orange (**Annexe VI**).
- ✓ Faire la lecture : lire le volume sur la burette (**Annexe VI**).

NB : Pour la pulpe 5 mg de la pulpe d'orange sont mise dans 70 ml de l'eau distillée.

- **Résultat :**

$$\text{L'acidité (mg/l)} = V_1 \times 1.4$$

V_1 : La chute de burette en ml de soude (NaOH) utilisé pour le dosage (ml).

II.2.2.2.3 Mesure de la vitamine C

La vitamine C est une vitamine hydrosoluble sensible à la chaleur et à la lumière jouant un rôle important dans le métabolisme de l'être humain et de nombreux autres mammifères.

La vitamine C est exprimée en mg/l.

- **Mode opératoire**

- ✓ Verser 100 ml du produit à analyser dans un Becher.
- ✓ Ajouter 2 ml d'empois d'amidon.
- ✓ Titrer à l'aide d'une solution d'iode (I_2) (0.1N), jusqu'au virage de couleur jaune vers le vert (**Annexe VI**).
- ✓ Puis faire la lecture (**Annexe VI**).

- **Résultat**

$$\text{Vitamine C (mg/l)} = V_1 \times 88$$

V_1 : La chute de burette en ml de l'iode (I_2) utilisé pour le dosage (ml).

II.2.2.2.4 Mesure de la température

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

- **Mode opératoire**

- ✓ Verser 50 ml du produit à analyser dans un Becher.
- ✓ Introduire l'électrode dans le Becher.
- ✓ Laisser la valeur indiquée se stabiliser.
- ✓ Lire la valeur de la température apparue sur l'écran de l'appareil.
- ✓ Rincer l'électrode avec de l'eau distillée.

La mesure de la température permet de déterminer l'acidité d'une boisson.

- **Résultat**

Lecture directe de la valeur de la température sur le thermomètre.

II.2.2.2.5 Mesure du pH

Le pH est mesuré directement à l'aide d'un pH-mètre. (**Annexe VI**)

II.2.3 Méthodes d'analyses microbiologiques

Le contrôle microbiologique vise à vérifier d'une part la conformité de l'aliment à des critères microbiologiques, déterminée par des normes internationales. D'autre part, vérifier les bonnes pratiques de la fabrication et d'hygiène dans les industries agroalimentaires (**Dromigny, 2011**).

Tableau II. Analyses microbiologiques des différents produits

Produits Germes recherchés	Eau de procès	Pulpe	Sucre	Produit fini
Germes mésophile totaux à 37°C	+	+	+	+
Germes mésophile totaux à 22°C	+	+	+	+
Coliformes totaux à 37°C	+	+	+	+
Coliformes fécaux à 44°C	+	+	+	+
Levures et moisissures à 22°C	-	-	+	+
Clostridium Sulfito-Réducteurs à 37°C	+	+	+	+
Streptocoques fécaux à 37°C	+	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> à 37°C	-	+	-	-
Salmonelle à 37°C	-	+	-	-

(+) analyse effectuée

(-) analyse non effectuée

Préparation des dilutions

a) Cas d'un produit liquide (jus)

Le jus d'orange étant un produit liquide dont il sera considéré comme solution mère (SM=1)

a.1) Dilutions décimales

- Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1ml de la solution mère dans un tube stérile contenant au préalable un diluant TSE, on obtient donc la dilution 10^{-1} .
- A l'aide d'une pipette stérile introduire 1ml de la dilution (10^{-1}) obtenue dans un tube stérile contenant au préalable 9ml du diluant TSE, on obtient la dilution 10^{-2} et de la même façon préparer les dilutions (10^{-3}).

b) En cas d'un produit solide (pulpe et sucre)

Introduire aseptiquement 25g de produit à analyser dans un tube bocal stérile contenant au préalable 225 ml de diluant TSE, homogénéiser pendant quelques minutes. Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM).

b.1) Dilutions décimales

- Pour obtenir la dilution 10^{-2} , introduire aseptiquement 1ml de la dilution DM dans un tube stérile contenant 9ml du diluant TSE.
- Pour obtenir la dilution 10^{-3} , introduire aseptiquement 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube stérile contenant 9ml du diluant TSE.

1/ Recherche et dénombrement de germes aérobies mésophiles totaux (GAMT)**a) Eau de procès****❖ Principe**

Le dénombrement des GAMT se fait sur gélose tryptone glucose à l'extrait de levure agar (TGEA) à deux températures différentes afin de cibler à la fois les germes à tendance psychrophile (+22°C) et ceux à tendance mésophile (+37°C) (**Joffin et Joffin, 2000**).

❖ Mode opératoire

- ✓ Mettre une boîte de pétri témoin contenant la gélose TGEA;
- ✓ Porter aseptiquement 2 fois 1 ml de l'eau du procès dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées ;
- ✓ Ajouter ensuite dans chacune des 2 boîtes 20 ml de gélose TGEA (fondue puis refroidie à +45°C) ;
- ✓ Faire des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose ;
- ✓ Laisser solidifier sur paillasse ;
- ✓ Incuber avec un couvercle en bas la première boîte à +37°C et la seconde à +22°C pendant 72h avec une lecture toute les 24h (**JORA, 1998**).

❖ Lecture

Les colonies de GAMT se présentent dans les deux cas sous forme lenticulaire poussant en masse.

❖ Dénombrement

Compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs suivants

- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

$$m = \frac{\sum(n \times d)}{3}$$

- **m** : moyenne arithmétique de GAMT /ml
- **n** : nombre de colonies.
- **d** : l'inverse de la dilution.
- **3** : nombre de boîte.

b) Pulpe, sucre et produit fini

❖ Mode opératoire

- ✓ Mettre une boîte de pétri témoin contenant la gélose TGEA ;
- ✓ A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement à l'aide d'une pipette Pasteur 1ml dans une boîte de Pétri vide préparée à cet usage et numérotée ;
- ✓ Compléter ensuite avec 20ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $+45^{\circ}\text{C}$;
- ✓ Homogénéiser le mélange par des mouvements circulaires et en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.
- ✓ Laisser solidifier sur pailleasse ;
- ✓ Incuber les boîtes couvercles en bas à $+30^{\circ}\text{C}$ pendant 72h (**JORA, 1998**).

❖ Lecture

- Les colonies de GAMT se présentent sous forme lenticulaire en masse.
- La lecture se fait chaque 24h.

❖ Dénombrement

- Le dénombrement est effectué pour les boîtes dont le nombre de colonies varie entre 15 et 300 colonies.
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

2/ Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

a) Eau de procès

❖ Principe

Les coliformes totaux et fécaux sont des entérobactéries vivantes principalement dans les intestins. Ils sont des espèces fécales qui constituent des germes indicateurs de contamination fécale en bactériologie alimentaire et des eaux.

Les coliformes totaux sont recherchés à +30°C ou +37°C, tandis que les coliformes fécaux sont recherchés à +44°C. Ces derniers correspondent le plus souvent à *Escherichia coli* (Dellaras, 2007).

❖ Mode opératoire

➤ Test de présomption

- ✓ Porter 3 fois 10ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche du Durham ;
- ✓ Porter 3 fois 1ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham ;
- ✓ Porter 3 fois 0.1ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham ;
- ✓ Chasser l'air présent 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 (ISO 4832, 2006).

❖ Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche) ;
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).
- Noter le nombre de tubes positifs dans chaque série et se rapporter à la table de nombre le plus probable (Annexe V) pour obtenir le nombre de coliformes totaux dans 100ml d'eau à analyser.

➤ **Test de confirmation**

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

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

- ✓ Les tubes BCPL trouvés positifs lors du Test de Présomption feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une pipette Pasteur dans un tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche ;
- ✓ Chasser le gaz présent éventuellement dans les cloches ;
- ✓ Bien mélanger le milieu et l'inoculum ;
- ✓ L'incubation se fait cette fois-ci à +44°C pendant 24heures (**ISO 4832, 2006**).

❖ **Lecture**

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux ;
- Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *E.coli* après adjonction de 3 gouttes du réactif de Kowacs.
- Noter le nombre de tubes positifs dans chaque série et se rapporter à la table de nombre le plus probable pour obtenir le nombre d'*Escherichia coli* dans 100 ml d'eau à analyser.

b) Pulpe et produit fini

Le dénombrement des coliformes est effectué dans le milieu gélose lactosé bilié au cristal violet et au rouge neutre (VRBL).

❖ **Mode opératoire**

- ✓ Mettre une boîte de pétri témoin contenant la gélose VRBL;
- ✓ A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 2 fois 1ml dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées ;
- ✓ Compléter ensuite chaque boîte avec 20ml de la gélose VRBL, fondue puis refroidie à +45°C ;
- ✓ Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée ;

- ✓ Une série de boîtes est incubée à +37°C, pendant 24 à 48 h et servira à la recherche des Coliformes Totaux ; l'autre série est incubée à +44 °C pendant 24 à 48 h et servira à la recherche des Coliformes Féciaux (**ISO 4832, 2006**).

❖ Lecture

Que ce soit à +37 ou à +44°C, les premières lectures se feront au bout de 24h et consistent à repérer les petites colonies rouges ayant poussé en masse fluorescentes, ce qui signifie que la lecture doit se faire dans une chambre noire et sous une lampe à UV. Les autres colonies non fluorescentes ne sont pas des coliformes totaux.

❖ Dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs de dilutions ;

- Les colonies apparaissent violettes de 0.5 à 1mm de diamètre entourées d'un halo de précipité des sels biliaires ;
- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions ;

3/ Recherche et dénombrement des levures et moisissures dans le sucre et le produit fini

❖ Principe

Le milieu gélose Sabouraud au chloramphénicol est utilisé pour la croissance des levures et moisissures. Elle est favorisée par les substances nutritives apportées par l'extrait de levure et le glucose utilisé comme source énergétique.

Le chloramphénicol est un antibiotique antibactérien à large spectre (**Dellaras, 2007**).

❖ Mode opératoire

- ✓ Mettre une boîte de pétri témoin contenant la gélose Sabouraud au chloramphénicol;
- ✓ A partir des dilutions décimales, 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1 ml dans des boîtes de Pétri vides et stériles ;
- ✓ Couler environ 20ml de milieu, fondue puis refroidie à +45°C ;
- ✓ Homogénéiser parfaitement par des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » ;

- ✓ Laisser solidifier sur paillasse ;
- ✓ Incuber à +22°C pendant 5 jours (**JORA, 1998**).

❖ **Lecture**

- Dénombrer les colonies de levures et de moisissures dans les boites contenant 15 et 300 colonies ;
- Multiplier le nombre trouvé par l'inverse de la dilution correspondante ;
- Faire ensuite la moyenne arithmétique, puis exprimé le résultat final en UFC par ml ou par gr de produit à analyser.

4/ Recherche et dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs

a) **Eau de procès**

❖ **Principe**

Les clostridium sulfito-réducteurs (CSR) sont capables de réduire les sulfites présents dans le milieu de culture en sulfures ; ceux-ci se combinent avec un sel de fer pour donner du sulfure de fer noir. Les colonies noir entourées d'un halo noir sont caractéristiques de bactéries sulfitoréductrices (ou anaérobies sulfito-réducteurs), de *Clostridium* ou de *C.perfringens* après confirmation selon les conditions de recherche (**Dellaras, 2007**).

❖ **Mode opératoire**

- ✓ Faire fondre un flacon de gélose Viande foie (VF) ;
- ✓ Refroidir au Bain Marie à +45°C ;
- ✓ Ajouter aseptiquement une ampoule d'Alun de Fer et une ampoule de sulfite de sodium et mélanger bien ;
- ✓ Puis maintenir le flacon dans une étuve à +45°C jusqu'au moment de l'utilisation ;
- ✓ Introduire 20 ml d'eau dans un tube à essai sec stérile ;
- ✓ Chauffer à +80°C pendant 8 à 10 minutes ;
- ✓ Refroidir sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées ;
- ✓ Répartir dans 4 tubes à raison de 5 ml par tube ;
- ✓ Ajouter environ 15 ml de gélose VF ;
- ✓ Mélanger soigneusement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air ;
- ✓ Laisser solidifier, puis incuber à +37°C pendant 16h, 24h ou au plus tard 48 heures (**JORA, 1998**).

❖ Lecture

Dénombrer toute colonie noire de 0.5 mm de diamètre, poussant en masse et de rapporter le total des colonies à 20 ml d'eau à analyser.

b) Pulpe, sucre et produit fini**❖ Mode opératoire**

- ✓ Faire fondre un flacon contenant le milieu VF dans un bain marie puis le refroidir dans l'étuve à +45°C. Ajouter une ampoule d'Alun de Fer et une ampoule de sulfite de sodium et bien mélanger ;

Les tubes contenant les dilutions 10^{-3} à 10^{-1} seront soumis à :

- ✓ Un chauffage à +80°C pendant 8 à 10 minutes ;
- ✓ Un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet ;
- ✓ A partir de ces dilutions, porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles ;
- ✓ Ajouter environ 15 ml de gélose VF prête à l'emploi, dans chaque tube ;
- ✓ Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes ;
- ✓ Incuber à +37°C pendant 48 heures (**JORA, 1998**).

❖ Lecture

La première lecture doit se faire impérativement à 16 heures car :

- D'une part les colonies de CSR sont envahissantes auquel cas on 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 poussé en masse et d'un diamètre supérieur à 0.5mm. Dans le cas où il n'y a pas de colonie caractéristique ré-incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24 heures voire 48 heures.

5/ Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux dans l'eau de procès**❖ Principe**

Le dénombrement des streptocoques fécaux se fait sur deux milieux liquides sélectifs :

Milieu Rothe qui contient l'azoture de sodium qui est inhibiteur des bactéries Gram négatif.

L'action inhibitrice de Rothe est renforcée par le milieu Litsky qui contient l'éthyl-violet (agent inhibiteur de bacilles Gram positif). Il colore le dépôt de certaines streptocoques D en violet (pastille violette) au fond du tube (**Dellaras, 2007**).

❖ Mode opératoire

c) Test de présomption

- ✓ Porter 3 fois 10ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu ROTHE D/C;
- ✓ Porter 3 fois 1ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu ROTHE S/C ;
- ✓ Porter 3 fois 0.1ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu ROTHE S/C;
- ✓ Mélanger le milieu et l'inoculum ;
- ✓ L'incubation se fait à +37°C pendant 24 à 48 heures (**JORA, 1998**).

❖ Lecture

Les tubes considérés comme positifs sont ceux qui présentent un trouble microbien.

d) Test de confirmation

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

- ✓ Les tubes positifs feront l'objet d'un repiquage dans des tubes contenant le milieu EVA-LITSKY.
- ✓ Bien mélanger le milieu et l'inoculum ;
- ✓ Incuber à +37°C pendant 24 heures (**JORA, 1998**).

❖ Lecture

Les tubes positifs présentent à la fois :

- Un trouble microbien ;
- Une pastille blanchâtre ou violette au fond de tube.

Noter le nombre des tubes positifs dans chaque série et se rapporter à la table du nombre le plus probable pour obtenir le nombre de streptocoque fécaux présent dans 100 ml d'eau à analyser.

6/ Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* dans la pulpe

❖ Principe

Le dénombrement de *Staphylococcus aureus* s'effectue par la méthode de NPP. Elle utilise un enrichissement en bouillon Giolitti Cantoni (GC) qui stimule la croissance des staphylocoques suivi d'un isolement sélectif sur milieu gélose Chapman (Dellaras, 2007).

❖ Mode opératoire

Préparation du milieu d'enrichissement :

Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu GC pour y ajouter 15 ml d'une solution de Tétrurite de Potassium. Mélanger soigneusement. Le milieu est alors prêt à l'emploi.

- ✓ A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 1 ml par dilution dans un tube ;
- ✓ Ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement ;
- ✓ Bien mélanger le milieu et l'inoculum ;
- ✓ Incuber à +37°C pendant 24 à 48 heures (JORA, 1998).

❖ Lecture

Seront présumés positifs, les tubes ayant virés au noir.

- Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *S. aureus*, ces tubes feront l'objet d'une confirmation par isolement sur gélose Chapman fondue, coulée en boîtes de Pétri et bien séchées.
- Les boîtes de Chapman ainsiensemencées seront incubées à leur tour à +37°C pendant 24 à 48 heures.

❖ Dénombrement

- Si à la dilution 10^{-3} , le tube à noirci au bout de 24 heures d'incubation, mais à l'isolement sur Chapman, il n'y a pas de colonies caractéristiques, ce tube est considéré comme négatif.
- Si par contre à la dilution 10^{-1} , le tube à noirci au bout de 24 heures d'incubation, et à l'isolement, il y a des colonies caractéristiques, il faut tenir compte de la dilution en question, car le nombre réel de *Staphylococcus aureus* correspond à l'inverse de la dilution.

7/ Recherche et identification des salmonelles dans la pulpe

❖ Principe

La recherche de salmonelle dans les denrées alimentaires se fait par trois étapes : un pré-enrichissement sur Eau Peptonée Tamponnée (EPT), un enrichissement sélectif sur le bouillon au sélénite de sodium et à la cystéine (SFB) et en fin un isolement sélectif sur le milieu Hektoen.

❖ Mode opératoire

➤ Pré-enrichissement

- ✓ Prélever 25g de produit dans un flacon stérile contenant 225ml d'EPT.
- ✓ Homogénéiser puis incuber à +37°C pendant 18 à 24 heures.

➤ Enrichissement

- ✓ Porter 10 ml du pré-enrichissement sur bouillon SFB S/C ;
- ✓ Porter 100 ml du pré-enrichissement sur bouillon SFB D/C ;
- ✓ Incuber les deux flacons à +37°C pendant 18 à 24 heures (**JORA, 1998**).

➤ Lecture

Les tubes considérés comme positifs sont ceux qui présentent un virage de la couleur jaune au rouge brique et feront l'objet d'un isolement sur gélose Hektoen plus l'additif Hektoen.

➤ Isolement

Un ensemencement en surface et en strie pour l'isolement sur gélose Hektoen préalablement coulé en boîte, les retourner puis les incuber à 37°C pendant 24 heures.

❖ Lecture

Les salmonelles se présentent sous formes de colonies de 2 à 4 mm de diamètre et de couleur bleu verdâtre à centre noir (H_2S^+).

II.2.4 Etude expérimentale

Une expérimentation animale sur des souris de souches albinos est réalisée afin d'estimer l'effet des différents édulcorants (naturel et synthétiques) contenus dans le jus light sur le poids corporel et le taux de glycémie.

II.2.4.1 Régime et élevage :

L'étude a été réalisée sur 18 souris mâles et de souches albinos pesant (25 à 35 g \pm 4), fournis par le laboratoire pharmacotoxicologie du complexe SAIDAL.

Les souris sont réparties individuellement dans des cages et maintenus dans des chambres ventilées avec un cycle lumière/obscurité (12/12h), une température de (18°C \pm 2) et une humidité de (70%).

Ces souris sont répartis en 6 lots de 3 souris chacun et recevant un régime ONAB supplémenté quotidiennement avec 1 ml d'une des solutions : Sucré (lot suc), Aspartame + Acésulfame (lot MIg), Aspartame (lot Asp), Acésulfame (lot Acé), Stévia (lot Stv), en plus du régime témoin (lot T) supplémenté avec l'eau distillée (**Figure n°1**).

En effet, l'administration de différentes solutions est effectuée par gavage à travers une sonde gastrique en raison de 0.5ml chaque 2 heures, en suivant les étapes suivantes :

- Les souris doivent être soulevées en les prenant par la base de la queue (jamais par le bout de la queue).
- Déposer la souris sur une surface sur laquelle leur griffes en prise.
- Elles doivent alors être immédiatement empoignées par la peau du cou (assemblage des deux oreilles) à l'aide du pouce et de l'index (**Annexe VI**).
- Soulever la souris en plaçant la queue entre le petit doigt et la paume de la main ou entre le quatrième et le cinquième doigt.

La procédure de gavage est très bien exécutée en :

- Insérant une sonde de gavage au-dessus de la langue ensuite dans l'œsophage.
- Insérer soigneusement en longeant le palais.
- Retirer doucement la sonde

L'immobilisation adéquate et la posture sont importantes (**Annexe VI**).

Le poids corporel est mesuré et la glycémie est dosée après 12 heures de jeûne chaque dix (10) jour pendant 45 jours.

Les différentes étapes de la phase expérimentale sont mentionnées dans la figure suivante :

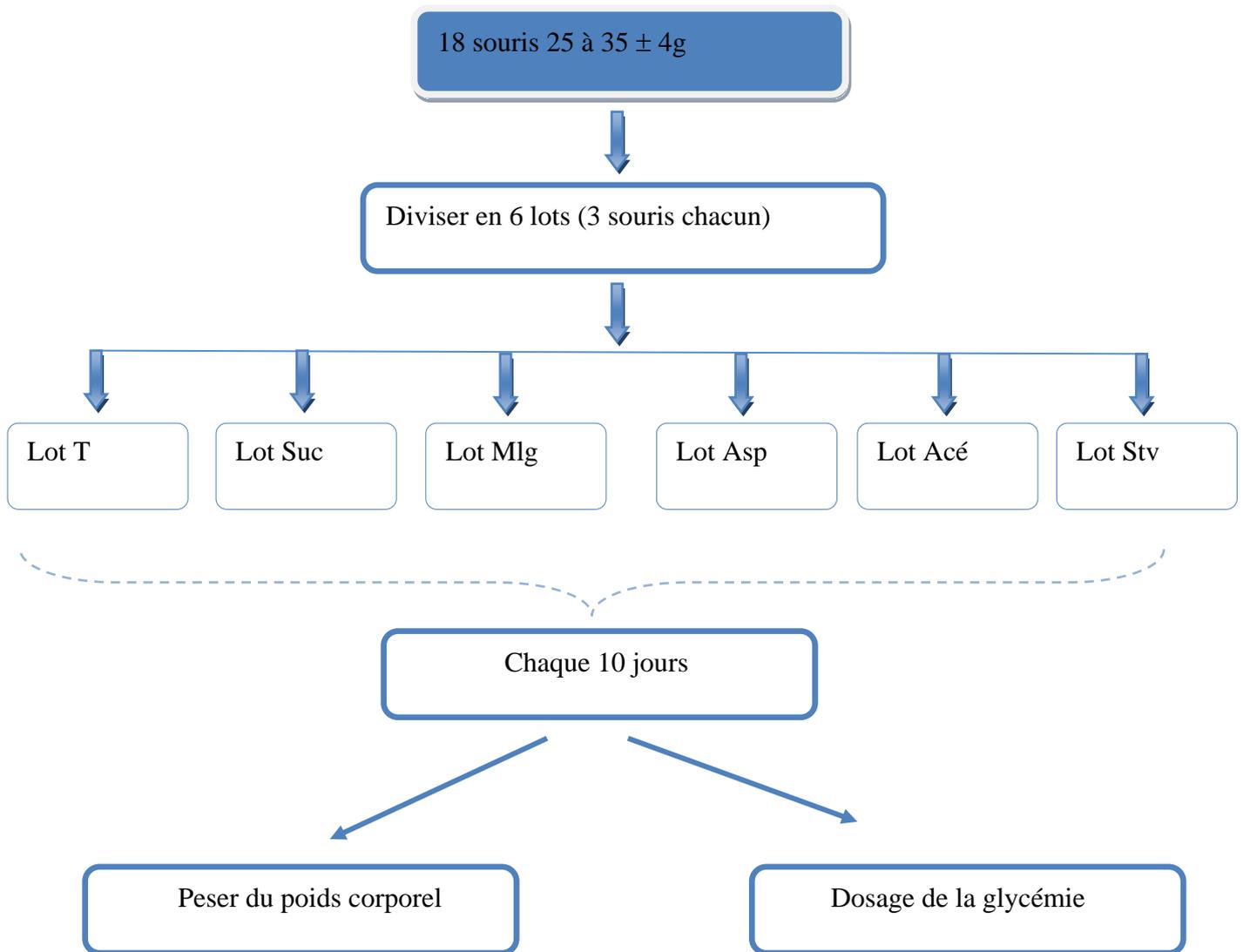


Figure n°4. Différentes étapes de la phase expérimentale

III.1 Résultats des analyses physico-chimiques :

III.1.1 Eau de procès :

La qualité physico-chimique de l’eau de procès est très importante car elle intervient directement dans la qualité du produit fini.

Les résultats des analyses physico-chimiques de l’eau de procès des jus sucré et lights sont mentionnés dans les figures ci-dessous.

III.1.1.1 Potentiel d’hydrogène (pH) :

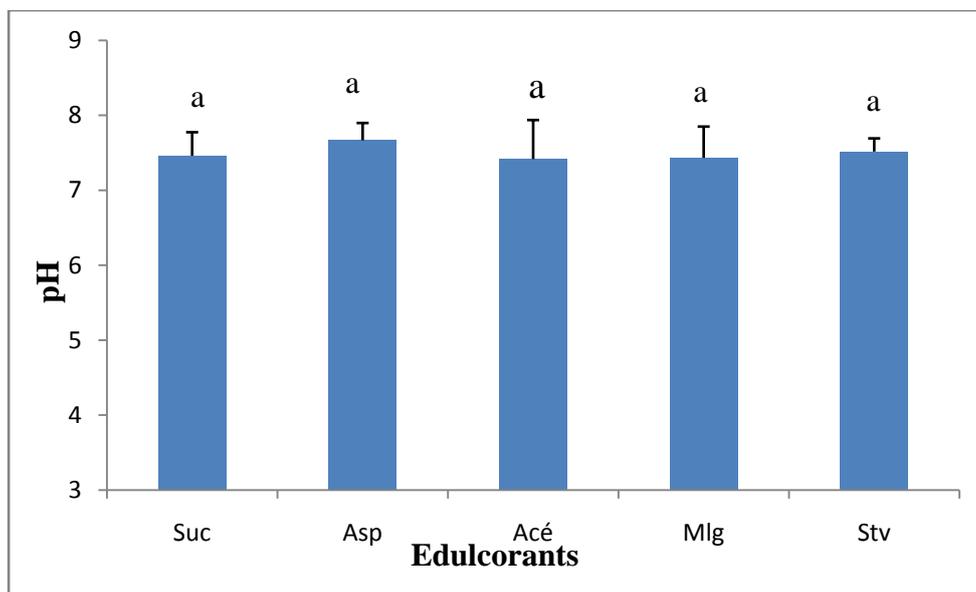


Figure n°5. Variation du pH de l’eau de procès en fonction de différents édulcorants

D’après la figure n°5 (**Tableau IV, Tableau V, Annexe VII**), les valeurs du pH de l’eau de procès sont presque semblables pour le jus sucré et les différents jus lights (Aspartame, Acésulfame K, Mélange et Stévia).

III.1.1.2 Titre hydrométrique (TH) :

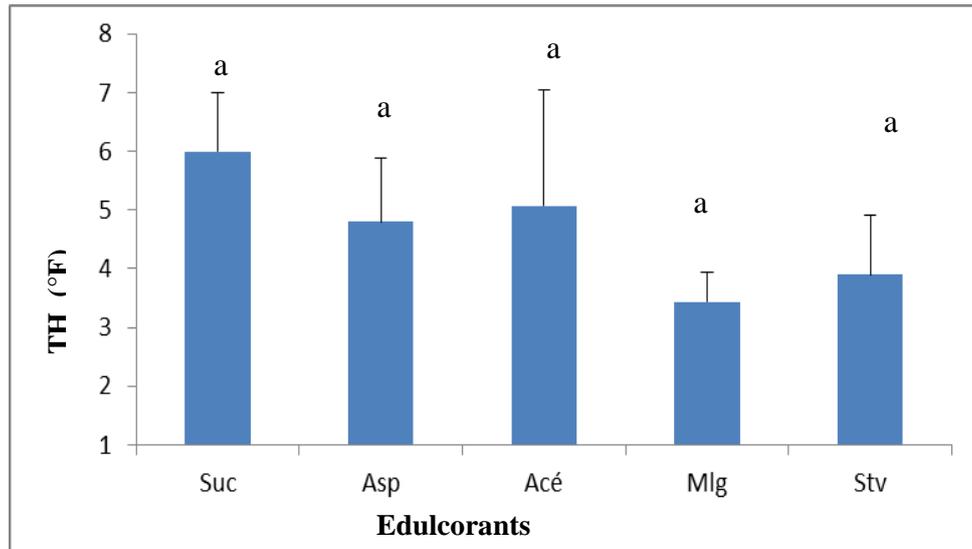


Figure n°6. Variation du TH de l'eau de procès en fonction de différents édulcorants

L'analyse de la figure n°6 (Tableau IV, Tableau V, Annexe VII) montre que le TH de l'eau de procès en cas de jus sucré est plus élevé que le TH de celle utilisé pour les jus lights, mais cette différence n'est pas significative ($p > 0.148$).

De plus, les valeurs du TH des eaux de procès utilisé dans les jus lights (Aspartame, Acésulfame K, Mélange et Stévia) sont presque identiques et ne montrent aucune différence significative.

III.1.1.3 Taux du chlore (Cl_2) :

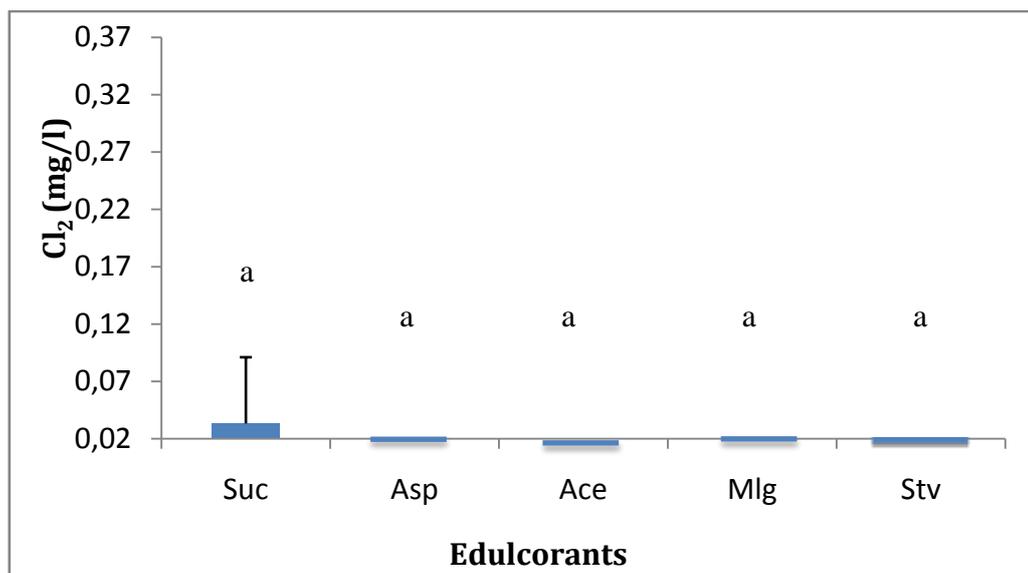


Figure n°7. Variation du Chlore de l'eau de procès en fonction de différents édulcorants

La figure n°7 (**Tableau IV, Tableau V, Annexe VII**) montre de très faible taux du chlore dans les eaux de procès utilisées pour les deux types du jus (sucré et lights). Ainsi la valeur du chlore de l'eau de procès enregistrée en cas du jus sucré est de $0.03 \text{ mg/l} \pm 0.057$, cette valeur s'annule dans le cas des jus lights.

Il est connu que l'agressivité d'eau est déterminée par le taux de Cl_2 , pH et le TH. (**Potellon et Zeysman, 1998**)

Ainsi, **Berné et Cordonnier (1991)**, ont démontré que l'agressivité d'une eau est relative aux taux de calcaire CaCO_3 constituant principale de la couche qui s'étale dans les conduites d'eaux.

D'autre part, **Engalenc 2004**, a confirmé qu'une eau fortement minéralisé ne peut pas être bue sans restriction des minéraux de façon permanente car la consommation d'un jus fabriqué à base de cette eau peut être dangereuse pour la santé (le sodium en excès provoque l'hypertension).

En effet, les résultats d'analyse physico-chimique de l'eau de procès concernant le pH, TH et le taux du chlore sont conformes aux normes internes de l'entreprise COJUNA (**Tableau IV, Tableau V, Annexe VII**)

Les résultats de l'étude de **TRAORE et COULIBALY (2015)** portée sur les jus sucré et réalisée dans les mêmes conditions que cette présente étude sont similaire à nos résultats.

III.1.2 La pulpe d'orange :

Il est bien connu que la composition des matières premières influe significativement sur la qualité du produit fini.

L'analyse de certains paramètres physico-chimiques de la pulpe d'orange (pH, degré Brix et Acidité) sont résumés dans les figures suivantes :

III.1.2.1 Potentiel d'hydrogène (pH) :

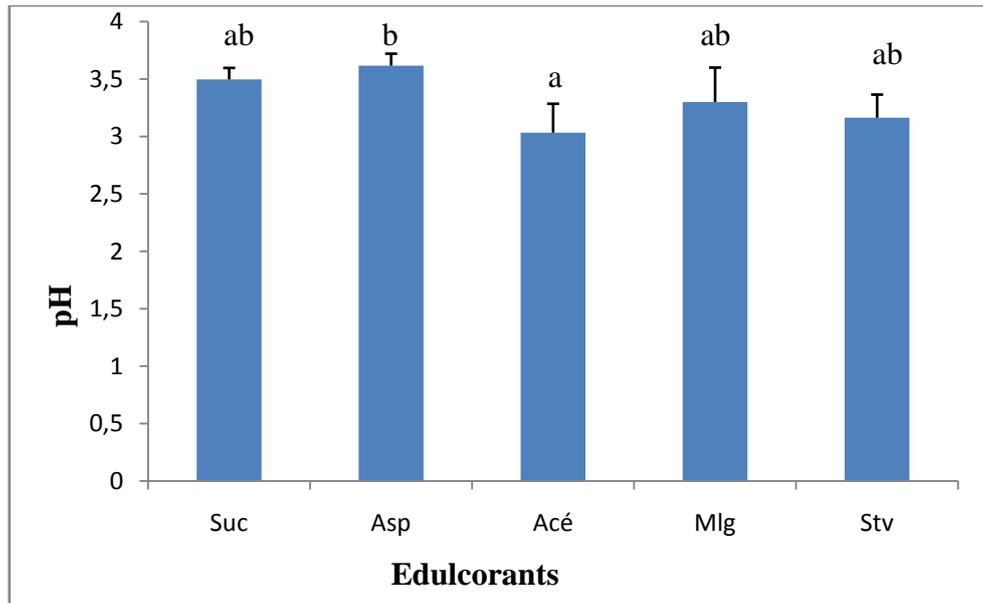


Figure n°8. Variation du pH de la pulpe d'orange en fonction de différents édulcorants

L'analyse des valeurs du pH de la pulpe d'orange mentionné dans la figure n°8. (Tableau VI, Tableau VII, Annexe VII)

Ces résultats sont conformes aux normes internes de l'entreprise COJUNA, et montrent une diminution significative du pH de la pulpe du jus à base d'Acésulfame K par rapport à celle enregistré dans le cas d'un jus à base d'Aspartame. cette différence est vraisemblablement due à l'emploi de deux sources différentes de la pulpe d'orange.

Néanmoins, aucune différence significative dans les valeurs du pH de la pulpe utilisée dans le cas du jus sucré et les jus light n'est constatée, le même résultat est noté entre les jus light.

III.1.2.2. Degré Brix :

Les différentes valeurs du degré Brix sont mentionnées dans la figure n°9 (Tableau VI, Tableau VII, Annexe VII)

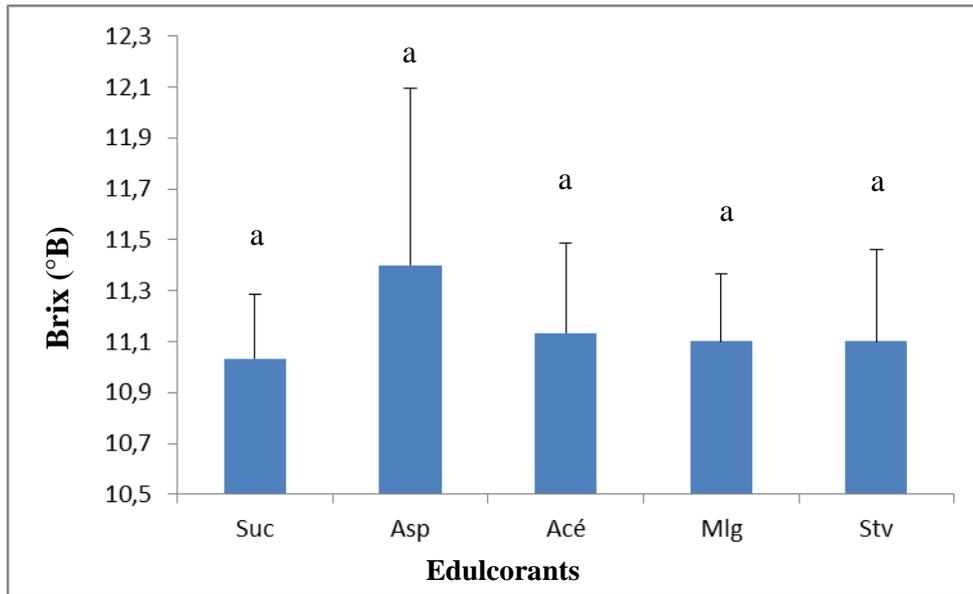


Figure n°9. Variation du degré Brix de la pulpe d'orange en fonction de différents édulcorants.

Le taux de matière sèche exprimé en degrés Brix de la pulpe utilisé dans le cas d'un jus à base d'aspartame est supérieur à celui du jus sucré et light (Acésulfame K, Mélange et Stévia). Cependant cette différence n'est pas significative.

III.1.2.3 Acidité :

L'acidité de la pulpe d'orange pour les différents jus est enregistrée dans la figure n°7 (Tableau VI, Tableau VII, Annexe VII)

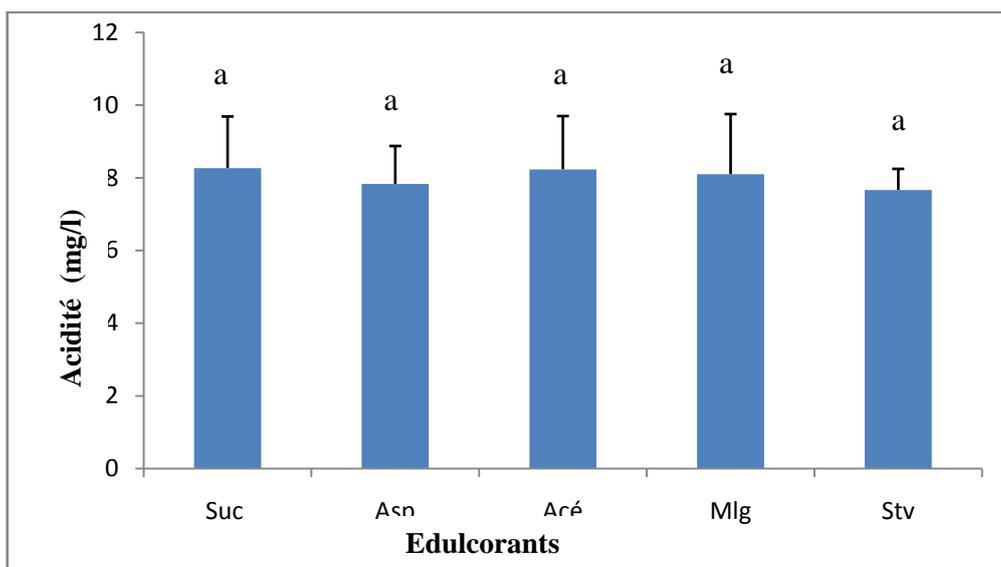


Figure n°10. Variation de l'acidité de la pulpe d'orange en fonction de différents édulcorants

L'acidité de la pulpe du jus sucré est de $8.27 \text{ mg/l} \pm 1.42$ qui est presque identique à celle trouvée dans le cas des jus light (Aspartame, Acésulfame K, Mélange et Stévia) qui sont respectivement ($7.83 \text{ mg/l} \pm 1.04$, $8.23 \text{ mg/l} \pm 1.46$, $8.1 \text{ mg/l} \pm 1.65$ et $7.67 \text{ mg/l} \pm 0.58$).

En effet, les résultats d'analyse physico-chimique de la pulpe d'orange concernant le pH, le degré Brix et l'acidité sont conformes aux normes internes de l'entreprise COJUNA. (Tableau VI, Tableau VII, Annexe VII)

Les résultats de l'étude de ZERBO et ZOUNGRANA (2015) faite sur des jus sucré et effectuée dans les mêmes conditions que cette présente étude sont semblable à nos résultats.

III.1.3 Le produit fini :

Les résultats d'analyse des différents paramètres physico-chimiques effectués sur les produits finis sont illustrés dans les figures suivantes :

III.1.3.1 Potentiel d'hydrogène (pH) :

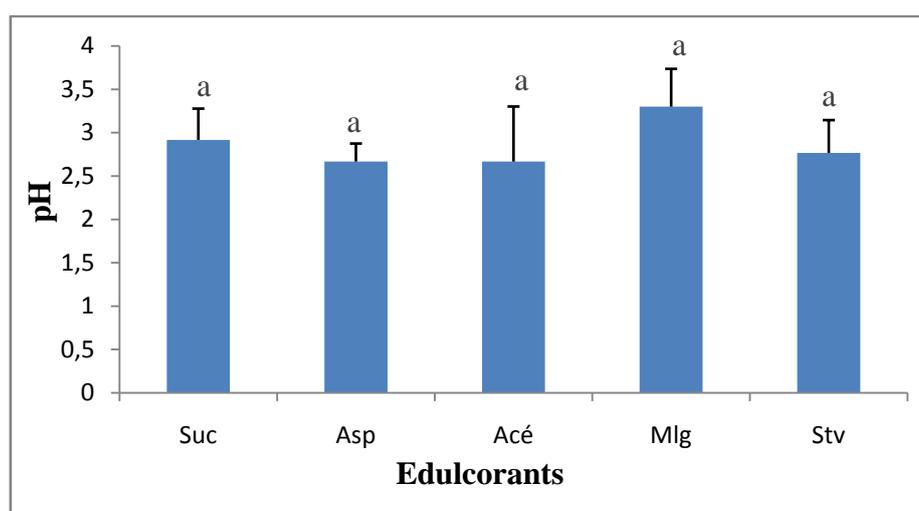


Figure n°11. Variation du pH des produits finis en fonction de différents édulcorants

Les valeurs du taux du pH des produits finis (sucré et light) mentionnées dans la figure n°11 (Tableau VIII, Tableau IX, Annexe VII) montrent que cette valeur est un peu plus élevée dans le jus à base du mélange (Aspartame + Acésulfame K) par rapport à celle du jus sucré et light de (Aspartame, Acésulfame K et Stévia), mais sans différence significative ($p > 0.371$).

Ces résultats sont conformes aux normes internes de l'entreprise COJUNA.

III.1.3.2 Acidité :

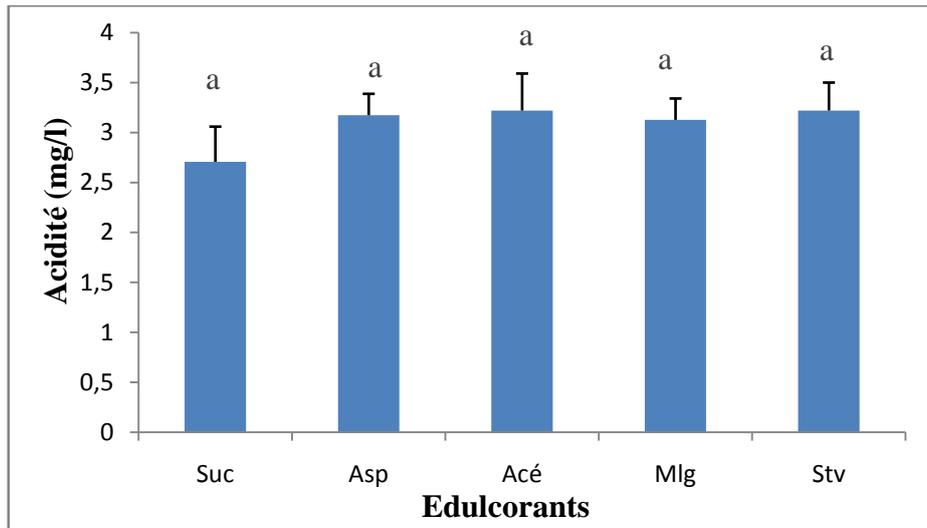


Figure n°12. Variation de l'acidité des produits finis en fonction de différents édulcorants

La figure n°12 représentée par les (Tableau VIII, Tableau IX, Annexe VII) ne montre pas de différence significative dans les valeurs de l'acidité des produits finis pour les différents types du jus. Ces résultats sont conformes aux normes de l'entreprise COJUNA.

III.1.3.3 Température :

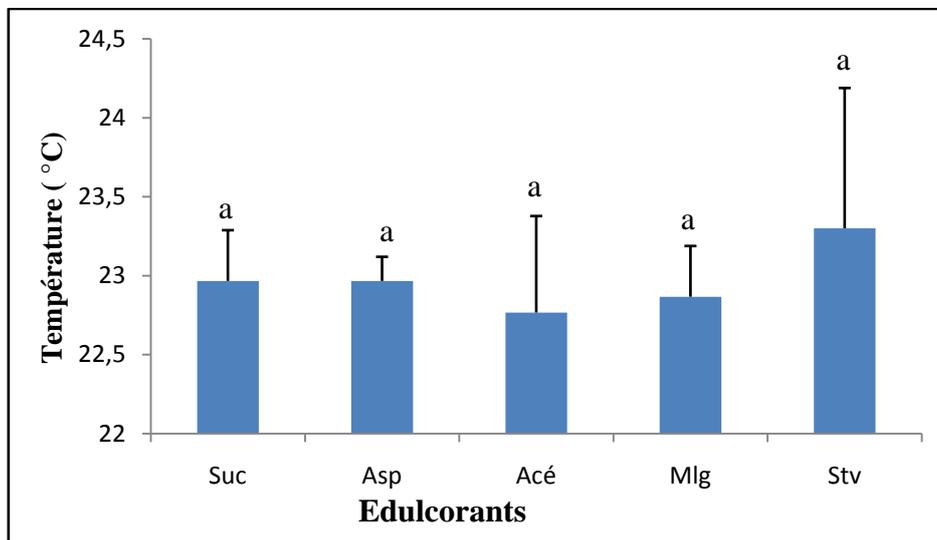


Figure n°13. Variation de la température des produits finis en fonction de différents édulcorants

L'analyse de la figure n°13 représentée par les (Tableau VIII, Tableau IX, Annexe VII) montre que la température du jus à base de Stévia est un peu plus élevée que celle

enregistré dans le jus sucré et light à base (d'Aspartame, Acésulfame K et Mélange), sans que cette différence soit significative.

Ces résultats sont toujours conformes aux normes internes de l'entreprise COJUNA. (Tableau VIII, Tableau IX, Annexe VII)

III.1.3.4 Degré Brix:

Le degré Brix du produit fini pour les différents types de jus est enregistré dans la figure n° 14 (Tableau VIII, Tableau IX, Annexe VII)

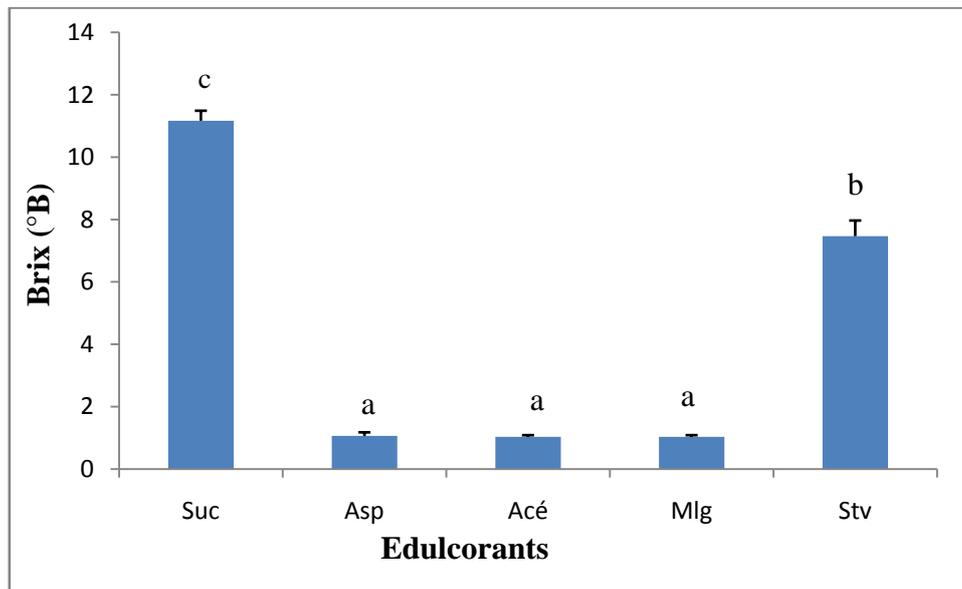


Figure n°14. Variation du degré Brix des produits finis en fonction de différents édulcorants

Les valeurs du degré Brix des jus lights à base (d'Aspartame, Acésulfame K et Mélange) sont respectivement de $1.07^{\circ}\text{B} \pm 0.11$, $1.03^{\circ}\text{B} \pm 0.06$ et $1.03^{\circ}\text{B} \pm 0.06$ et elles sont significativement plus faibles par rapport à celles notées pour le jus sucré qui est de $11.17^{\circ}\text{B} \pm 0.32$ et le jus à base de Stévia avec une valeur de $7.47^{\circ}\text{B} \pm 0.5$.

De même, le jus à base de Stévia montre un degré Brix de $7.47^{\circ}\text{B} \pm 0.5$ qui est une valeur significativement basse par rapport au jus sucré avec une valeur de $11.17^{\circ}\text{B} \pm 0.32$.

Par ailleurs, aucune différence significative dans les valeurs du degré Brix n'est observée entre les trois jus light à base (d'Aspartame, Acésulfame K et le Mélange), elles sont de $1.07^{\circ}\text{B} \pm 0.11$, $1.03^{\circ}\text{B} \pm 0.06$ et $1.03^{\circ}\text{B} \pm 0.06$ respectivement.

Néanmoins, toutes les valeurs du degré Brix pour les deux types de jus (sucré et lights) sont conformes aux normes internes de l'entreprise.

Ces résultats peuvent être expliqués par la concentration de saccharose dans les différentes boissons (sucré et lights). En effet, une composition de 100% du saccharose dans le jus sucré donne un degré Brix le plus élevé ($11.17^{\circ}\text{B} \pm 0.32$), tandis que, la diminution du taux de saccharose à 70% dans le jus de Stévia réduit significativement le degré Brix à ($7.47^{\circ}\text{B} \pm 0.5$). Parallèlement, les autres jus lights (Aspartame, Acésulfame K et le Mélange) donnent des valeurs du degré Brix significativement plus faible par rapport à celles des jus sucré et Stévia, ceci est probablement due à la composition de ces boissons qui ne contiennent pas du saccharose.

III.1.3.5 Vitamine C :

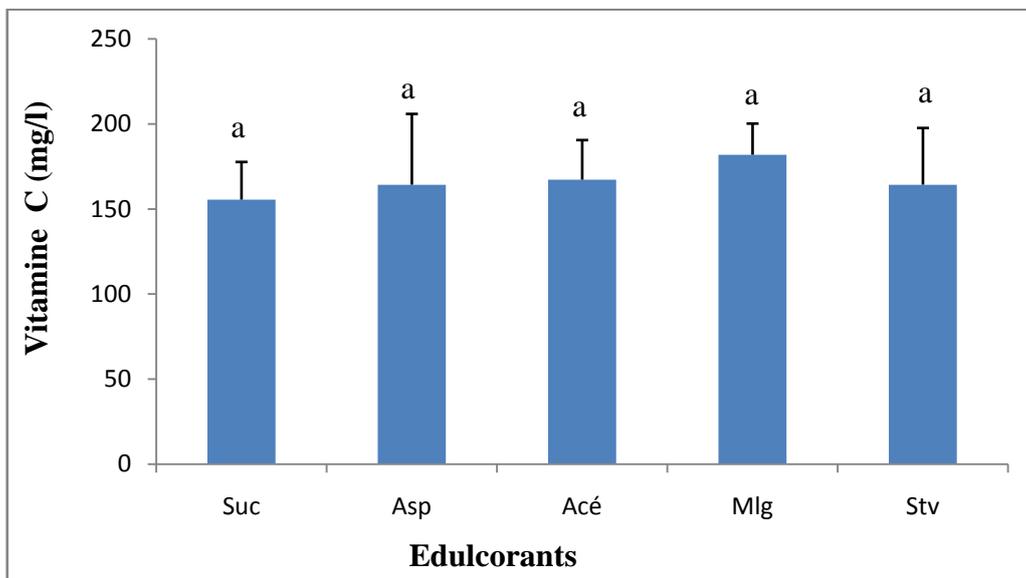


Figure n°15. Variation de la vitamine C des produits finis en fonction de différents édulcorants.

Les valeurs de la vitamine C des produits finis (sucré et lights) présentées dans la figure n°15 et représentées par (Tableau VIII, Tableau IX, Annexe VII) sont pratiquement semblables pour les deux types de jus et ne montrent aucune différence significative.

Ces résultats sont conformes aux normes exigées par l'unité COJUNA.

III.2 Résultats des analyses microbiologiques :

III.2.1 Eau de procès

L'eau est un élément très important dans les industries agro-alimentaire, utilisée comme élément pour le lavage, nettoyage, ainsi que pour la reconstitution. Sa qualité microbiologique peut affecter directement sur la qualité microbiologique du produit fini.

Les résultats de l'analyse microbiologique effectuée sur l'eau de procès sont portés sur le tableau III.

Tableau III. Résultats d'analyses microbiologiques de l'eau de procédé

	Germes Echantillons	GAMT (22°C)	GAMT (37°C)	Coliformes totaux (37°C)	Coliformes fécaux (44°C)	CSR	Streptocoques fécaux
Produits sucrés	01	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	02						
	03						
	04						
Produits lights	01	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	02						
	03						
	04						
	Normes JORA 1998	<10 ² /ml	20/ml	<10/100ml	Abs/100ml	<5 UFC	Abs/50 ml

Ces résultats révèlent que les analyses microbiologiques d'eau inclus dans la reconstitution à la fabrication du jus d'orange montrent une absence totale des germes aérobies, coliformes totaux et fécaux, clostridium Sulfito-Réducteurs et streptocoques fécaux. Ces résultats sont conformes aux normes. **(JORA 1998)**

Ces résultats procurent une bonne qualité microbiologique de l'eau de reconstitution et une bonne qualité hygiénique confirmant ainsi :

- 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 procès.

L'eau destinée à l'alimentation humaine peut contenir des micro-organismes pathogènes agent d'infections humaines redoutables, ce sont des bactéries, des virus, voire des champignons, des protozoaires, des algues. Cette eau doit être potable c'est-à-dire incapable de nuire à la santé du consommateur, donc exempte de ces agents pathogènes. (Haslay et Leclerc, 1993)

En effet, Bonnefoy et al., 2002 ont montré que l'absence de la flore totale aérobie mésophile dans les eaux de consommation traitées confirme l'efficacité du traitement.

Selon Dellaras (2007), les coliformes sont des espèces fécales qui constituent des germes indicateurs de contamination fécale en bactériologie alimentaire et des eaux.

III.2.2 Pulpe

La préparation de la pulpe ne se fait pas à l'unité SARL COJUNA, elle provient prêt à l'emploi dans des futs.

Les résultats d'analyse microbiologique effectués sur la pulpe sont illustrés dans le tableau IV.

Tableau IV. Résultats d'analyse microbiologique de la pulpe

	Germes Echantillons	GAM T	Coliforme totaux (37°C)	Coliformes fécaux (44°C)	CSR	<i>Staphylococcus aureus</i>	Salmonelles
Pulpe	01	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	02						
	03						
	04						
	Normes JORA 1998	10 ⁵ UFC	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Les résultats des analyses microbiologiques de la pulpe montrent qu'elles sont conformes aux normes ce qui explique le respect des bonnes pratique de fabrication lors de la préparation aussi par l'acidité du milieu qui constitue un paramètre limitant pour le développement des bactéries. Ils sont conservés dès leur arrivage à l'unité dans des chambres froides à + 4°C.

III.2.3 Sucre

Les résultats d'analyse microbiologique effectuée sur le sucre sont illustrés dans le tableau V.

Tableau V. Résultats d'analyse microbiologique du sucre.

	Germes	GAMT	CSR	Levures	Moisissures
	Echantillons				
Sucre	01	Abs	Abs	Abs	Abs
	02				
	03				
	04				
	Normes JORA 1998	20UFC	01 UFC	01 UFC	01UFC

L'analyse microbiologique du sucre indique l'absence totale des germes recherchés, ce qui confirme la salubrité du sucre utilisé, ainsi que les bonnes conditions de fabrication et du stockage de ce produit.

III.2.4 Produit fini

Les résultats d'analyse microbiologique réalisés sur le produit fini le jour de la production sont portés dans le tableau VI.

Tableau VI. Résultats d'analyse microbiologique du produit fini

Germes Echantillons		GAMT	Coliformes totaux (37°C)	Coliformes fécaux (44°C)	CSR	Levures	Moisissures
Produits finis sucrés	01	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	02						
	03						
	04						
Produits finis lights	Asp+Acé	01	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
		02					
	Asp	01					
		02					
	Acé	01					
		02					
	Stv	01					
		02					
Normes JORA 1998		Abs	Abs	Abs	Abs	<20 UFC	10UFC

L'analyse des résultats microbiologiques des produits fini (sucré et light) dans le tableau VI indique une absence totale des germes.

Selon **Bonnefoy et al. (2002)**, le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de qualité des aliments dans le contrôle industriel. Un aliment dont la flore totale est trop élevée montrera de mauvaises conditions de conservation et sera considéré comme impropre à la consommation.

Selon **Dellaras (2014)**, la présence des levures et des moisissures dans les aliments peut entraîner des changements d'aspects, en changeant les qualités organoleptiques (odeur, saveur) ou en modifiant des substances chimiques.

III.3 Etude expérimentale :

III.3.1 Effets de certains édulcorants sur le poids corporel :

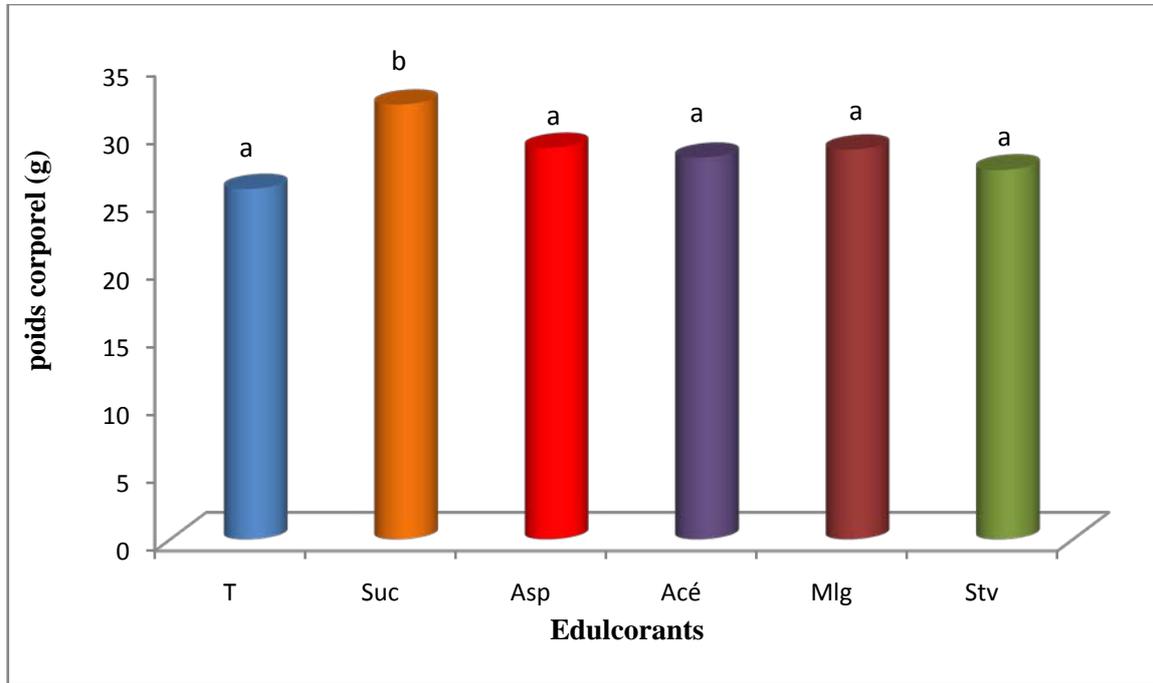


Figure n°16. Variation du poids corporel en fonction de certains édulcorants

La figure n°16 (Tableau XXII, Annexe VIII) montre la variation du poids corporel chez les souris *Albinos* en fonction des différents édulcorants (Aspartame, Acésulfame K, Mélange et Stévia).

Nos résultats montrent qu’il n’existe pas une différence significative dans les poids corporel des lots light (Aspartame, Acésulfame K, Mélange et Stévia) par rapport au Témoin.

De même, les souris qui sont soumis aux jus light ont acquis des poids corporel de $28.13 \text{ g} \pm 3.78$, $28.73 \text{ g} \pm 1.94$, $28.13 \text{ g} \pm 3.78$ et $27.27 \text{ g} \pm 1.49$ pour l’Aspartame, Acésulfame K, le Mélange et Stévia respectivement et qui sont plus élevées par rapport au témoin ($25.87 \text{ g} \pm 2.10$), mais cette différence n’est pas significative.

Cependant, les souris soumis aux jus sucrés présentent un poids corporel significativement plus élevé avec une valeur de $(32.07 \text{ g} \pm 4.30)$ par rapport au Témoin et jus light.

Ces résultats suggèrent que l’ingestion des édulcorants (Aspartame, Acésulfame K, Mélange et Stévia) n’a aucun effet significatif sur le poids corporel des souris.

Plusieurs études ont mis en évidence l'effet des édulcorants sur le poids corporel.

En effet, **Dyrskog et al., (2005)** révèlent qu'il n'y a aucun effet du Rebaudioside A sur le poids corporel chez les rats *Wistar*.

De même les résultats de **Reid et al., (2010)**, n'ont trouvé aucun effet significatif sur le poids et la faim chez des femmes en surpoids et qui prennent du jus à base d'aspartame pendant 4 semaines.

Dans le même sens, les travaux de **Saravanan et al., (2012)** menés sur des rats *Wistar* recevant des solutions à base de Rebaudioside A à une concentration de 200 mg/kg pendant 45 jours, n'ont révélé aucun effet significatif sur le poids corporel.

Néanmoins, l'étude de **Magda (2016)**, portée sur l'évaluation de l'effet des différentes doses d'aspartame (6mg/kg, 11mg/kg et 18mg/kg) sur le poids corporel des hamsters pendant 42 jours, a révélé des changements d'appétit avec un gain de poids corporel des hamsters.

La plus récente celle de **Subali et al., (2017)** menée sur des rats *Wistar* soumis à des boissons à base de sucrose et d'aspartame à (0.15%) pendant 40 jours.

Leurs résultats ont montré que le poids des rats est significativement plus élevé chez les rats recevant la boisson à base de sucrose par rapport à ceux enregistré avec l'aspartame et le témoin à base d'eau.

III.3.2 Effets de certains édulcorants sur la glycémie :

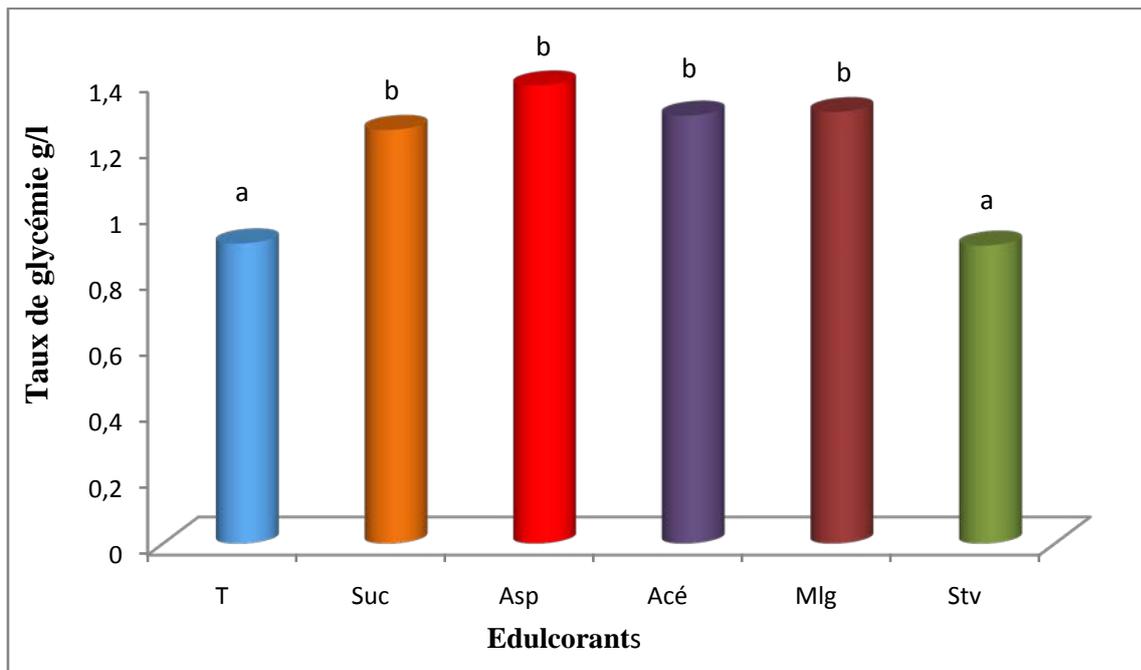


Figure n°17. Variation du taux glycémie en fonction de certains édulcorants

La figure n°17 (**Tableau XXI, Annexe VIII**) la indique une variation de la glycémie chez les souris *Albinos* en fonction de différents édulcorants (Aspartame, Acésulfame K, Mélange et Stévia).

L'analyse des résultats révèle une augmentation significative de la glycémie des lots sucré et lights (Aspartame, Acésulfame K et Mélange) par rapport au témoin ($p > 0.0001$), avec une valeur maximale de $(1.39 \text{ g/l} \pm 0.18)$ enregistré chez les souris soumis au jus à base d'aspartame.

Contrairement, les souris soumis au jus à base de Stévia montrent une glycémie significativement basse et presque identique à celle observé chez le lot Témoin.

Par ailleurs, aucune différence significative n'est constaté dans les valeurs de la glycémie entre les lots Stévia et le Témoin.

De plus, les valeurs de la glycémie sont presque identique entre les lots light (Aspartame, Acésulfame K et le Mélange) et sucré avec des valeurs de $(1.39 \pm 0.18 \text{ g/l}$, $1.30 \pm 0.10 \text{ g/l}$, $1.31 \text{ g/l} \pm 0.09$ et $1.25 \text{ g/l} \pm 0.13$) respectivement.

Ces résultats établissent que l'ingestion des édulcorants (Aspartame, Acésulfame K et Mélange) peut perturber la stabilité de la glycémie, alors que l'édulcorant naturel « Stévia » n'a pas d'effet sur le taux de glycémie.

L'effet des édulcorants sur la glycémie a été traité par plusieurs auteurs, ainsi, l'étude d'**Abudula et al., (2004)**, portée sur des isolats des cellules de Langerhans de souris *NMRI*, a confirmé que le Rebaudioside A possède une capacité de stimuler la sécrétion d'insuline et aussi servir comme un traitement du diabète du type 2.

Parallèlement, **Dyrskog et al., (2005)** ont soumis des rats diabétiques à deux régimes différents, le premier reçoit un régime standard de laboratoire et le second à un régime standard plus 0.025 g/kg/jour de Rebaudioside A pendant huit (8) semaines. Ils n'ont constaté aucune différence significative dans le taux de la glycémie pour les deux groupes tout au long de la période d'étude.

Toutefois, **Collison et al., (2012)** ont traité deux groupes de souris, l'un par l'eau et l'autre eau + 0.25 g d'Aspartame/l. Après 3 semaines du traitement les résultats ont montré que lot recevant de l'aspartame entraine une augmentation significative de la glycémie.

En outre, **Saravanan et al., (2012)** ont rapporté l'effet hypoglycémiant du Rebaudioside A chez des rats diabétiques, après 45 jours d'étude.

D'autre part, l'étude de **Baghdadi et Djemai (2016)** ont trouvé que la combinaison de l'Aspartame avec l'Acésulfame K et la Saccharine développe une intolérance au glucose.

Conclusion

Les études effectuées par l'Association des Producteurs Algériens de Boissons (APAB) en 2011, ont montré que la consommation des boissons est intégrée depuis longtemps dans les habitudes alimentaires des Algériens. C'est un domaine qui a un bon nombre de règles d'hygiène et de fabrication à suivre et à respecter par les organismes producteurs, afin de maximiser la qualité des boissons fabriquées, qui ne doivent en aucun cas constituer un danger pour les consommateurs.

Après l'étude physicochimique, microbiologique et expérimentale de deux types de jus (sucré et lights), l'ensemble des résultats des analyses ont montrés que :

- L'analyse de certains paramètres physico-chimiques tels que ; le pH, le Cl_2 et le TH pour l'eau de procès a révélé des valeurs conformes aux normes internes de l'entreprise COJUNA, ce qui confirme la bonne qualité physico-chimique de l'eau.
- Pour la pulpe d'orange, l'analyse des paramètres physico-chimiques (pH, degré Brix et l'acidité) sont conformes aux normes internes de l'entreprise COJUNA. Ces résultats témoignent que la pulpe d'orange est de qualité physico-chimique satisfaisante.
- Pour le produit fini les valeurs du (pH, température, l'acidité, le taux de vitamine C et le degré Brix) sont dans les normes internes de l'entreprise COJUNA. Cela pourrait être expliquer par le respect stricte des bonnes pratiques de laboratoire (BPL) et des bonnes pratiques de fabrication (BPF) toute au long de la chaine de production. Ces résultats confirment la bonne qualité physico-chimique du produit fini.
- Les analyses microbiologiques de l'eau, du sucre et de la pulpe d'orange ont révélé une absence totale des germes recherchés, ce qui démontre l'efficacité des traitements de chloration et de filtration.
- Quant au produit fini, malgré la présence de quelques levures et moisissures, une absence totale des germes recherchés. Ce résultat confirme l'efficacité du traitement appliqué (la pasteurisation).
- Par ailleurs, l'étude expérimentale n'a montré aucun effet significatif des édulcorants [Aspartame, Acésulfame K, Mélange (Aspartame + Acésulfame K) et Stévia] sur le poids corporel des souris *Albinos* en croissance, par contre des résultats inverses sont constatés avec le lot sucré, par rapport au Témoin.

- En outre, les édulcorants [Aspartame, Acésulfame K et le Mélange (Aspartame + Acésulfame K)] augmentent significativement la glycémie chez les souris *Albinos* par rapport au Témoin et au jus à base d'édulcorant naturel « Stévia ». Toutefois, aucune différence significative n'est enregistrée dans les valeurs de la glycémie dans le lot Stévia et le lot Témoin.

D'après ces résultats on déduit que les édulcorants artificiels tels que (l'Aspartame et l'Acésulfame K et leur Mélange) ne constituent pas une solution pour remplacer la consommation de sucre, car ils induisent une hyperglycémie et sont à l'origine de nombreuses maladies telles que le diabète, l'obésité et l'hypertension artérielle.

En effet, ces édulcorants dangereux devront être remplacés par un édulcorant naturel, non calorique comme la Stévia, qui est utilisée contre l'obésité et comme régulateur de la glycémie chez les diabétiques.

En perspective, il est souhaitable :

- D'étudier l'effet de ces édulcorants à long terme sur le poids corporel, l'hémoglobine glyquée et le bilan lipidique (TG, C-HDL, C-LDL, C-VLDL, Apo AI et Apo B).
- De provoquer une hyperglycémie chez des rats *Wistar* et de suivre l'effet d'un édulcorant naturel comme « Stévia » sur le poids corporel, le bilan glycémique, lipidique et le taux d'insuline.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abudula, R., Jeppesen, P.B et Rolfsen, S. E. (2004): Rebaudioside A potently stimulates insulin secretion from isolated mouse islets: Studies on the dose-, glucose-, and calcium-dependency. *Metabolism: Clinical and Experimental*. p 1378-1381.

Afnor. (1986) : Association Française de Normalisation, Physique et ingénierie des surfaces EPD. 2^{ème} édition science. p 373.

Afssa. (2002) : Rapport de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur la question d'un éventuel lien entre exposition à l'aspartame et tumeurs du cerveau. – Saisine n° 2000-SA-0249.

American Dietetic Association. (1998): Position of the American Dietetic Association use of nutritive and non nutritive sweeteners. *J. Am .Diet. Assoc.*; 98: p558-586.

Amouyal, C et Andrelli, F. (2014) : Effet métabolique périphérique et culturels des édulcorants, médecine des maladies métaboliques. Edition Masson. Paris. Février. Vol 8-N°1. p 29-34.

Anses. (2015) : Évaluation des bénéfices et des risques nutritionnels des édulcorants intenses. Rapport d'expertise collective. Édition scientifique. Saisine n°2011-SA-0161.

Autorité européenne de sécurité des aliments. (2012) : La réévaluation des additifs alimentaires en Europe – 30 janvier <http://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/120130b.htm>

B

Baghdadi, Y et Djemai, F. (2016) : Etude physico-chimique et microbiologique des deux jus light et sucré : effets de certains édulcorants sur le poids et la glycémie chez les souris albinos en croissance. Mémoire du diplôme en master universitaire en microbiologie et toxicologie alimentaire. Faculté de science de la nature et de la vie Blida Algérie. p 52.

Benayad, B., Azzouz, F., Mebarki Sennour, K., Benmohamed Bouazza, K et Bennouna, F. (2010): Contrôle de la qualité et analyse. Office des publications universitaires, p 118.

Bhupathiraju, S. N., Pan, A., Malik, V. S., Manson, J. E., Willett, W. C., Vandam, R. M et Hu, F. B. 2013: Caffeinated and caffeine-free beverages and risk of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*, 97, 155-66.

Bloino, L. (2009) : Les édulcorants de synthèse intérêt de sucralose par rapport aux autres édulcorants existants. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Université de NANTES –France-, p 99.

Boidron, G. L. (1992) : Faut il avoir peur des édulcorants de synthèse. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. France. p122.

Bourgeois, C.M et Leveau. J. Y. (1991) : Technologie d'analyse et de contrôle dans l'industrie agroalimentaire. Volume III : Le contrôle microbiologique. 2^{ème} édition. TEC & DOC. Lavoisier-France. p 206-333.

Brat, P et Cuq, B. (2007) : Transformation et conservation des fruits – perte de la structure initiale. Technique de l'ingénieur F6273. p 27.

C

Cardot, C. (2002) : les traitements de l'eau, procédé physico-chimique et biologique. Edition Marketing-SA-Codex 15. France. p 247.

Cheftel, J. (1976) : Introduction à la biochimie alimentaire et technologie des aliments TOME 1. TEC et DOC Lavoisier-Paris-France. p 381.

Cheftel, J. C et Cheftel, H. (1977) : Introduction à la biochimie alimentaire et technologie des aliments TOME 2: TEC &DOC. Edition Lavoisier-Paris- France . p 420.

Collison, K, S., Makhoul, N, J., Zaidi, M, Z., Saleh, S, M., Andres, B., Inglis, A., Al-Rabiah, R et Al-Mohanna, F, A. (2012): Gender dimorphism in aspartame-induced impairment of spatial cognition and insulin sensitivity. PLoS One. Vol 7. p 13.

Curi, R., Alvarez, M., Bazotte, R.B., Botion, L. M., Godoy, J. L et Bracht, A (1986): Effect of *Stévia rebaudiana* on glucose tolerance in normal adult humans. Braz J Med Biol Res. 19 (6). p 771

D

Dejong, N. (2014): Edulcorants, Faux sucres, vrais problèmes?. Centre permanent pour la citoyenneté et la participation. Collection Au Quotidien. p 19.

Dellaras, C. (2007) : Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire : Aliments - Produits cosmétiques – Eaux – Produits pharmaceutiques. TEC & DOC–1^{ère} édition- Lavoisier-Paris-France. p 476.

Dellaras, C. (2014) : pratique en microbiologie de laboratoire : Recherche de bactéries et de levures – moisissures. TEC & DOC-Edition -Lavoisier-Paris-France. p 772.

De Reynal, B et Multon, J. L. (2009) : Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires, à l'exclusion des produits utilisés au niveau de l'agriculture et de l'élevage : pesticides, hormones, etc. 4^{ème} TEC &DOC-Edition- Lavoisier-Paris-France. p 698.

Desjardins, R. (2007): Le traitement des eaux. 2^{ème}édition, presses inter Polytechnique, 1997. p 304.

Devallez, B et Ouahes, R. (1986) : Chimie générale. 3^{ème} édition OPU & ENAL -Alger-Algérie, p 413.

Dromigny, E. (2011) : Les critères microbiologiques des denrées alimentaires, réglementation – agents microbiens –autocontrôle.TEC & DOC, Edition - Lavoisier-Paris-France. p 510.

Dyrskog, S, E, U., Jeppesen, P, B., Chen, G., Chritensen, L, P et Hermansen, K. (2005): The diterpene glycoside, Rebaudioside A, does not improve glycemic control or affect blood pressure after eight weeks treatment in the Goto-Kakizaki rat. Diabetic Studies. Vol 2.p 84-91.

F

Fagherazzi, G, E. A. (2012) : Consumption of artificially and sugar-sweetendbeverages and incident type 2 diabtes in the Etude Epidemilogique auprès des femmes de lamutuelle générale de l'Education Nationale-European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. . Am J Clin Nutr, DOI:10.3945/ ajcn.112.050997.

Fredot, E. (2006) : Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Tec et Doc, 2^{ème} édition Lavoisier-Paris-France. p 397.

Fredot, E. (2012) : Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Tec et Doc. 3^{ème} édition Lavoisier-Paris-France. p 614.

G

Gaulier, C. (2011) : Lutte contre la carence en vitamine C : Les moyens d'action du médecin coordonnateur. Université René Descartes – Paris 5, p22.

Germain, L., Colas, L et Rouquet, J. (1976) : le traitement des eaux destinées à l'alimentation des chaudières à vapeur, aux circuits de réfrigération et aux réseaux de distribution d'eaux industrielles et potables. Cinquième édition, Dunod, BORDAS-France. p 140.

Goudable, J. (2011) : Les édulcorants intenses : utiles pour lutter contre l'obésité. Obésité Springer-Verlag. France vol 6:212-217. p 6.

H

HANNA. (2005): HI3812 HARDNESS TEST KIT, 4^{ème} édition total hardness, p 5.

Haslay, C et Leclerc, H. (1993) : Microbiologie des eaux d'alimentation, technique et documentation. Edition Lavoisier-Paris- France. p 908.

Horio, Y., Sun, Y., Liu, C., Saito, T., Kurasaki, M. (2014): Aspartame-induced apoptosis in PC12 cells. Environ Toxicol Pharmacol. p 158.

I

ISO 4832 (2006) : Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux, Technique du nombre le plus probable. 3^{ème} édition Monolingue. p 6.

J

Jeppesen, P. B., Gregersen, S., Poulsen, C. R et Hermansen, K (2000): Stevioside acts directly on pancreatic beta cells to secrete insulin: action independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate sensitive K⁺ channel activity. Metabolism Feb: 49 (2) : 2008-14.

Joffin, C et Joffin, J. N. (1999) : microbiologie alimentaire. 5^{ème} édition. Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine. p212.

JORA. (1998) : Le journal officiel de la république algérienne N°35, Mai, p 17-22.

JORA (1998) : journal officiel de la république algérienne. Norme Algérienne 1207, Recherche et Dénombrement des Germes Aérobie Mésophile Totaux à 30°C.

JORA (1998) : journal officiel de la république algérienne. Norme Algérienne 2696. Recherche et Dénombrement de Staphylococcus aureus à coagulase positive.

JORA (1998) : journal officiel de la république algérienne. Norme Algérienne 1203. Recherche et Dénombrement de Salmonelle.

JORA (1998) : journal officiel de la république algérienne. Norme Algérienne 15176. Recherche et Dénombrement de Clostridium Sulfite-Réducteurs à 46°C.

JORA (1998) : journal officiel de la république algérienne. Norme Algérienne 765. Recherche et Dénombrement de Streptocoques Fécaux.

JORA (1998) : journal officiel de la république algérienne. Norme Algérienne 1210. Recherche et Dénombrement de Levures et des Moisissures.

JORA. (1999) : portant sur les conditions d'utilisation des édulcorants dans les denrées alimentaires. N° 940. p 20.

JORA. (2009) : « Loi n°09-03 du 29 Safar 1430 correspondant au 25 Février 2009 relative à la protection du consommateur et à la répression des fraudes ». JORA n°15 du 08 Mars. p 20.

K

Koning, L., Malik, V. S., Rimm, E. B., Willett, W. C. & Hu, F. B. (2011): Sugar sweetened and artificially sweetened beverage consumption and risk of type 2 diabetes in men. American Journal of Clinical Nutrition, 93, 1321-7.

L

Larpent, J. P. (1997) : Microbiologie alimentaire, technique de laboratoire, TEC &DOC –Edition-Lavoisier- Paris- France. p 1073.

Lehrner, J., Eckersberger, C., Walla, P., Potsch, G et Deecke, L. (2000): Ambient odor of orange in dental office reduces anxiety and Improves mood in female patients. Physiology & Behavior 71. Edition Elsevier- Paris- France. Vol 83 – 86.

M

Magda, I. H. (2016): Low Intake of Aspartame Induced Weight Gain and Damage of Brain & Liver Cells in Weanling Syrian Hamsters. Food and Nutrition Research. Vol 4.p 152-156.

Mameche, A. (2009): Notion de toxicologie, Agroscope, Volume 3. INRA. Algérie. p 168.

Moffa, M. A et Morez, J. B. (2007) : L'aspartame en nutrition humaine. Mémoire pour le diplôme inter-universitaire d'alimentation santé et micro nutrition (D. I. U). Faculté de médecine et de pharmacie de Dijon France. p 110.

Monnier, Let Collette, C. (2010) : les édulcorants : effets métaboliques et sur la santé. Institut universitaire de recherche clinique. Médecine des maladies métaboliques. Edition Elsevier-Paris-France. Octobre –Vol.4- N°5.

Multon, J. L. (1992) : Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agro-alimentaire. Techniques et documentation. Deuxième édition, Paris-France. p 37.

N

Ndeukou, M. L. (2014) : L'aspartame, un édulcorant sans danger ? Revue de la littérature sur les risques liés à son utilisation. Thèse de doctorat d'état en Médecine France. p 38.

Nettleton, J. L. P., Wang, Y., Lima, J., Michos, E., Jacobs, D, J. (2009): Diet soda intake and risk of incident metabolic syndrome and type 2 diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA).Diabetes Care 32, 688-94.

P

Popelier, M. (2006) : Le diabète. Editions Le Cavalier Bleu. p 93.

Potelon, J et Zeysman, I. (1998) : Le guide des analyses de l'eau potable. Edition la lettre du cadre territorial. p 253, 260, 310.

Potter, N. N et Hotchkiss, J. H. (1998): Food science. 5^{ème} édition. Springer science and Business Medi, New York. p 608.

R

Rodier, J. (1984) : L'analyse de l'eau. 7^{ème} édition. DUNOD. Paris-France. p 177.

Rodier, J. (2005) : L'analyse de l'eau. 8^{ème} édition. DUNOD. Paris-France-p 1383.

Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., Brunet, R., Mialocq, J.C., Leroy, P., Houssin, M., Lavison, G., Bechemin, C., Vincent, M., Rebouillon, P., Moulin, L., Chomodé, P., Dujardin, P., Gosselin, S., Seux, R et Al Mardini, F (2009) : L'analyse de l'eau. 9^{ème} édition. DUNOD. Paris-France. p 1579.

Rondant, H et Lefransq, E. (2005) : Alimentation théorique. Edition Doin CRPD d'aquitaine-France. p 303.

S

Sakurai, M., Nakamura, K., Miura, K., Takamura, T., Yoshita, K., Nagasawa, S. Y., Morikawa, Y., Ishizaki, M., Kido, T., Naruse, Y., Suwazono, Y., Sasaki, S. & Nakagawa, H. (2014) : Sugar-sweetened beverage and diet soda consumption and the 7-year risk for type 2 diabetes mellitus in middle-aged Japanese men. *Eur J Nutr*, 53, 251-8.

Saravanan, R., Vengatash babu, K et Ramachandran, V. (2012): Effect of Rebaudioside A, a diterpenoid on glucose homeostasis in STZ-induced diabetic rats. *Physiol Biochem*. Vol 6. p 421 – 431.

Sério, L. (2010) : La Stévia rebaudiana, une alternative au sucre. *Phytothérapie* N°8. France. p 26-32.

Shaywitz, B., Anderson, G., Novotny, E., Ebersole, J., Sullivan, C et Gillepsie, S. (1994):

Aspartame has no effect on seizures or epileptiform discharges in epileptic children. *Annals of Neurology*, p 35-98-103.

T

Tranc, C et Jornayvaz, F. R. (2015) : Edulcorants artificiels et diabète : faux amis ? *Revue médicale Suisse*, N°144. p 1246-1249.

Traore, J et Coulibaly, M, B. (2015) : Suivi de la qualité microbiologique et physico-chimique du cocktail mangue-orange au cours de sa production. Mémoire du diplôme de technicien supérieur en

contrôle de qualité dans les industries agro-alimentaires. Institut National Spécialisé dans la formation professionnelle en industrie Agro-alimentaire. Sidi Abdelkader-BLIDA.

V

Vaysse, P., Hilaire, C., Trillot, M., Scandella, D et Bergougnoux, F. (2000) : L'indice qualité: Un référentiel au service de la filière. Infos-Ctifl, p 165.

Vierling, E. (2008) : Aliments et boissons. 3 ème édition Doin, Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine-France. p 277.

Z

Zerbo, A, K et Zoungrana, M, N. (2015): Suivi de la qualité microbiologique et physico-chimique du cocktail Orange-Ananas au cours de sa production. Mémoire du diplôme de technicien supérieur en contrôle de qualité dans les industries agro-alimentaires. Institut National Spécialisé dans la formation professionnelle en industrie Agro-alimentaire. Sidi Abdelkader-BLIDA.

Schulze, M. B., Manson, J. E., Ludwig, D. S., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., Willett, W. C. & Hu, F. B. (2004): Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. JAMA, 292, 927-34.

Zheng, J., Greenway, F. L., Heymsfield, S. B., Johnson, W.D., King, J. F., King, M.J., Gao, C., Chu, Y. F et Finley, J.W. (2014): Effects of three intense sweeteners on fat storage in the *C. elegans* model. Chem. Biol. Interact Vol 25: 215. p 1-6.

PRESENTATION DE L'ENTREPRISE COJUNA :

SARL COJUNA est une unité de production de jus et de boissons gazeuses. Elle a démarré son activité en 2005 avec une capacité de production journalière de 70000 litres.

Elle est située à 2 km de l'est de la route d'Oued el Alleug-Blida, distant le chef-lieu de la commune d'environ 7km, et de chef-lieu de la wilaya de 7km.

Implantée dans la commune de Béni Tamou, commune à vocation agricole grâce au climat méditerranéen sa situation dans la plaine sud de la Mitidja. L'unité COJUNA s'étend sur une superficie de 8 hectares et 68 ares répartie sur plusieurs compartiments de superficies différentes.

Suivant le **décret exécutif n°07-144 du 19 mai 2007 fixant la nomenclature des installations classées pour la protection de l'environnement** et sur la base de la nature de l'activité de l'unité, que les installations dont la capacité de production est supérieure à 20000 litres par jour, sont soumises à une autorisation du wali avec un rayon d'affichage de 1 km.

Par ailleurs, il est notifié sous la désignation 2217, **Boissons** (préparation conditionnement de jus de fruits et boissons gazeuses).

Tableau I. Gamme des produits de SARL COJUNA :

Les jus	Les boissons aromatisées	Les boissons gazeuses (Soda)
<ul style="list-style-type: none"> • Jus « YES » Orange Metidja • Jus « YES » cocktail Orange-Ananas • Jus « YES » cocktail Mangue-Orange • Jus « YES » cocktail des fruits • Jus « YES » Abricot • Jus « YES » Orange Californie • Jus « YES » Mandarine • Jus esprit Citron • Jus esprit Orange • Jus esprit Cocktail 	<ul style="list-style-type: none"> • Saga Orange • Saga Ananas • Saga Pêche • Saga cocktail des fruits • Saga Abricot 	<ul style="list-style-type: none"> • « YES » Orange • « YES » Pomme Noir, Pomme Verte, Pomme Brune • « YES » Citron • « YES » Ananas • « YES » Open.

Présentation du groupe SAIDAL

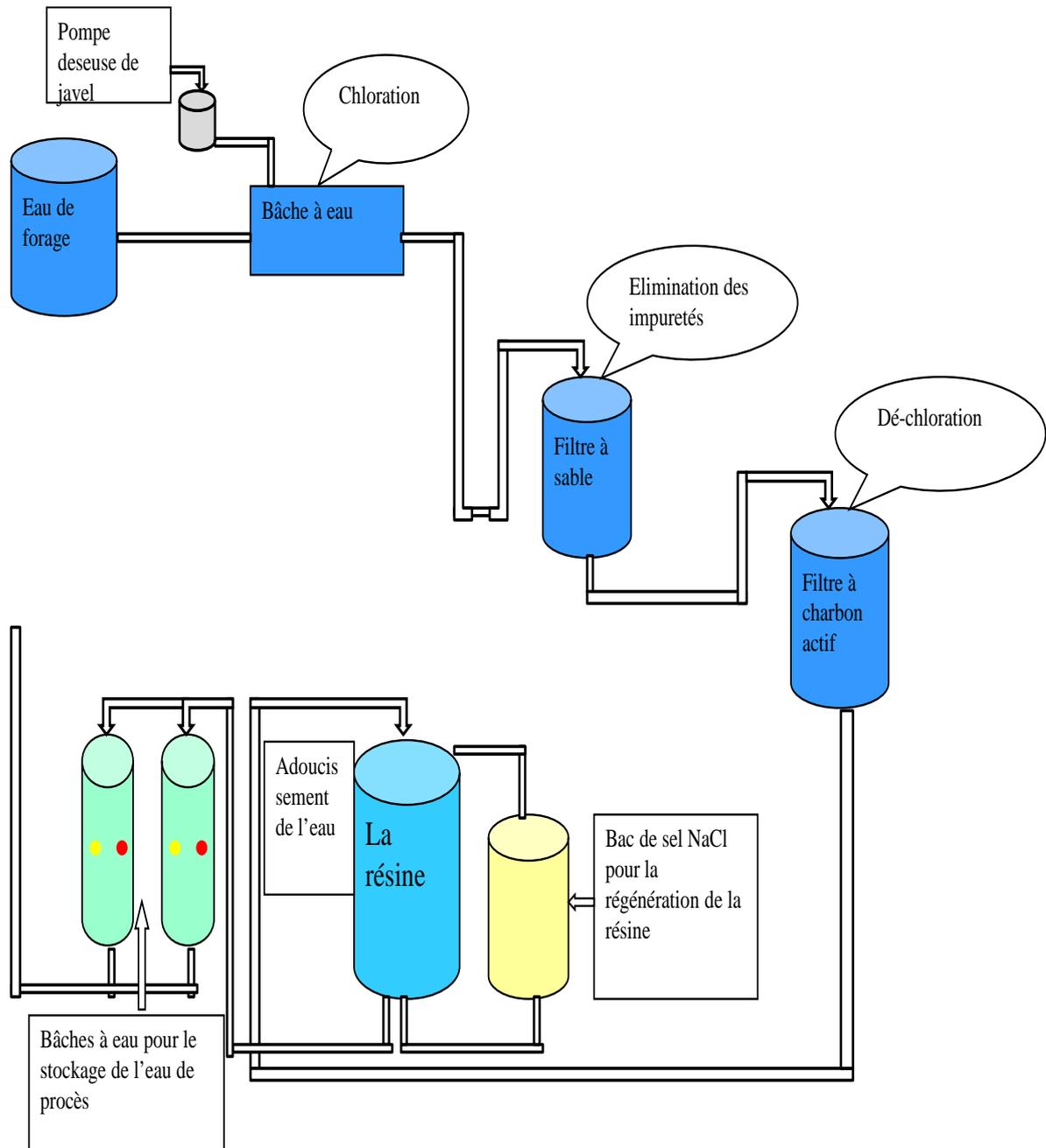
1. Historique du groupe :

SAIDAL a été créée en avril 1982 à la suite de la restructuration de la Pharmacie Centrale Algérienne (PCA) et a bénéficié, dans ce cadre du transfert des usines d'El Harrach, de Dar El Beida et de Gué de Constantine. Il lui a été également transféré en 1988, le complexe Antibiotiques de Médéa dont la réalisation venait d'être achevée par la Société Nationales des Industries Chimiques (SNIC). En 1989 et à la suite de la mise en œuvre des réformes économiques, SAIDAL devient une entreprise publique économique dotée de l'autonomie de gestion. En 1993, des changements ont été apportés aux statuts de l'entreprise, lui permettant de participer à toute opération industrielle ou commerciale pouvant se rattacher à l'objet social par voie de création de sociétés nouvelles ou de filiales. En 1997, la société SAIDAL a mis en œuvre un plan de restructuration qui s'est traduit par sa transformation en groupe industriel regroupant trois filiales (Pharmal, Antibiotical et Biotic). En 2009, SAIDAL a augmenté sa part dans le capital de somedial à hauteur de 59%. En 2010, elle a acquis un taux de 20% du capital d'IBERAL et sa part dans le capital de Taphco est passée de 38.75% à 44.51%. En 2011, SAIDAL a augmenté sa part dans le capital d'IBERAL à hauteur de 60% et en Janvier 2014, SAIDAL a procédé par voie d'absorption, à la fusion de ses filiales détenues à 100% : Pharmal, Antibiotical, Biotic.

2. Les sites de production :

SAIDAL compte 09 usines de production d'une capacité totale de 200 Millions d'Unités Ventes :

- Le site de production de Médéa.
- Le site de production de Dar El Beida
- Le site de production de Gué de Constantine
- Le site de production d'El Harrach
- Le site de production de Cherchell
- Le site de production de Constantine 1
- Le site de production de Constantine 2
- Le site de production d'Annaba
- Le site de production de Batna



● Analyse physico-chimique

● Analyse microbiologique

Figure n°1 : Processus du traitement de l'eau au niveau du SARL COJUNA

(Polycopie interne de COJUNA)

Annexe II

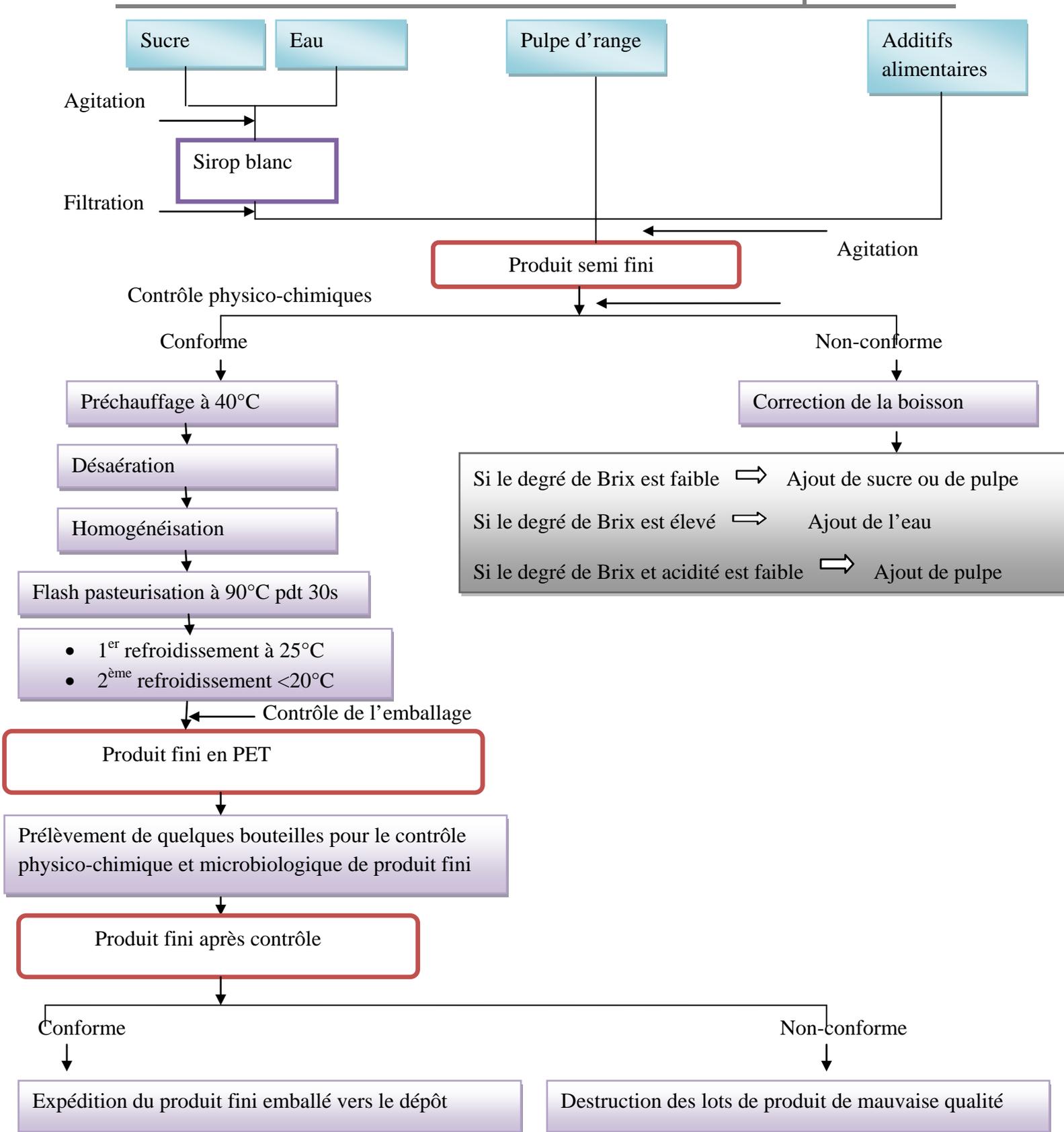


Figure n°2. Diagramme de fabrication du jus d'orange au niveau du SARL COJUNA (Polycopie interne de COJUNA)

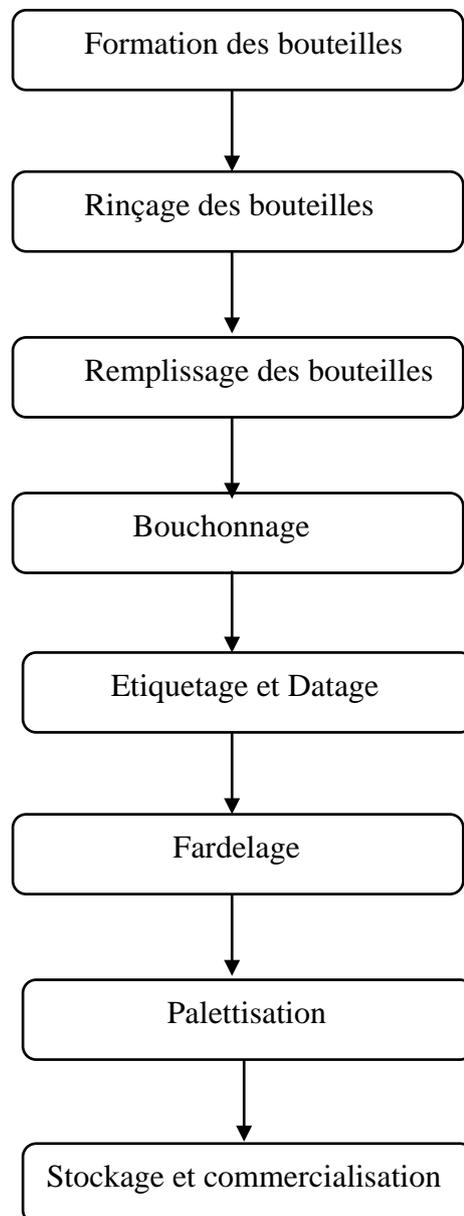


Figure n°3 : Conditionnement de jus d'orange dans l'entreprise COJUNA
(**Polycopie interne de COJUNA**)

Fiche technique du jus d'orange « Yes »

Nom ou Raison social : SARL COJUNA

Adresse : OUED EL ALLEUG BLIDA

Produit : BOISSON A BASE DE PULPE D'ORANGE

- **Description du produit :**

Produit : Jus à base de pulpe d'orange « METIDJA »

Emballage : Bouteille en PET étiquetée

Composition : eau traitée, sucre, pulpe et concentré d'orange, additifs alimentaires : (l'huile essentielle d'orange, correcteur d'acidité : SIN330, Antioxydants : SIN300, stabilisants et épaississants : SIN412, SIN466, SIN415, conservateurs : SIN202, SIN211, SIN223, Colorants alimentaires : (SIN 160a, SIN 102).

Date de fabrication : voir l'emballage

Date de péremption : voir l'emballage

Lot : voir l'emballage

Aspect : liquide

Couleur : orange

Odeur : orange

- **Spécification :**

Résidu sec soluble (Brix) : 10.5% - 12%

Acidité (mg/l) : 0.15 % 0.35 %

pH à 20°C : 2.30 – 3.8

Acide ascorbique (mg/l) : 100 mg/l – 500 mg/l

Contenance : 2 litres

Code à barre : 6132502090426

1. Matériel utilisé dans les analyses physico-chimiques :

➤ Appareillages et verreries :

- Balance électronique.
- Agitateur magnétique.
- Bécher.
- Burette.
- Etuve.
- Fioles jaugées de 1L.
- pH-mètre.
- Réfractomètre.
- Thermomètre.
- Cuve.
- Spatule.
- Pipette.
- Comparateur de couleur.
- Bouteilles en PET stériles.

➤ Réactifs et solutions :

- Eau distillée.
- Diéthyl Phénylène Diamine (DPD).
- Ethyle Diamine Tétra Acétique (EDTA).
- Phénolphtaléine.
- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Iode (I₂).
- Tampon pH7.
- Tampon pH4.
- Hardness Buffer.
- Calmagite indicator.
- Empois d'amidon.

2. Matériel utilisé dans les analyses microbiologiques :

➤ **Appareillages et verreries :**

- Etuve à réglable.
- Bain marie.
- Boîtes de pétri.
- Cloche de durham.
- Bec bunsen.
- Hotte.
- Pipette pasteur.
- Propipette.
- Tubes à essai stériles.
- Portoirs.
- Réfrigérateur.
- Téliurite de potassium.
- Alun de fer.

3. Matériel utilisé en expérimentation animale :

➤ **Appareillages et verreries :**

- Pince.
- Bécher.
- Seringues.
- Cages.
- Cotton.
- Sonde gastrique.
- Appareil de mesure de glycémie.
- Balance électronique.

Composition des milieux de culture

➤ Bouillon lactosé à pourpre de bromocrésol (BCPL) double et simple concentration :

Composition (g/l)

	BCPL (S/C)	BCPL (D/C)
• Extrait de viande	1	2
• Peptone de caséine	7	14
• Lactose	5	10
• Bromocrésol pourpre	0.03	0.06
• pH de milieu	6.7±0.2	6.7±0.2

➤ Bouillon Tryptone Sel Eau (TSE) :

Composition (g/l)

• Tryptone	0.1g
• Chlorure de sodium	8.5g
• pH final.....	7±0.2
• Autoclave.....	121°C pendant 20 minutes

➤ Gélose Tryptone Glucose à l'Extrait de levure Agar (TGEA)

• Lactalbumine hydrolysée	10g
• Extrait de viande	5g
• Extrait de levure	3g
• Peptone de caséine	10g
• Glucose	2g
• Rouge de phénol.....	0.08g
• Agar	18g

➤ Gélose Viande Foie additif alun de fer et sulfite de sodium (en ampoules) (VF)

• Base viande –foie	10g
• Glucose.....	5g
• Gélose	15g
• Extrait de levure.....	10g
• Peptone	20g

- Eau distillée 1000ml
- pH final.....7.6±0.2

➤ **Milieu Giolitti Contoni (GC)**

- Tryptone 10g
- Extrait de viande..... 5g
- Extrait de levure3g
- Chlorure de lithium 5g
- Mannitol 20g
- Chlorure de sodium..... 5g
- Glycine..... 12g
- Pyruvate de sodium..... 5g
- Eau distillée1000ml
- pH7.4

➤ **Eau Peptonée Tamponnée (EPT)**

- Peptone10g
- Protéase peptone10g
- Sodium chlorure..... 5g
- Phosphate di-sodique hydraté..... 9g
- Phosphate mono-potassique..... 1.5g
- Phosphate di-sodique anhydre..... 3.5g
- pH final7.2±0.2

➤ **Milieu de Schubert**

Composition (g/l)

- Tryptophane..... 0.2g
- Acide glutamique..... 0.2g
- Sulfate de magnésium..... 0.7g
- Citrate de sodium..... 0.5g
- Sulfate d'ammonium0.4g

- Chlorure de sodium..... 2g
- Peptone..... 10g
- Mannitol..... 7.5g
- Phosphate di-sodique..... 4g
- Phosphate mono-potassique 0.6g
- pH final..... 7.4

➤ **Milieu Sabouraud au chloramphénicol**

- Peptone10g
- Glucose massé..... 20g
- Chloramphénicol0.5g
- Agar agar..... 20g
- pH6

➤ **Gélose lactosée bilié au cristal violet et au rouge neutre (VRBL)**

- Peptone7g
- Extrait de viande3g
- Lactose..... 10g
- Désoxycholate de sodium..... 1.5g
- Cristal violet..... 2mg
- Chlorure de sodium..... 5g
- Agar..... 15g
- Eau distillée1000ml

➤ **Gélose Chapman**

- Extrait de viande.....1g
- Peptone..... 10g
- Chlorure de sodium..... 5g
- Mannitol..... 10g
- Agar agar..... 15g
- Rouge de phénol25g
- Eau distillée..... 1000ml
- pH..... 7.4

➤ **Milieu de Rothe double te simple concentration**

Composition (g/l)

S/C	D/C	
•	Hydrolysats trypsique de caséine.....12.6.....	25.2
•	Peptone..... 8.....	16
•	Chlorure de sodium..... 5.....	10
•	Phosphate di-potassique..... 2.7.....	5.4
•	Phosphate mono-potassique..... 2.7.....	5.4
•	Azide de sodium..... 0.2.....	0.4
•	pH final.....	6.8±0.2
•	Autoclave..... 121°C pendant 15 minutes	

➤ **Milieu Eva Litsky**

•	Ethyle violet.....	0.5g
•	Peptone.....	20g
•	Glucose.....	5g
•	Chlorure de sodium.....	0.3g
•	Phosphate di-potassique.....	2.7g
•	Phosphate mono-potassique.....	2.7g
•	pH.....	6 à 7
•	eau distillée.....	1000ml

➤ **Gélose Hektoen**

•	Protéase peptone.....	12g
•	Extrait de levure.....	3g
•	Chlorure de sodium.....	5g
•	Sels biliaries.....	9g
•	Citrate de fer ammoniacal.....	1.5g
•	Thiosulfate de sodium.....	5g
•	Salicine.....	2g
•	Lactone.....	12g

➤ **Bouillon au Sélénite de sodium et à la cystéine (SFB) double et simple concentration**

- Peptone..... 8g
- Lactose..... 8g
- Phosphate di-sodique..... 20g
- Salinité acide de sodium..... 10g
- Cystéine..... 200mg
- Eau distillée..... 1000ml
- pH..... 7

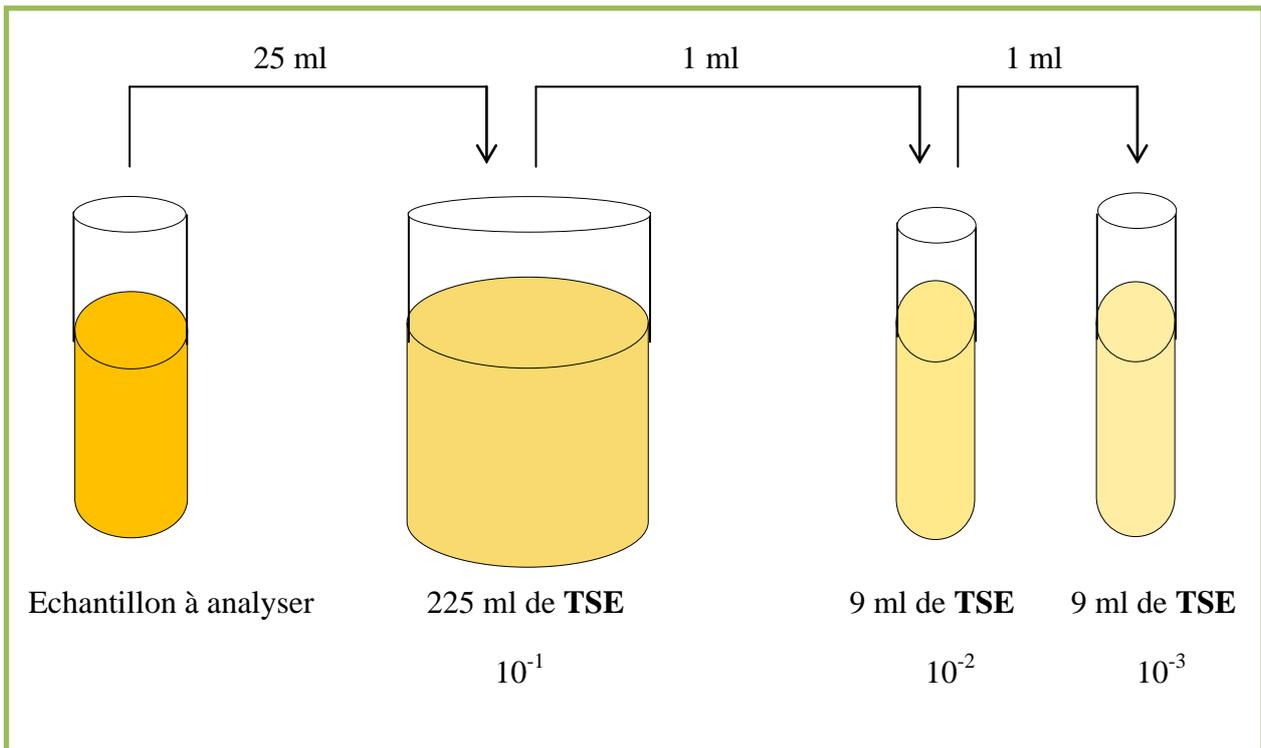


Figure n°4. Préparation de la solution mère et les déluions décimales pour les produits liquides.

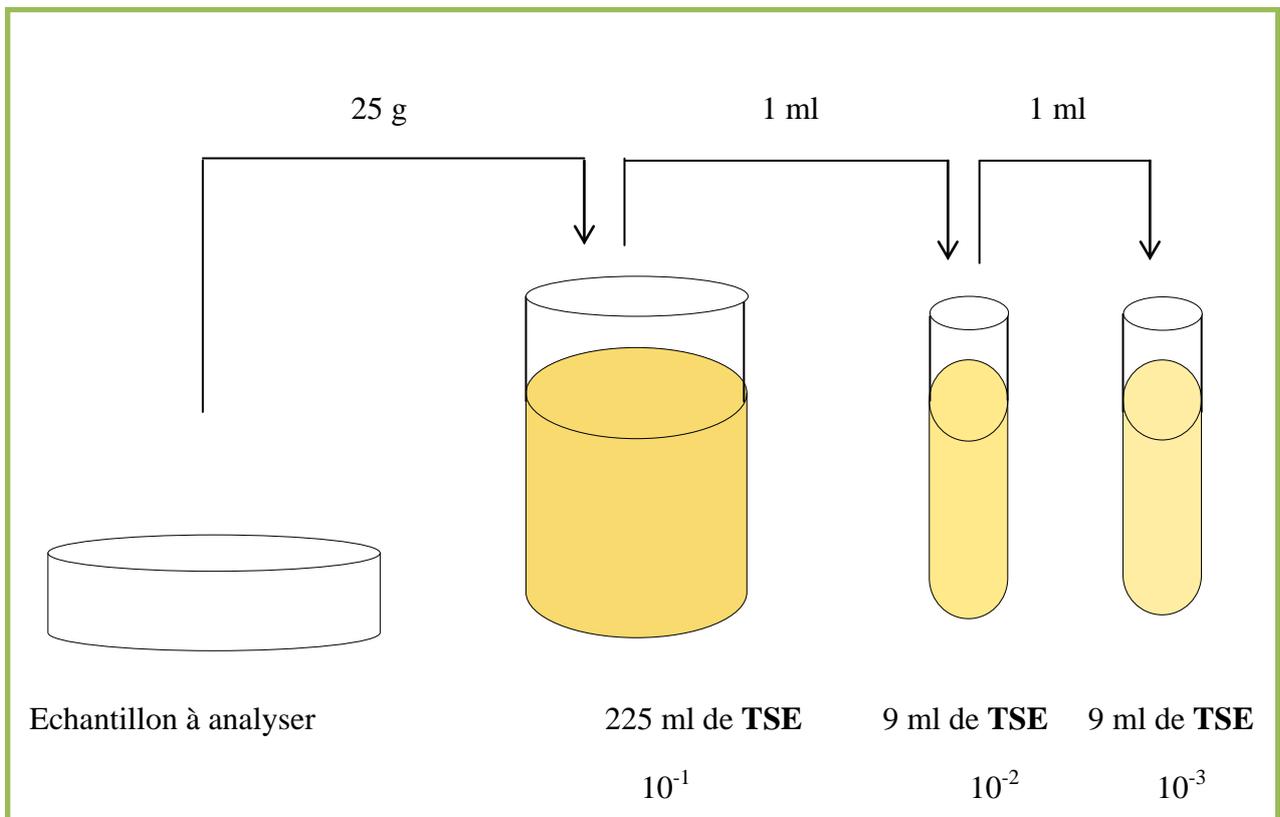


Figure n°5. Préparation de la solution mère et les dilutions décimales pour les produits solides

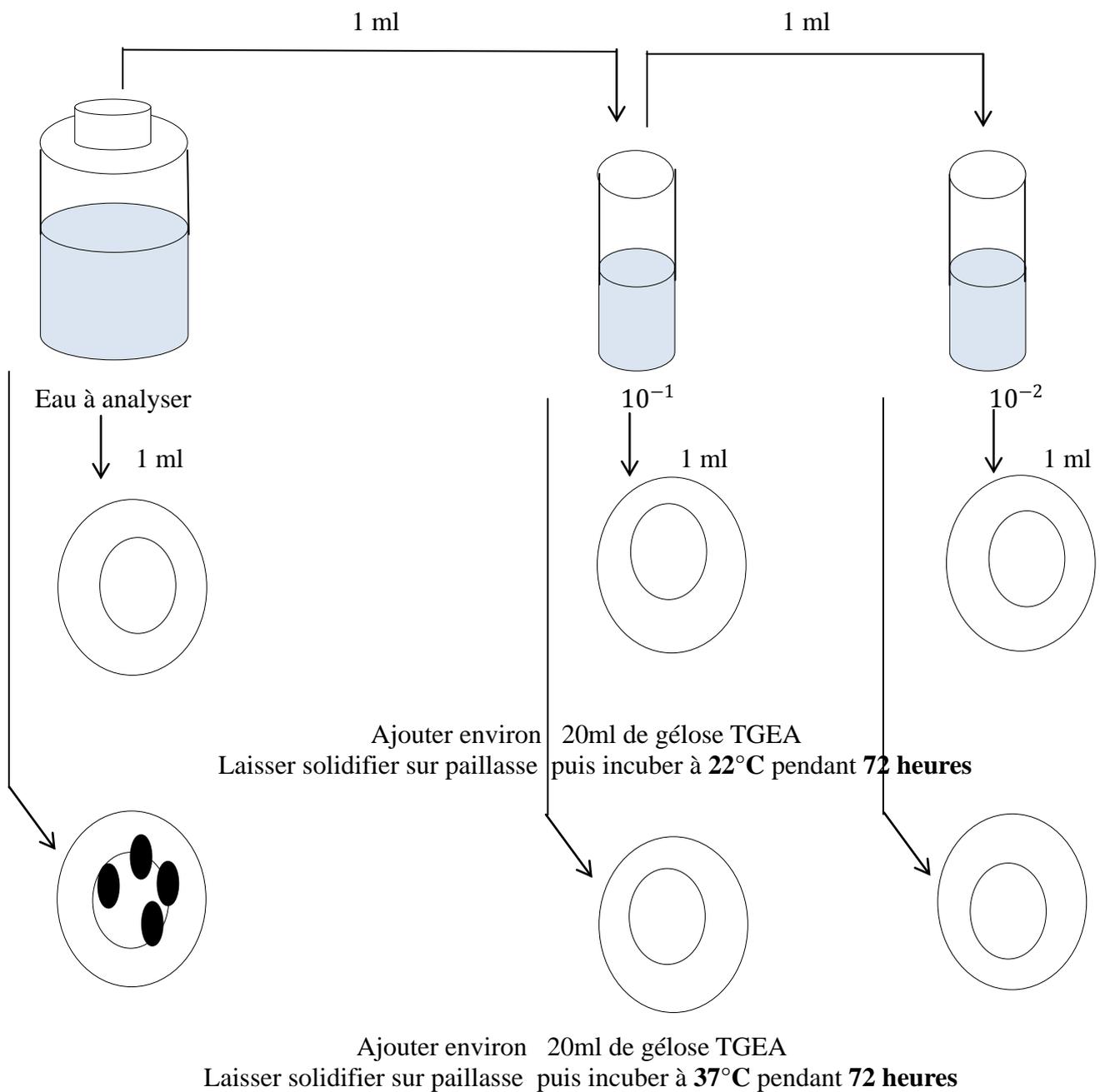
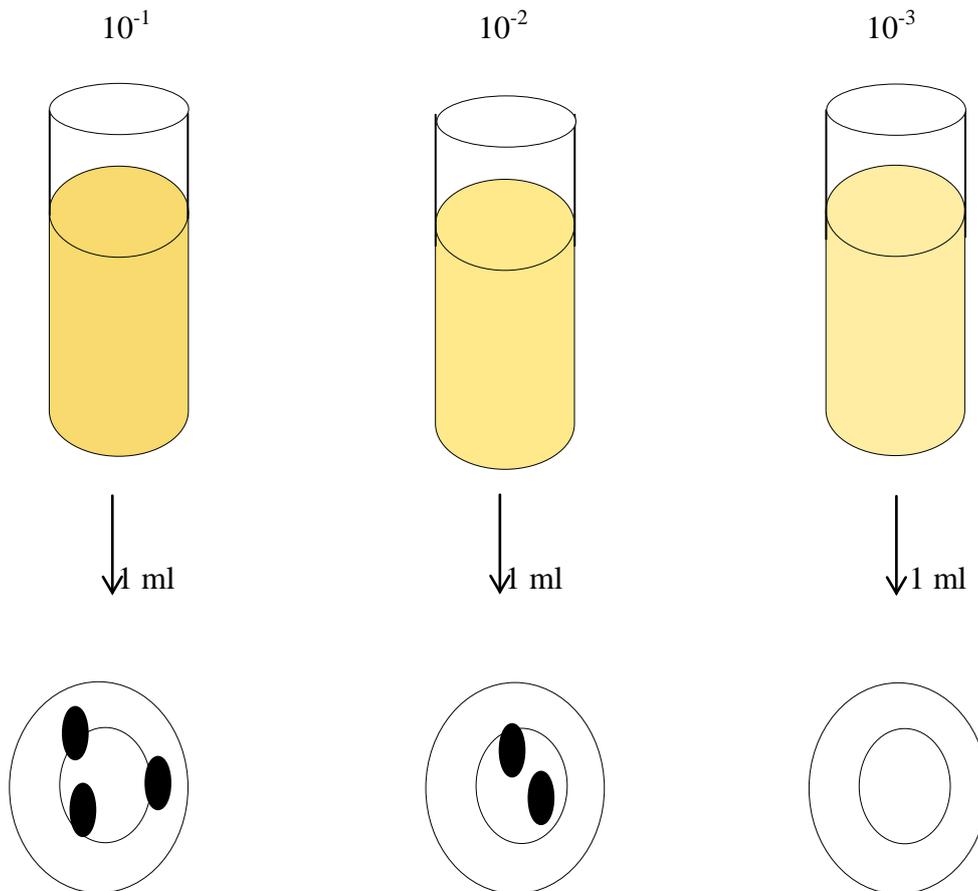


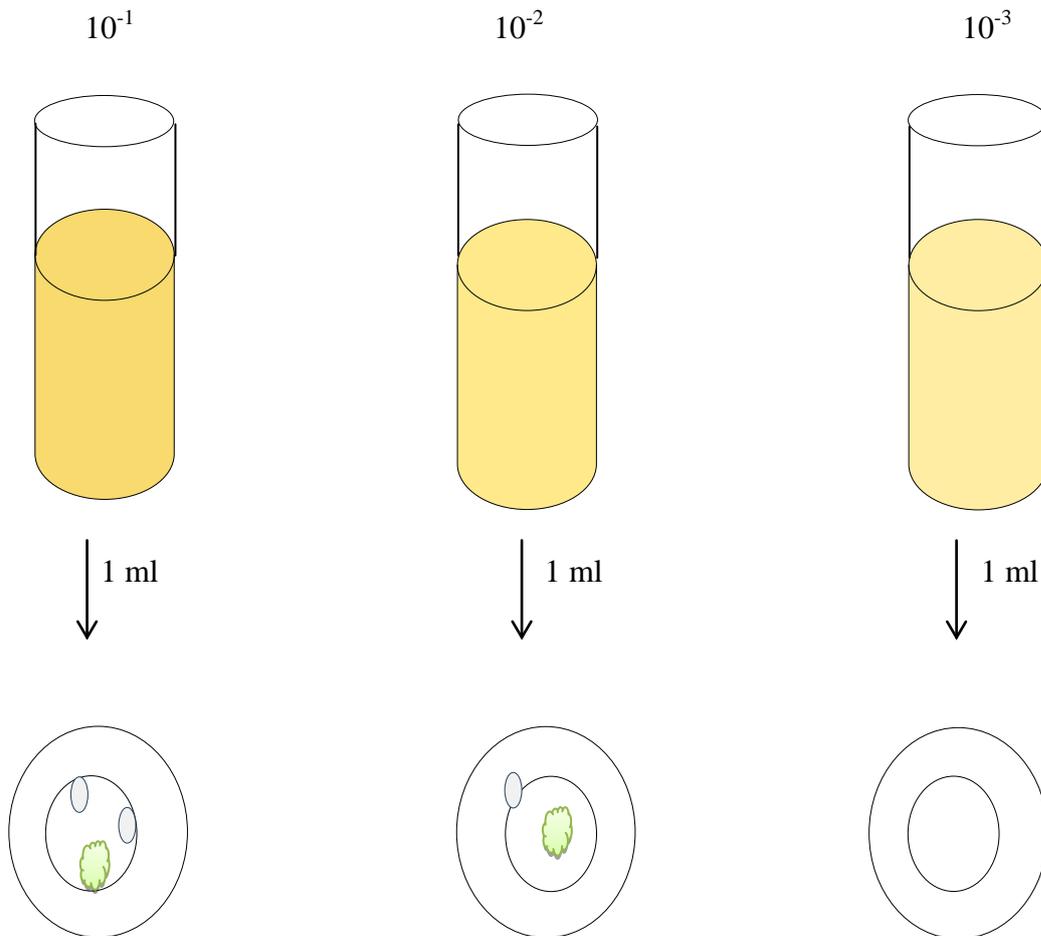
Figure n°6. Recherche et dénombrement des Germes Aérobie Mésophile Totale dans l'eau de procès (JORA, 1998)

A partie des dilutions décimales :

Ajouter environ 20ml de gélose TGEA
Laisser solidifier sur pailleuse puis incuber à **30°C** pendant **72 heures**

Figure n°12. Recherche et dénombrement des Germes Aérobie Mésophile Totale à 30°C dans la pulpe, le sucre et le produit fini (JORA, 1998)

A partie des dilutions décimales :



Ajouter environ 20ml de gélose Sabouraud au chloramphénicol
Laisser solidifier sur paillasse puis incuber à **22°C** pendant **5 jours**

Figure n°15. Recherche et dénombrement des levures et moisissures dans le sucre et le produit fini (JORA, 1998)

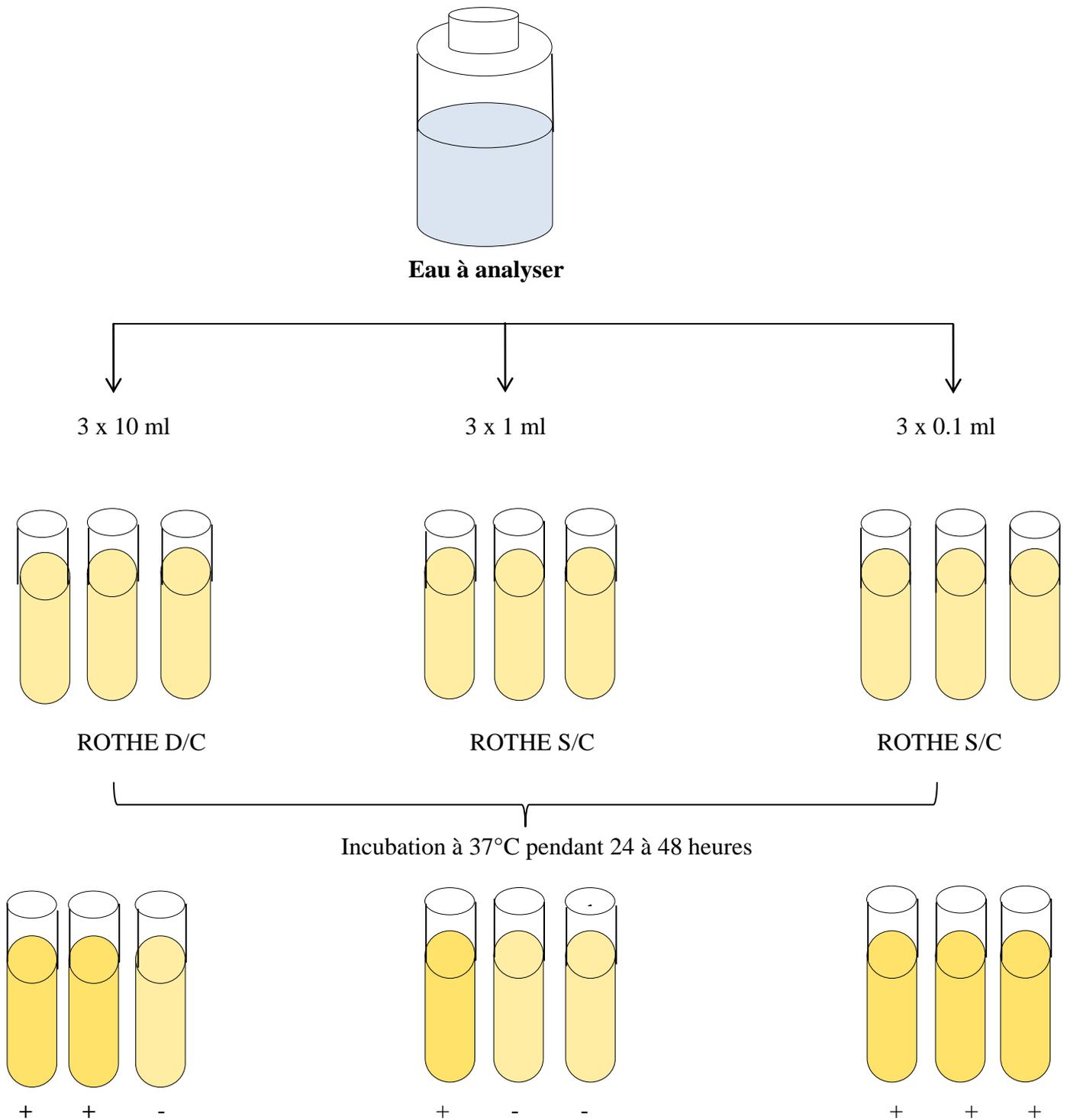


Figure n°10. Recherche et dénombrement des Streptocoques du groupe D dans l'eau de procès (test de présomption) (JORA, 1998)

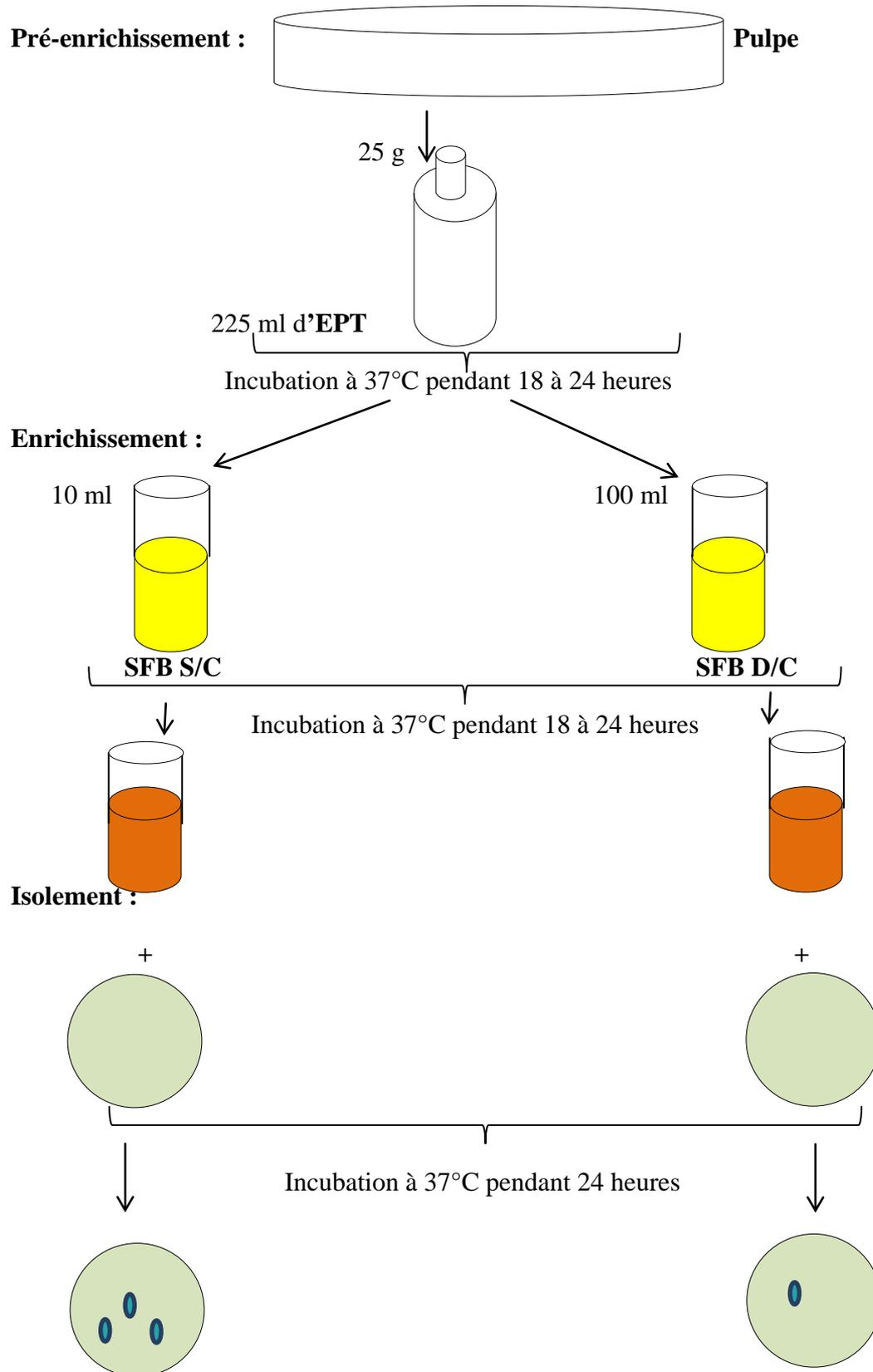


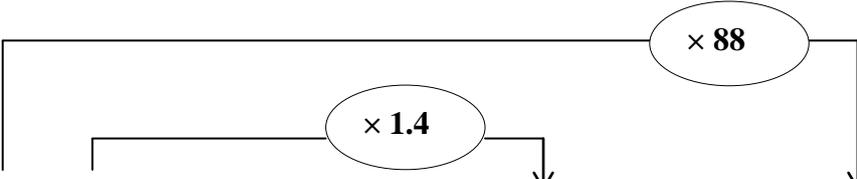
Figure n°17. Recherche et identification des Salmonelles dans la pulpe

(JORA, 1998)

Tableau II. Table NPP = Table de Mac-Grady

Nombre caractéristique	Nombre de micro-organismes
000	0.0
001	0.3
010	0.3
011	0.6
020	0.6
100	0.4
101	0.7
102	1.1
110	0.7
111	1.1
120	1.1
121	1.5
130	1.6
200	0.9
201	1.4
202	2.0
210	1.5
211	2.0
212	3.0
220	2.0
221	3.0
222	3.5
223	4.0
230	3.0
231	3.5
232	4.0
300	2.5
301	4.0
302	6.5
310	4.5
311	7.5
312	11.5
313	16.0
320	9.5
321	15.0
322	20.0
323	30.0
330	25.0
331	45.0
332	110.0
333	140.0

Tableau III. Détermination de l'acidité et de la vitamine C.



Volume lu sur la burette	Acidité	Vitamine C
1.5	2.1	132
1.6	2.24	140.8
1.7	2.38	149.6
1.8	2.52	158.4
1.9	2.66	167.2
2	2.8	176
2.1	2.94	184.8
2.2	3.08	193.6
2.3	3.22	202.4
2.4	3.36	211.2
2.5	3.5	220
2.6	3.64	228.8
2.7	3.78	237.6
2.8	3.92	246.4
2.9	4.06	255.2
3	4.2	264
3.1	4.34	272.8
3.2	4.48	281.6
3.3	4.62	290.4
3.4	4.76	299.2
3.5	4.9	308

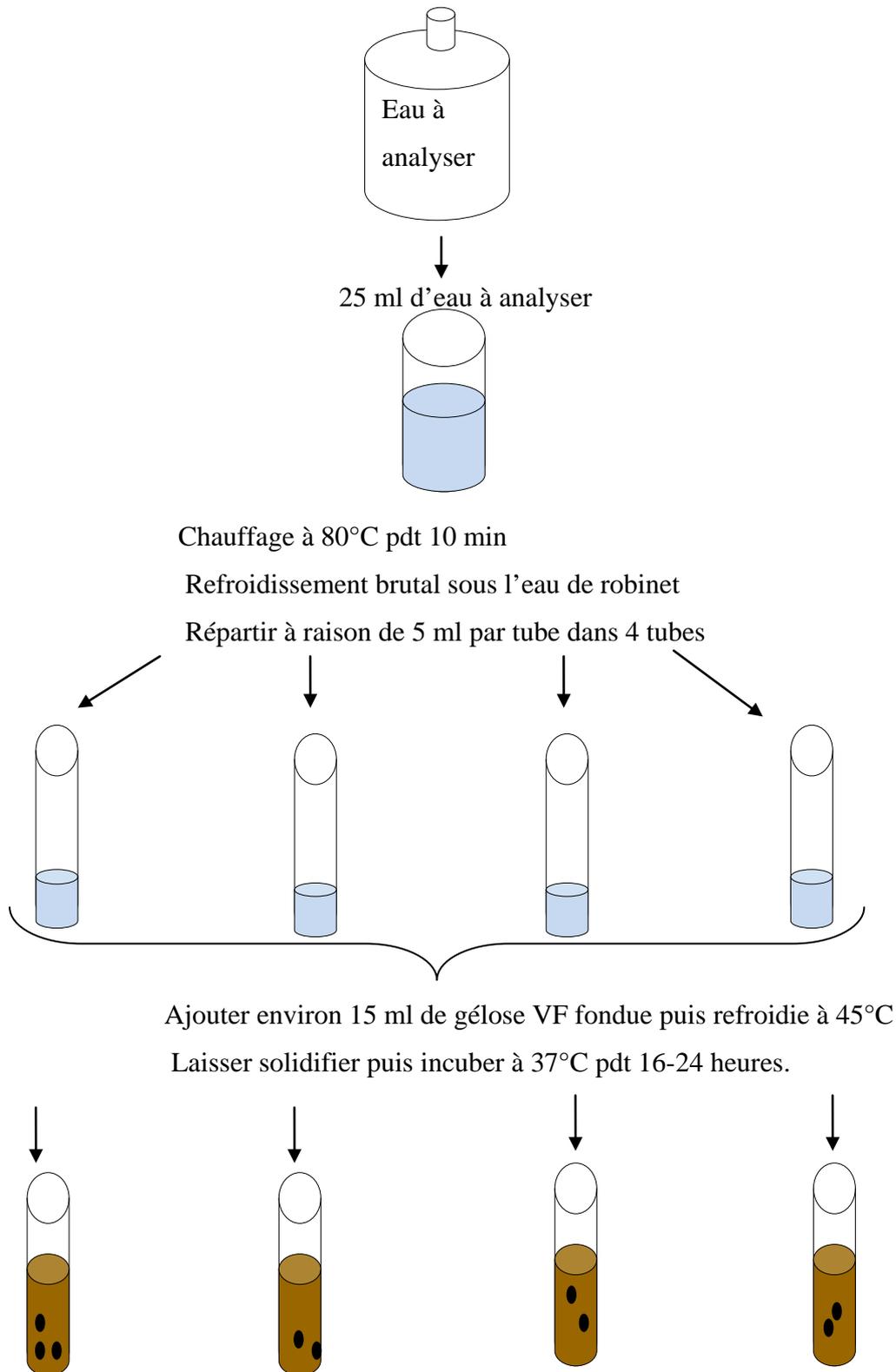


Figure n°9. Recherche et dénombrement des spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs dans l'eau. (JORA, 1998)

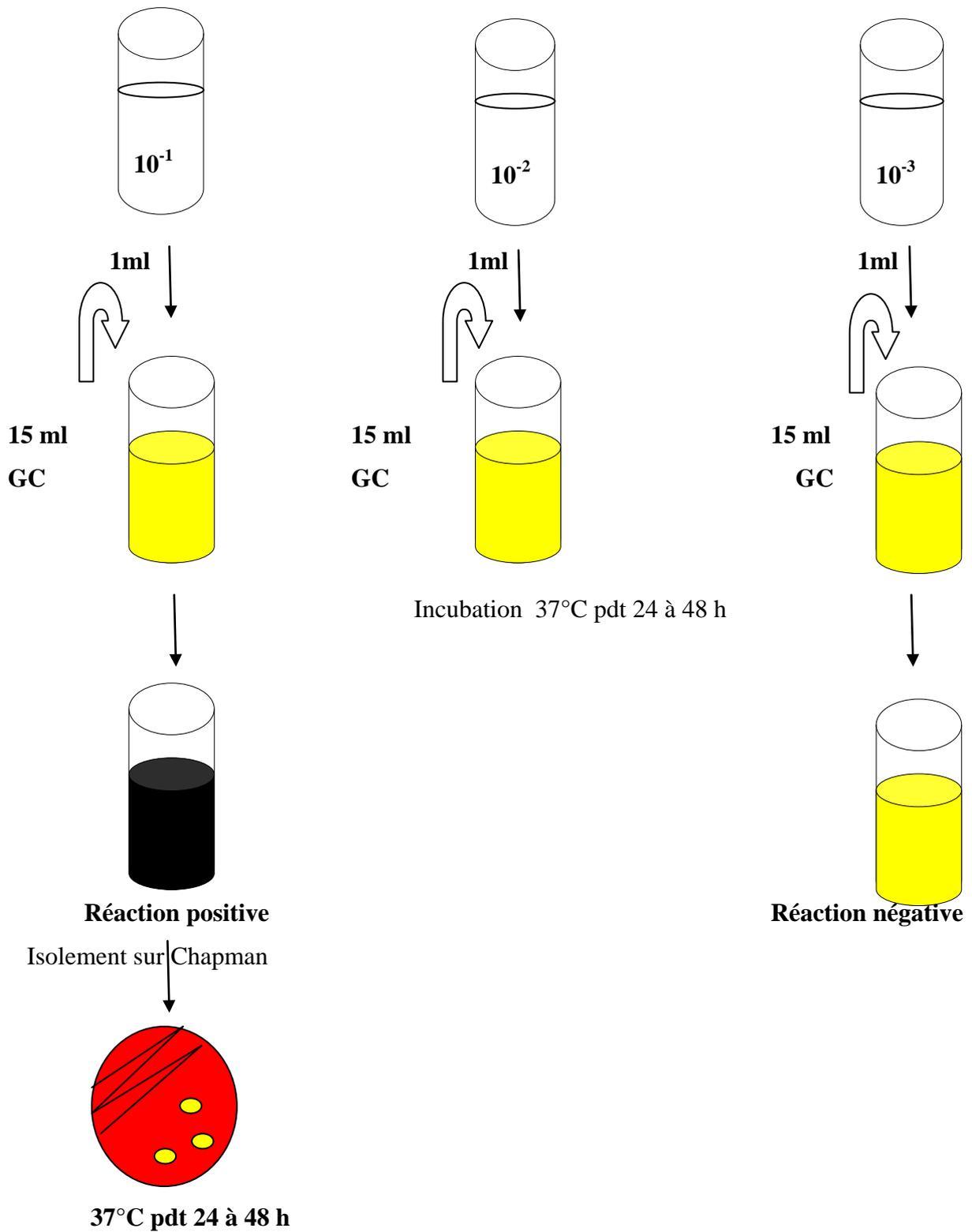
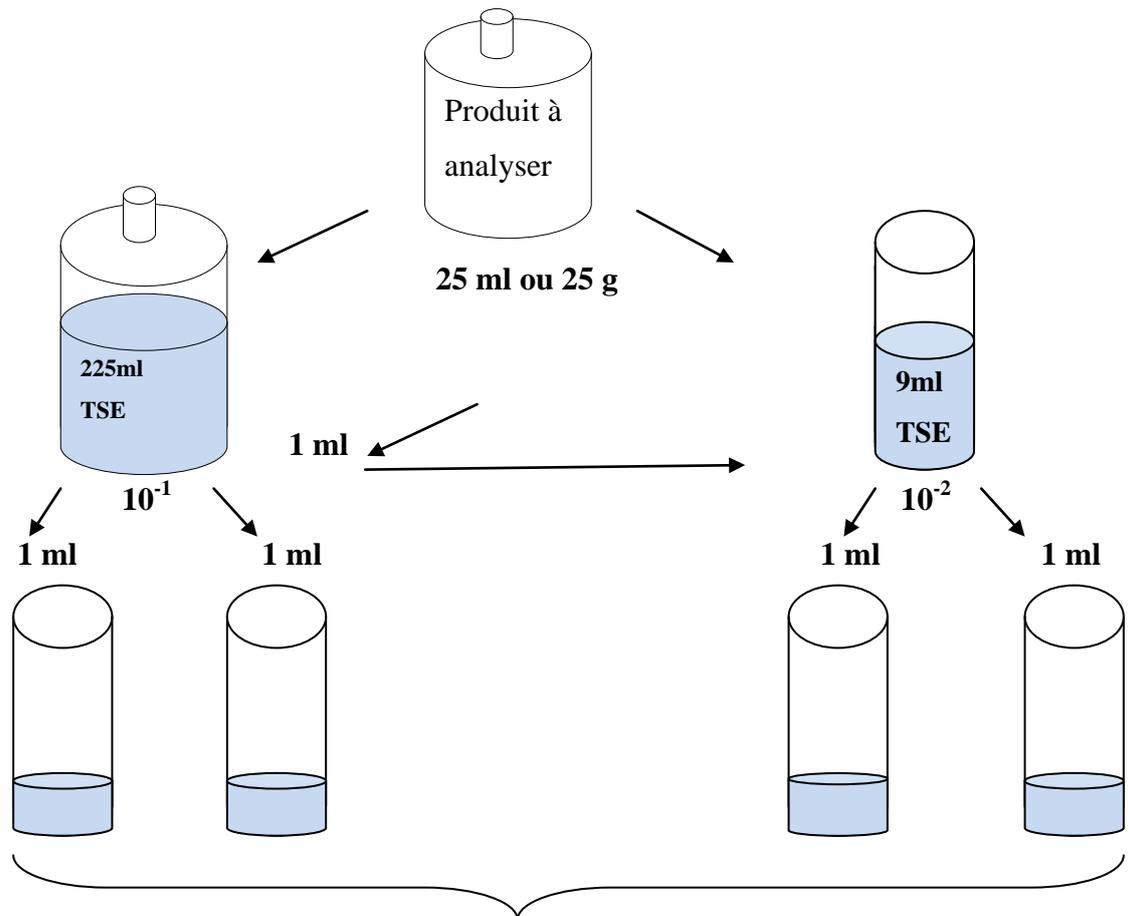
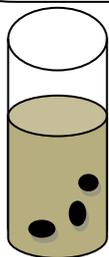


Figure n°16. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* dans la pulpe.

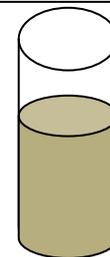
(JORA, 1998)



- Chauffage à 80°C pdt 8 à 10 minutes
- Refroidissement brutal sous l'eau de robinet
- Ajouter environ 15 ml de gélose VF fondue puis refroidie à 45 ± 1°C
- Laisser solidifier puis incuber à 37°C
- Lecture à 16 - 24 h puis 48 heures



Réaction positif



Réaction négatif

Dénombrement et identification biochimique

Figure n°14. Recherche et dénombrement de Clostridium Sulfite-Réducteurs dans le sucre, la pulpe et le produit fini. (JORA, 1998)

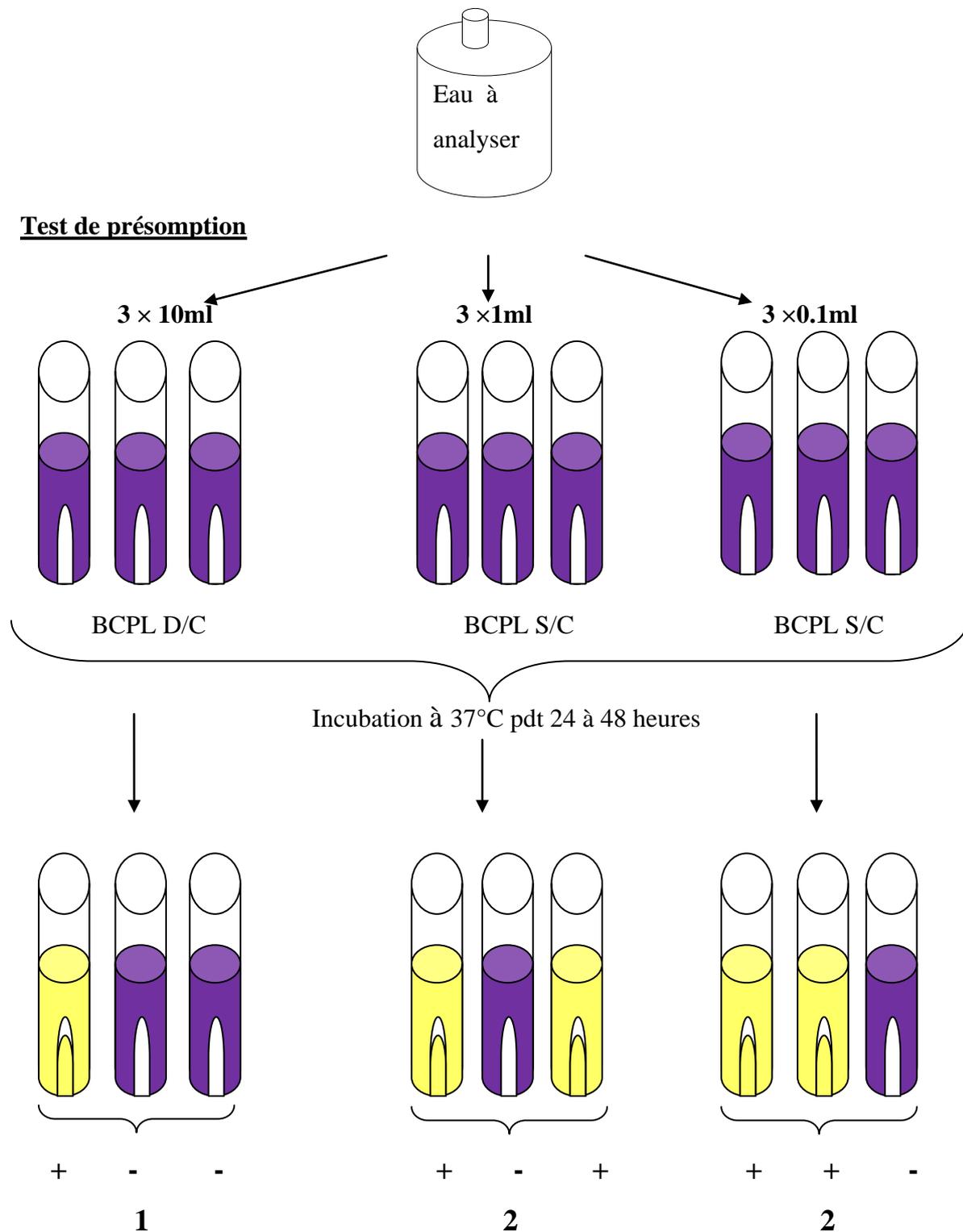


Figure n°7. Recherche et dénombrement des Coliformes et d'*Escherichia coli* dans l'eau de procès (test de présomption) (ISO4832, 2006)

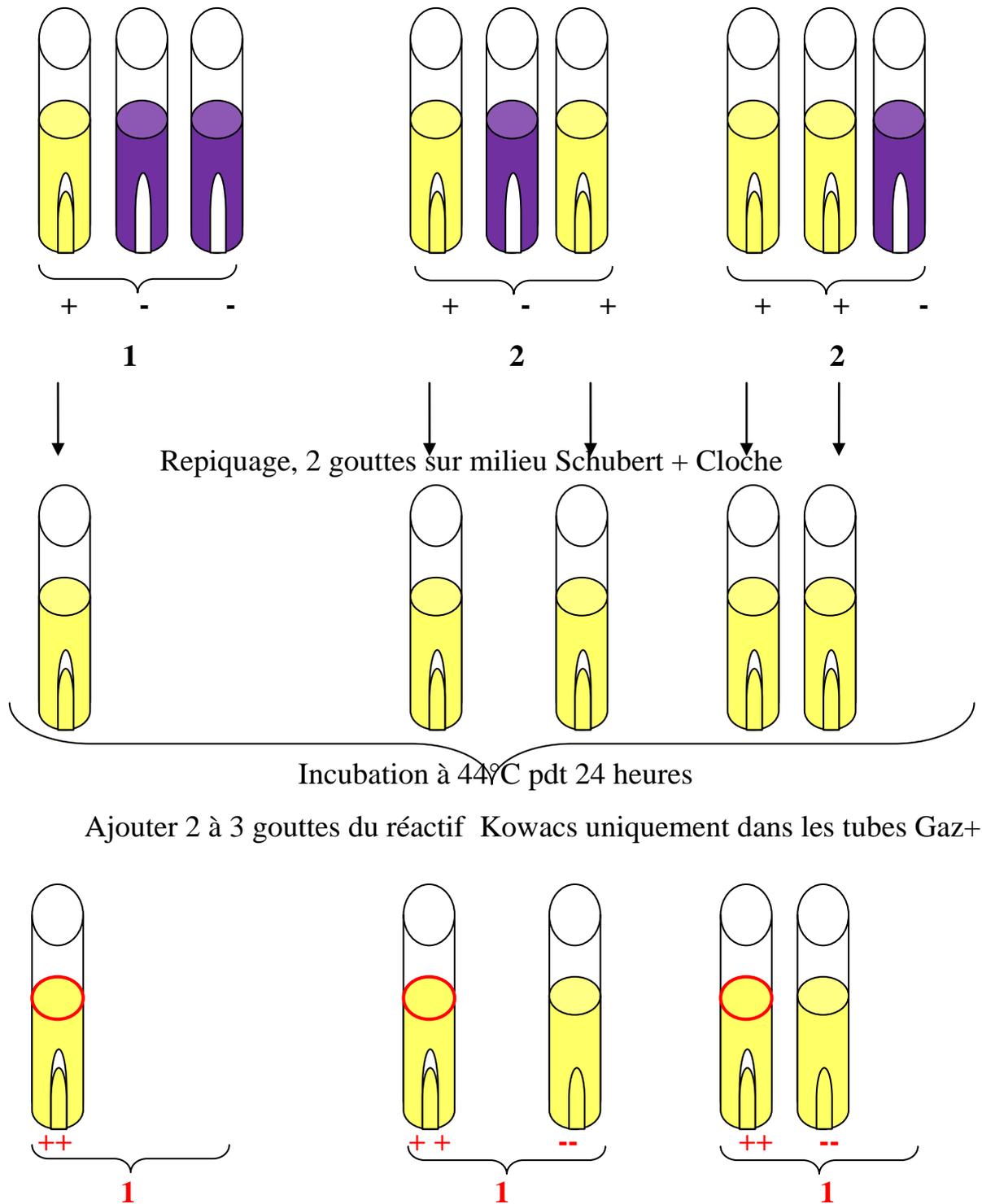


Figure n°8. Recherche et dénombrement des Coliformes et d'*Escherichia coli* dans l'eau de procès (test de confirmation) (ISO4832, 2006)

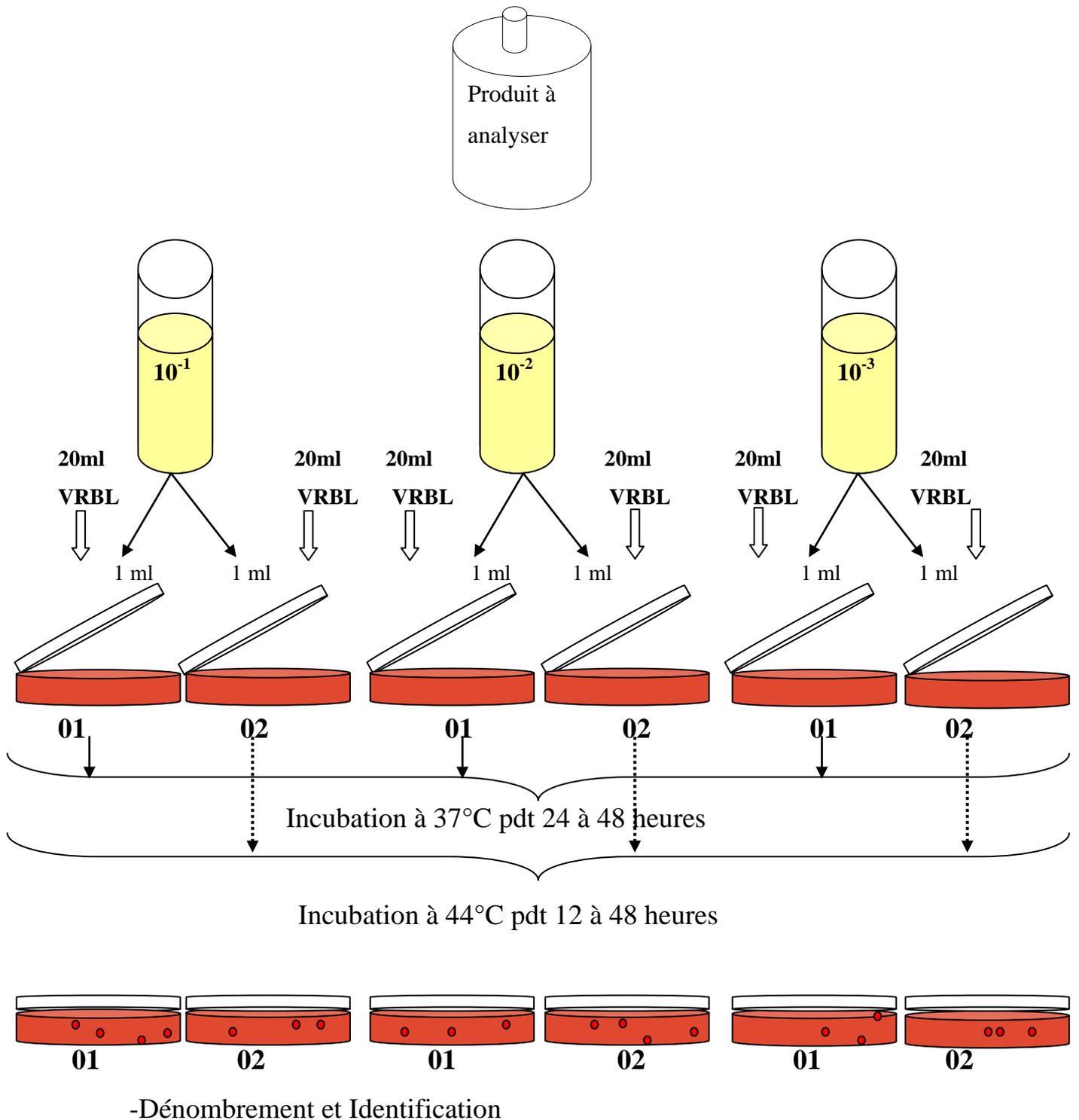


Figure n°13. Recherche et dénombrement des Coliformes et d'*Escherichia coli* dans la pulpe, le sucre et le produit fini. (ISO4832, 2006)



Figure n°18. Variation de couleur pour le titrage de Vitamine C (Originale 2017)



Figure n°19. Variation de couleur pour le titrage de l'acidité (Originale 2017)



Figure n°20. Différents jus (Originale 2017)

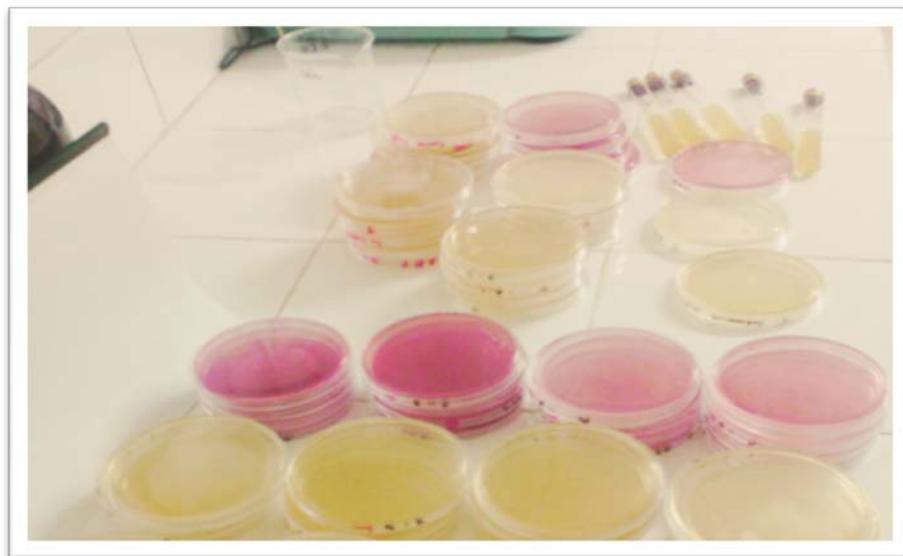


Figure n°21. Résultats de l'analyse microbiologiques (Originale 2017)



Figure n°22. Résultat de recherche des Streptocoques dans l'eau de procès. (Originale 2017)



Figure n°23. Résultat de recherche des Coliformes dans l'eau de procès. (Originale 2017)



Figure n°24. Aliment des souris (Originale 2017)



Figure n°25. Contention des souris (Originale 2017)



Figure n°26. Gavage des souris (Originale 2017)



Figure n°27. Différents régimes (Originale 2017)

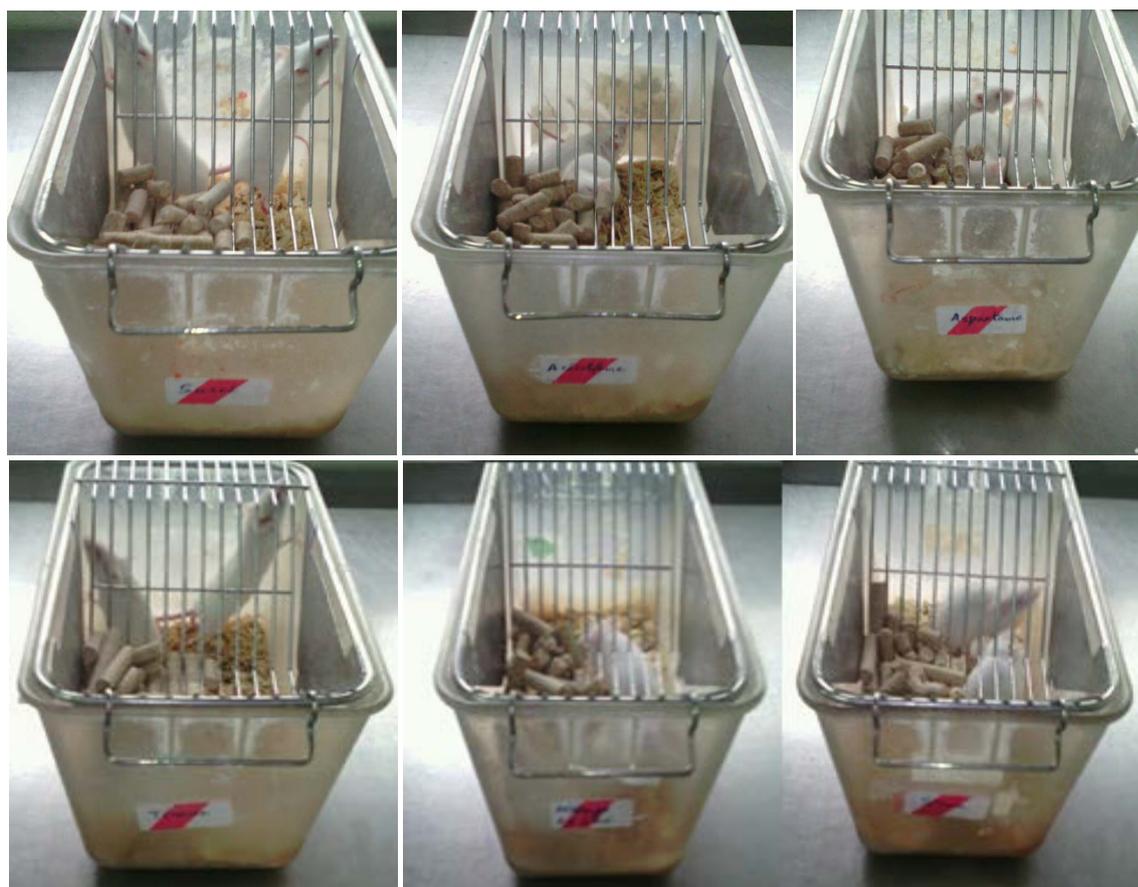


Figure n°28. Différents lots de souris (Originale 2017)