

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE Saad DAHLAB-BLIDA
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES**

**EVALUATION DE LA QUALITE MICRO-BIOLOGIQUE ET
PHYSICO-CHIMIQUE D'UN CONCENTRE DE JUS D'ORANGE**

**Projet de fin d'étude
En vue d'obtention de diplôme de Master**

Filière: Sciences Alimentaires

Présenté par: Mme KHELOUIA LAMIA

Devant le jury composé de:

Mme Doumandji .A	MCA	Présidente.
Mr Hadj Saddok .T	MCB	Examineur.
Mme Kouidri. A	MCA	Examinatrice.
Mme Boutekrabt.L	MCA	Promotrice.

ANNEE UNIVERSITAIRE 2010-2011

Dédicaces.

Je dédie ce modeste travail

À mes parents,

À mon mari,

À mes enfants et mes sœurs.

Remerciement.

Nous remercions le bon dieu, le tout puissant qui nous a donné la force et le courage à fin de réaliser cet humble travail.

Je remercie profondément ma promotrice, Mme BOUTEKRABT Lynda pour ses précieux conseils, et pour son suivi et orientations. Je tiens à remercier l'honorable jury :Mme Doumandj ;Mme Kouidri ;et Mr Hadj Saddok qui ont accepter d'examiner mon travail

Ainsi l'équipe de l'unité de Sicam, l'équipe du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida, celle de l'institut d'agronomie.

ملخص:

من خلال هذا العمل المنجز ، المترکز على القيام بالبحث عن التغيرات الميكروبيولوجية و الفيزيوكيماوية المتعلقة بالجانب النوعي لمركز عصير البرتقال في طور الإنتاج ، وهذا البحث قد مكننا من الاستنتاج: أنه من خلال طريقته ، فإنه هناك تغيرات معتبرة " مثل فقدان الفيتامين C ، واسمرار المنتج " ، مما يؤدي الى المساس بنوعية المنتج من جانب النوعية الشرائية و الغذائية على السواء. من جهة أخرى ، فإن النتائج المحصل عليها قد أثبتت النوعية و الجودة العالية للمنتج ، خصوصا و أنه يتطابق مع المواصفات المنصوص عليها في الجريدة الرسمية. كذلك من الجانب الفيزيوكيماوي ، فإنه يصح القول أن نوعية المنتج جد عالية ، حيث أن النتائج تتطابق مع المقاييس المنصوص عليها في الجريدة الرسمية. باتباع الطريقة التكنولوجية ، و القواعد الصحية الصارمة ، وكذا شروط العمل ، نستطيع حماية المستهلك بالدرجة الأولى ، و المنتج بالدرجة الثانية ، وكذلك منع حدوث أي تسربات التي يمكن أن تؤدي الى حدوث أخطار وخيمة.

كلمات مفتاح:

عصير البرتقال ، حوامض ، معلبات غذائية.

RESUME.

Nous avons fait l'étude d'une évaluation de la qualité microbiologique et physicochimique d'un concentré de jus d'orange au cours de la fabrication, et cette dernière nous a permis de constater qu'au cours du traitement ; des modifications considérables en résultent (perte de la vitamine C et brunissement du produit) ; celles-ci affectent la qualité nutritionnelle et marchande du produit. Qui par contre peut être plus ou moins préservée en respectant le procédé technologique et les conditions de stockage.

D'après les résultats obtenus, nous avons pu noter que le concentré de jus d'orange était de qualité microbiologique satisfaisante, vue l'absence de micro-organismes pathogènes au cours des étapes de fabrication, et cela tout en se référant aux normes précisées par le journal officiel.

Ainsi, du point de vue physicochimique, nous pouvons dire que la qualité du jus d'orange est par la suite satisfaisante, car les résultats obtenus se plient aux normes prescrites dans le journal officiel.

En suivant le procédé technologique, et les bonnes méthodes et conditions de travail, nous pourrions protéger le consommateur des éventuelles sources de contaminations.

MOTS CLES :

Jus d'orange, Agrumes, Conserves alimentaires,

Summary

We have made the studies of the microbiological and physicochemical evaluation of a concentrated orange juice during the fabrication, this later permits to notice during the treatment the considerable modifications resulting (The loss of Vitamin C, and gloominess of the product's colour). This latter affects the nutritional quality and selling of the product. It can approximately be preserved by respecting the technological process and the conditions of storage.

Talking about the results, we have noted that the concentrated orange juice was from a satisfying microbiological quality, and this is written from the inexistence of the virulent micro-organisms all during the stages of the fabrication.

Also, when we take the physicochemical point, we can say that the quality of the orange juice is absolutely satisfying.

Following the various stages of the technological process, and the good methods and conditions of work, we can take off the consumer from the eventual risk of contaminations.

Key words:

Orange juice, Citrus fruits, Canned food,

Abréviations.

GAT : Germes aérobies totaux.

CF : Coliformes fécaux.

S.au : Staphylococcus aureus.

L+M : Levures et moisissures.

CSR : Clostridium sulfito-réducteurs.

Strep: Ptreptocoques fécaux.

P.V : Prélèvement vestimentaire.

P.C : Prélèvement cutané.

P.O.R : Potentiel d'oxydoréduction.

abs : Absence.

NA : Norme Algérienne 1990.

PC : Produit conforme.

PNC : Produit non-conforme.

°C : Degré Celsius.

pH : Potentiel d'hydrogène.

Sommaire.

INTRODUCTION

I-PARTIE : BIBLIOGRAPHIE.

CHAPITRE I : Généralités sur les agrumes.

I-1 Généralités sur les agrumes	12
I-2 Production d'oranges et d'oranges transformées	14
I-3 Procédé de fabrication jus d'orange	16
I-4 Procédé de fabrication du jus à base de concentré	21
I-5 Conditionnement	23
II- La composition biochimique du fruit	24
II-1 Composition de l'orange	24
II-2 L'orange et la santé	27

CHAPITRE II : La qualité hygeinique.

I- L'indice de contamination fécale	31
II- L'altération microbienne du concentré de jus d'orange	31
II-1-Origine des contaminations	31
II-2-Facteurs en relation avec l'altération	32
III -Altération et dégradation de la qualité	32
IV- Les toxi-infections	33
IV-1-Définition	33
IV-2-Principaux microorganismes de toxi-infection	33
V- Les intoxications	36

CHAPITRE III: L'emballage.

I- Le but de l'emballage et du conditionnement	39
II- La fonction de l'emballage	39
III- Les risques liés aux contaminations par l'emballage	40

CHPITRE IV : Réglementation et normalisation.

I- Réglementation	43
II- Normalisation	43

II-PARTIE : OBJECTIFS DU TRAVAIL.

I- Technique du prélèvement	46
II- Le prélèvement	46
III- La prise de l'échantillon pour l'analyse	47

III-PARTIE : MATERIEL ET METHODES.

CHAPITRE I : Présentation de l'unité.

I- Présentation de l'unité de SICAM	47
II- Processus de fabrication de boissons fruitées	47

CHAPITRE II : Méthodes d'analyses microbiologiques.

I- Le dénombrement des germes aérobies totaux	54
II- Le dénombrement des Coliformes fécaux	54
III- Le dénombrement du <i>Staphylococcus aureus</i>	54
IV- Dénombrement des <i>Clostridium</i> Sulfito-Réducteurs	55
V- Dénombrement des Streptocoques fécaux	55
VI- Le dénombrement des levures et moisissures	56
VII- Le contrôle de stabilité	56
VIII- Méthodes d'analyses complémentaires	57
a- Analyse du personnel	57
b- Analyse de l'atmosphère	58
c- Analyse de la vanne de distribution	58
d- Analyse des boites vides	58
e- Analyse de l'eau de distribution	58

CHAPITRE III- Méthodes de calculs et expression des résultats.

I- Dénombrement en milieu solide	61
II- Dénombrement en milieu liquide	61

CHAPITRE IV : Méthodes d'analyses physico-chimiques.

I- Détermination du taux d'humidité	64
II- Détermination de la matière sèche	64
III- Détermination de la teneur en cendres	65
IV- Détermination du brix	66
V- Détermination du pH	66
VI- Détermination de l'acidité	66
VII- Détermination des sucres réducteurs	67
VIII- Détermination des la vitamine C	68

RESULTATS ET DISCUSSIONS.

I- Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur le produit	70
II- Résultats des analyses microbiologiques complémentaires.....	72
III- Résultats des analyses physico-chimiques.....	74
CONCLUSION	79

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

ANNEXES.

Introduction

Les fruits jouent un rôle fort important dans l'alimentation, et leur richesse en cellulose, en vitamines, et en sucres privilégie leur consommation. Aussi, leur transformation en boissons ou confitures rend leur consommation de plus en plus croissante; d'ou leur disponibilité abondante sur le marché. L'orange est un aliment de grande qualité de par sa richesse en nutriments indispensables à l'organisme, tel que la vitamine C.

L'homme doit absolument trouver cette vitamine dans son alimentation car il ne peut réaliser sa synthèse.

Le jus d'orange source de vitamine C est, en premier lieu une boisson dont la fonction est de désaltérer de plus son gout, à la fois acidulé et sucré, est agréable et très apprécié.

Cependant il ne faut pas confondre entre véritable jus d'orange et boissons aux oranges, jus de fruit frais et jus de fruits réfrigérés pasteurisés car ces derniers n'ont qu'un faible pourcentage en jus de fruits. En parallèle, les termes de marketing accrocheurs et les textes réglementaires parfois flous peuvent porter le consommateur à confusion.

L'industrie Agroalimentaire n'a pas eu beaucoup de mal pour orienter le consommateur vers le produit industrialisé, caractérisé par une qualité, et soumis à une réglementation assez stricte, d'une manière ou d'une autre le consommateur est attiré par le produit de marque, et est toujours conduit vers une nouvelle habitude alimentaire, à savoir la consommation de conserves.

La conservation des conserves, doit être géré d'une façon très pratique, car à l'inverse des choses, il peut se produire des phénomènes d'altérations d'ordre micro- biologiques ou physico-chimiques ; et dans ce cas là plusieurs questions se posent : Quels sont les agents qui peuvent altérer le jus ; Le jus d'orange, est-il exposé à d'éventuelles altérations

A travers cet humble travail, nous essaierons de répondre à ces questions.

Partie

Bibliographique.

Chapitre I : Généralités sur les agrumes.

I- Définitions :

I.1 Généralités sur l'orange :

I.1.a Structure du fruit :

L'orange est un agrume qui peut aussi être appelé hesperidium. L'hesperidium diffère de fruits comme la tomate ou le raisin car il possède une peau dure et solide qui protège la partie comestible du fruit [17]. La structure d'une orange est présentée dans la Figure 1.

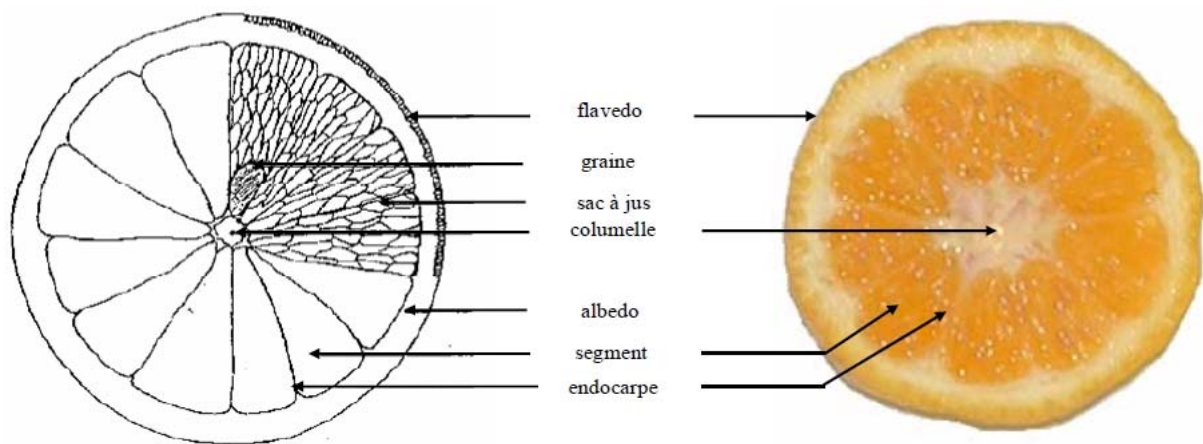


Figure 1. Coupe équatoriale d'une orange (17)

Les parties caractéristiques communes aux agrumes sont les suivantes :

- une couche extérieure colorée, le flavedo, rappelant le mot « flaveur » car elle contient les glandes à huiles essentielles,
- une couche intérieure blanche et spongieuse, l'albédo (ou mésocarpe), riche en pectines,
- une partie comestible, l'endocarpe ou épiderme interne. Dans le cas des oranges, les cellules très juteuses formant des sacs à jus ou encore vésicules à jus sont des poils produits par l'endocarpe.

Les segments (ou quartiers) qui comprennent de nombreuses vésicules sont séparés par des parois carpellaires ou membranes constituées de cellulose, pectine et hémicelluloses. Les segments sont attachés à la partie centrale du fruit appelée columelle.

I.1.b Les espèces et les principales variétés

L'orange fait partie du genre *Citrus* de la famille des *Rutaceae*. Le genre *Citrus* contient deux espèces d'orange. La première, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, correspond aux oranges douces, la deuxième, *Citrus aurantium* L., aux oranges amères. Ces dernières sont également appelées bigarades, elles sont peu comestibles et leur utilisation est principalement réservée à la production de marmelades ou d'huiles essentielles. [26].

Les oranges douces *Citrus sinensis* (L.) Osbeck sont les plus consommées. Elles sont utilisées « en fruits » et certaines variétés servent à l'élaboration des jus. [40]

Parmi cette espèce, trois catégories principales sont communément dénombrées :

- **les oranges navels**, caractérisées par une excroissance « ombilic » ou « navel » en anglais dans leur partie inférieure et une quasi absence de pépins. Ces oranges sont les plus consommées en fruits de bouche. D'après Saunt, elles sont moins juteuses que la plupart des autres variétés et elles développent une certaine amertume lors du pressage ce qui peut les rendre impropres à une production de jus.

- **les oranges blondes**, dont la principale variété est la Valencia, première variété commerciale de tous les types d'agrumes. Celle-ci peut être rencontrée dans toutes les zones principales de production d'oranges [26]. Les oranges blondes développent beaucoup moins d'amertume que les oranges navels lors de leur pressage. Elles sont donc principalement transformées en jus.

- **les oranges sanguines**, caractérisées par leur chair colorée due à des pigments rouges, des anthocyanes. Ceux-ci sont sensibles aux techniques d'extraction des jus et au stockage du jus, et leur dégradation peut donner une couleur brune indésirable au produit.

Une dernière catégorie, mineure, peut également être décrite, il s'agit des oranges faiblement acides, encore appelées **oranges douceâtres**. Ces oranges sont consommées en fruits de bouche. Les principales variétés des catégories navels, blondes, sanguines et douceâtres, lieux de production et utilisation principale sont présentées dans le Tableau 1.

Les variétés les plus importantes utilisées pour la fabrication de jus sont Hamlin, Pineapple, Valencia et Pera. Ces oranges appartiennent à la catégorie des oranges blondes. Fellers a classé les diverses variétés d'oranges en ordre décroissant selon des critères sensoriels. Les oranges Valencia sont classées premières (donc présentées comme produisant le meilleur jus), suivies des

oranges brésiliennes Pera puis des oranges Pineapple et Hamlin. Néanmoins, la qualité du jus d'orange dépendra également d'un grand nombre d'autres facteurs comme le climat, les conditions de culture, le processus de maturation des fruits et le procédé de fabrication du jus.

Tableau 1. Principales variétés d'oranges de l'espèce *Citrus Sinensis* (L.) Osbeck : lieux de production et utilisation courante [40].

Oranges <i>Citrus Sinensis</i> (L.) Osbeck			
Catégorie	Variété	Lieu de production	Utilisation principale
Navels	Bahianinha	Brésil	Fruits de bouche
	Navelate	Espagne, Maroc, Afrique du Sud	
	Naveline	Espagne, Portugal, Maroc	
	Washington ou Bahia	Brésil, Californie, Floride, Mexique, Région Méditerranéenne	
Blondes	Valencia	Espagne, Argentine, Australie Californie, Floride, Maroc, Afrique du Sud, Uruguay, Brésil, Israël	Jus
	Pera	Brésil	Jus
	Pineapple	Floride, Argentine, Brésil, Mexique, Inde	Jus
	Hamlin	Brésil, Floride, Maroc, Turquie, Chine	Jus et fruits de bouche
	Shamouti	Israël, Turquie, Afrique du Sud, Egypte, Chine, Inde	Jus et fruits de bouche
Sanguines	Valencia	Espagne, Argentine, Australie	Jus
	Maltaise	Tunisie, Maroc	Fruits de bouche
	Moro	Italie, Sicile	Jus
	Sanguinelli	Italie, Sicile	Fruits de bouche
Douceâtres	Succari	Egypte	Fruits de bouche
	Lima	Brésil	

I.2 Production d'oranges et oranges transformées :

I.2. a Production mondiale d'oranges :

En 2002, les agrumes occupaient la première place des productions fruitières dans le monde avec plus de 97 millions de tonnes produites [18]. A elles seules, les oranges représentent 66 % de la production totale en agrumes. Entre 1980 et 2002, la quantité d'oranges produites a été multipliée par plus de 1,5 (Tableau 2). Les pays qui ont connus la plus forte augmentation sont la Chine, l'Iran et le Mexique. Le premier producteur mondial demeure le Brésil qui représente près de 30 % de la production mondiale, suivi des Etats-Unis (17 %).

Tableau 2 : Production mondiale d'oranges (en milliers de tonnes) [18]

Moyenne des années	1980/81et1988/89	1990/91 et 1998/99	2001/02
MONDE	39109	54337	64026
Hémisphère Nord a	23783	33626	40185
Etats-Unis b	6754	9104	10686
Région méditerranéenne	8959	10485	11280
Grèce	661	918	1077
Italie	1929	1980	1829
Espagne	1885	2659	2924
Maroc	774	902	726
Egypte	1159	1549	1985
Turquie	689	832	1250
Autres	1861	1645	1490
Mexique	1602	3109	4020
Iran	668	1606	1880
Chine	410	1792	3672
Inde	1326	2201	2890
Pakistan	928	1288	1400
Autres	3136	4041	4358
Hémisphère Sud c	15326	20711	23842
Afrique du Sud	565	824	1263
Argentine	628	734	780
Brésil	10837	15712	18360
Autres	3296	3442	3439

a :La campagne s'étend d'octobre/novembre à mai/juin. b : Non comprise la production californienne d'oranges Valencia, qui est comptabilisée avec la production de la campagne d'été (hémisphère sud). c :La campagne s'étend d'avril/mai à novembre/décembre

I.2 b Part de la production destinée à la transformation :

Le Tableau 3 précise les quantités destinées à la transformation. En 2002, le volume mondial d'oranges transformées correspond à plus de 40 % de la production mondiale d'oranges. Cette part d'oranges transformées a peu évolué au cours des vingt dernières années. Des disparités géographiques notables existent entre des pays essentiellement transformateurs comme le Brésil et les Etats-Unis (73 et 87 % des oranges produites sont transformées) et une région comme la Méditerranée peu transformatrice (16 % des oranges produites) en 2001/02.

Tableau 3 : Production mondiale d'oranges destinées à la transformation (en milliers de tonnes) [18].

Moyenne des années	1980/81 et 1988/89	1990/91 et 1998/99	2001/02
MONDE	15729	22402	26027
Hémisphère Nord a	7558	10560	11774
Etats-Unis b	5757	7956	9316
Région méditerranéenne	1439	1892	1805
Grèce	109	219	320
Italie	526	630	691
Espagne	156	481	485
Maroc	128	84	17
Egypte	7	146	96
Turquie	84	60	76
Autres	429	272	120
Mexique	265	424	340
Chine	0	108	23
Autres	97	180	290
Hémisphère Sud c	8171	11842	14253
Afrique du Sud	143	196	313
Argentine	147	166	160
Brésil	7610	1169	13423
Autres	271	311	357

a :La campagne s'étend d'octobre/novembre à mai/juin. **b** :Non comprise la production californienne d'oranges Valencia, qui est comptabilisée avec la production de la campagne d'été (hémisphère sud). **c** :La campagne s'étend d'avril/mai à novembre/décembre

I.3 Procédé de fabrication du pur jus d'orange :

L'industrie du jus d'orange comporte un grand nombre d'opérations qui peuvent se regrouper en trois filières : la production agricole, l'industrie d'extraction et de conditionnement et la filière de stockage, transport et commercialisation du jus conditionné. La Figure 2 présente les différentes étapes de fabrication d'un pur jus d'orange et d'un concentré à partir de l'étape d'extraction du jus. Les paragraphes suivants donnent les caractéristiques générales de chacune de ces étapes.

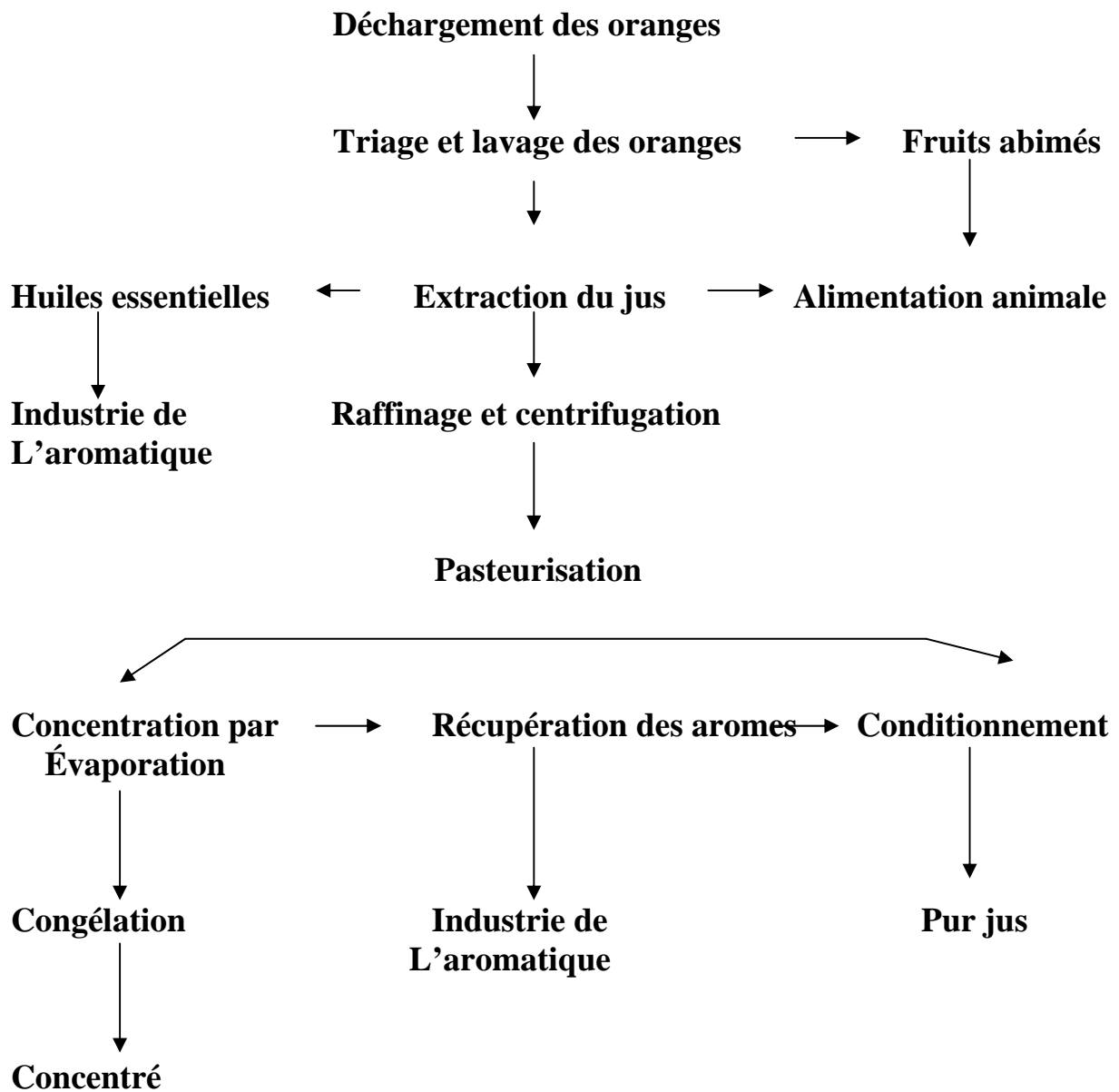


Figure 2. Procédé de fabrication du pur jus d'orange et du concentré d'orange

I.3.a Extraction du jus :

Les oranges arrivent dans les usines de transformation dans des camions bennes : elles sont soit utilisées immédiatement soit déchargées dans des silos et stockées. Au moment de leur utilisation, après un passage sous des rampes d'aspersion d'eau, les oranges sont triées, le plus souvent manuellement, et les fruits abîmés sont écartés. Deux technologies d'extraction de jus adaptées sont le plus souvent utilisées : l'extracteur Brown (Automatic Machinery and Electronics Co) et le procédé FMC (Food Machinery Corporation).

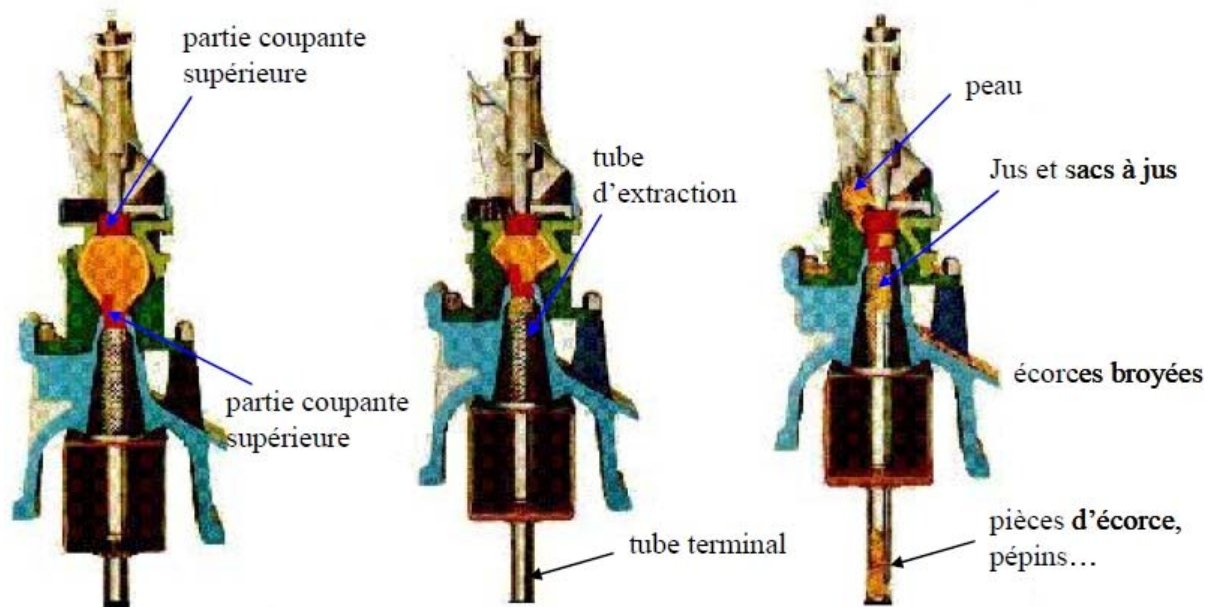
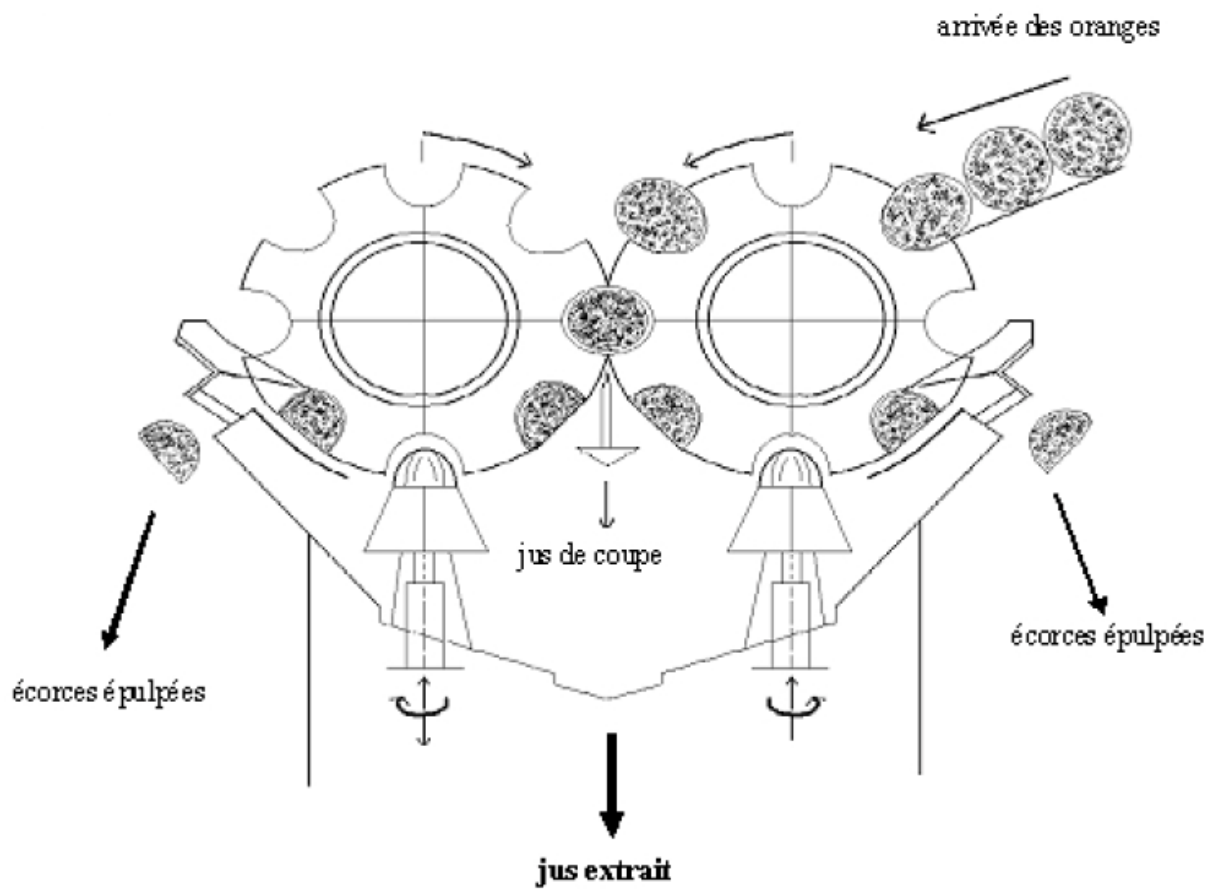


Figure 3 : Schéma des extracteurs Brown (A) et FMC (B)

Dans le procédé Brown, les oranges sont coupées en deux puis pressées à l'aide de deux demi-sphères perforées, l'une concave et l'autre convexe (Figure 3, A). L'extracteur Brown effectue un « fraisage » de chaque partie du fruit. La vitesse de déplacement des têtes d'extraction et la pression qu'elles exercent sont contrôlées de façon à s'adapter à l'épaisseur de l'écorce.

Dans le procédé FMC, dont les premières lignes d'extractions ont été implantées dans les années 1950, en début de cycle, une coupelle supérieure descend et pousse le fruit sur le couteau circulaire inférieur (Figure 3, B). Les coupelles maintiennent le fruit. Les constituants intérieurs du fruit sont aspirés dans le tube tamis par le mouvement descendant du piston. Pour optimiser le rendement, la taille de la tête doit être adaptée au calibre des fruits. Albédo et flavedo sont dilacérés et évacués au travers de griffes dans la coupelle inférieure. Un piston remonte et presse la pulpe, le jus s'écoule au travers du tamis et est recueilli par le collecteur. Les particules trop grosses (pépins, fragments d'albédo) sont éliminées par le centre, creux, du piston [6].

Le procédé FMC est le procédé le plus utilisé : son intérêt majeur est qu'il permet la récupération des huiles essentielles pendant le procédé d'extraction du jus et donc leurs valorisations. Néanmoins, le coût d'achat d'un extracteur FMC reste bien supérieur à celui d'un extracteur Brown.

La pression exercée par chacun des procédés dépend de la taille du fruit, et les extracteurs sont réglés pour exercer des pressions appropriées sur des oranges préalablement triées en fonction de leur calibre.

I.3. b Raffinage et centrifugation :

Le jus d'orange, après extraction, est très pulpeux et contient des morceaux de pépins et autres impuretés. Il passe alors par une étape de raffinage, appelée en anglais « finishing ». Ce terme désigne la séparation physique d'une partie de la pulpe et d'autres matériels fibreux du jus. Les « finishers » ou modules de finitions vont tamiser ce jus pulpeux et séparer les pulpes grossières et éléments non désirables. Fellers *et al.* (1975) ont montré que l'élimination de ces pulpes grossières, contrairement à l'étape d'extraction n'avait pas d'influence sur la flaveur des jus d'orange. Le jus peut alors ensuite être centrifugé pour affiner une teneur en pulpes fines entre 6 et 12 %, ce qui permet d'obtenir un jus dont la viscosité répond aux attentes des consommateurs[13].

Enfin, avant le traitement thermique, le jus est chauffé à 50°C dans des échangeurs de chaleur tubulaires puis soumis à un procédé de désaération dans des tanks sous vide. Cette opération présente l'intérêt pour l'industriel d'éviter la formation de mousse et d'éviter l'oxydation du produit. Le jus une fois dégazé ne doit pas être stocké plus d'une heure avant l'étape suivante de pasteurisation.

I.3. c Pasteurisation :

Une étape indispensable de stabilisation microbiologique a lieu sur le lieu de production, celle-ci doit se faire très rapidement après l'extraction. Excepté pour une petite quantité de jus consommé frais (pas de traitement thermique), la pasteurisation est le traitement thermique qui est le plus utilisé pour la conservation des jus de fruits. Cette pasteurisation vise à tuer les micro-organismes, et à inactiver les enzymes (comme la pectine méthylestérase (PME) ou la polyphénoloxydase) pouvant altérer le produit ou le rendre impropre à la consommation humaine [16]. Elle est effectuée selon un barème temps-température qui peut varier mais qui généralement dure de 30 à 60 secondes. Pour le pur jus, la température est rapidement portée à 90-96°C dans des échangeurs de chaleur tubulaires puis elle descend en une trentaine de secondes jusqu'à une température de quelques degrés, c'est la « flash pasteurisation ».

En particulier, la température atteinte doit permettre d'inactiver la PME, enzyme connue pour provoquer la déméthylation des pectines du trouble, qui précipitent et entraînent une chute du trouble dans les jus. Dans le jus, la PME étant associée à la pulpe, l'activité de la PME va dépendre du taux de pulpe, mais aussi d'autres facteurs comme la maturité [41].

Certaines formes de PME des agrumes sont cependant thermo résistantes et présentent encore une activité après pasteurisation. Cameron *et al.* (1994) ont mesuré qu'une forme de PME thermorésistante présentait encore 29 % d'activité dans ces cellules d'agrumes traités à 95°C pendant 30s. Lee *et al.* (2003) ont ainsi proposé un modèle pour prédire l'activité résiduelle de l'enzyme en fonction des différents traitements temps-température appliqués.

Le traitement par la chaleur permet de réduire la population microbienne. La notion de valeur pasteurisatrice peut être utilisée pour quantifier l'effet de destruction du barème thermique appliqué sur un micro-organisme de référence. Ainsi, pour une pasteurisation isotherme, le calcul de la valeur pasteurisatrice (VP) est donnée par la relation :

$$VP = t \times 10^{(\theta - \theta_{\text{réf}})/z}$$

Où t = durée de la pasteurisation

θ = température appliquée en °C

$\theta_{\text{réf}}$ = température de référence en °C. Pour la pasteurisation, $\theta_{\text{réf}} = 70^\circ\text{C}$.

z = élévation de température nécessaire pour réduire D au dixième de sa valeur

D = temps nécessaire pour réduire une population microbiologique au dixième de sa valeur à la température θ .

Pour la pasteurisation, généralement $z = 7$ ou $z = 10^\circ\text{C}$.

La VP présente l'avantage d'être indépendante de l'état du produit et de son niveau de contamination et elle caractérise exclusivement le barème

temps/température appliqué par rapport à une température de référence. Si l'on traite des matières premières d'état sanitaire et de qualité suffisamment stables, la connaissance de la valeur minimale de VP permettra de fixer la durée du traitement à appliquer pour une température fixée.

Dans l'industrie cependant, il n'existe pas de traitement thermique qui permette de maintenir un produit un temps t à une température θ , après et avant lequel cette température serait si basse qu'elle serait sans effet sur les micro-organismes. Ainsi, la température croît pendant la phase de chauffage puis décroît au cours du refroidissement. Dans ce cas, la VP est définie à partir de l'évolution constatée de la température $\theta(t)$ par la formule :

$$VP = \int [10(\theta(t) - \theta_{\text{réf}})/z] dt \text{ évaluée par } \sum_i [10(\theta_i - \theta_{\text{réf}})] \Delta t_i$$
 où les θ_i sont les températures relevées à des intervalles de temps Δt_i dans le produit [42].

Le calcul des valeurs pasteurisées permet de comparer des procédés et d'expliquer les phénomènes observés pour mieux compléter l'information donnée par les couples temps /température du traitement. De plus, le calcul de la VP d'un barème temps /température peut permettre de trouver un compromis entre une efficacité microbiologique et un maintien de la qualité du produit.

I.3. d Transport :

Le pur jus pasteurisé peut être conditionné sur le site de production juste après le traitement thermique. Il peut également être entreposé jusqu'à 12 mois dans des réservoirs aseptiques munis d'un système de réfrigération ou encore transporté après fabrication en camions citerne (réfrigérés ou non) vers les usines de conditionnement.

I.4 Procédé de fabrication du jus à base de concentré :

I.4. a Pasteurisation après extraction et raffinage :

La pasteurisation est le plus souvent une flash-pasteurisation (environ 95°C pendant une trentaine de secondes) puis la descente de température est plus longue que pour le pur jus, de l'ordre de 10 minutes et le jus n'est pas complètement refroidi, il reste chaud jusqu'à l'étape suivante de concentration.

I.4. b Concentration et congélation :

La concentration et la congélation du concentré ont lieu sur les sites de production (Brésil, Etats-Unis) après l'étape de pasteurisation. L'opération de concentration consiste à éliminer environ 80 % de l'eau contenue dans le jus, en altérant le moins possible les pulpes ainsi que les composés d'arôme. Le procédé le plus couramment utilisé est la concentration par les effets combinés de la chaleur et du vide (évaporation) dans des échangeurs thermiques qui séparent les vapeurs formées du produit liquide concentré. Cette technologie d'évaporateurs est connue sous le nom de TASTE (Thermally Accelerated Short Time Evaporator) D'autres procédés sont également décrits comme la cryoconcentration (concentration par le froid) et l'osmose inverse. L'osmose inverse est un procédé de séparation en phase liquide par perméation à travers des membranes semi-sélectives sous l'effet d'un gradient de pression. Ces procédés sont connus pour être plus respectueux de la qualité du jus mais ils restent 2 à 3 fois plus coûteux [21].

Les arômes étant très volatils, ils sont rapidement entraînés avec l'eau d'évaporation. Cet effet d'entraînement à la vapeur provoque un appauvrissement très net de la solution concentrée en composés d'arôme. Pour pallier ce problème, les concentrateurs sont équipés de récupérateurs d'arômes : les composés d'arôme du jus extraits avec la vapeur sont séparés par distillation et concentrés. Les extraits, une phase aromatique aqueuse et une phase aromatique huileuse, sont vendus aux industriels de l'aromatique qui les revendront aux conditionneurs après transformation. Ces derniers les réincorporeront lors de la fabrication du jus à base de concentré. La phase aqueuse contient les composés d'arôme les plus volatils, responsables des notes de tête dans le jus, des aldéhydes de faible poids moléculaire et des alcools. La phase huileuse contient les composés les plus hydrophobes, comme les terpènes, les alcools terpéniques, les aldéhydes et les esters.

Les concentrés de jus d'orange obtenus sont d'abord refroidis rapidement jusqu'à 0°C, puis congelés dans des échangeurs de chaleur; la masse pâteuse obtenue est refroidie à -40°C, puis entreposée à une température ne dépassant pas -18°C.

La plupart des concentrés congelés de jus d'orange ainsi obtenus ont des degrés Brix de 65 à 66,5°, le jus de départ ayant un Brix d'environ 11-12°. Le degré Brix exprime la quantité de sucres : 1 degré Brix est défini par une teneur de 1 g de saccharose dans 100 g d'eau (% massique). Le degré Brix est mesuré par réfractométrie. La déviation de l'angle lumineux est rapportée à la teneur en éléments solubles présents dans le milieu (sucres, acides organiques, alcools...).

Les sucres étant très majoritaires dans les oranges, l'indice réfractométrique est converti par approximation à la teneur en sucres dans le milieu.

I.4.c Transport du concentré congelé :

Le concentré congelé peut être transporté en vrac dans des camions citernes vers des entreprises de conditionnement. Il peut également être dédié à l'export, les camions citernes déchargent dans ce cas le concentré dans des réservoirs localisés dans des ports d'échanges commerciaux. Le concentré est ensuite chargé dans des bateaux et traverse les océans, comme par exemple du Brésil vers l'Europe. En Europe, un nouvel acheminement du concentré jusqu'à l'entreprise de conditionnement est effectué avec des camions citerne. Le concentré peut aussi être stocké dans des fûts métalliques contenant une poche plastique de polyéthylène.

I.5 Conditionnement :

I.5. a Pur jus d'orange :

Du fait des nombreuses étapes de transport, les usines de conditionnement effectuent une nouvelle étape de pasteurisation du jus avant le conditionnement. Deux types de pur jus peuvent donc être distingués, les jus ayant été conditionnés sur place et qui n'ont subi qu'une étape de pasteurisation et les jus conditionnés sur un autre site qui subissent deux traitements de pasteurisation.

Les deux procédés de conditionnement aujourd'hui utilisés chez le conditionneur après la flash-pasteurisation sont :

- le remplissage à chaud,
- le remplissage aseptique à froid.

Lors du remplissage à chaud, après la flash-pasteurisation le jus est refroidi jusqu'à 82-85°C.

Il est introduit immédiatement à cette température dans les récipients, ceux-ci sont aussitôt fermés, retournés ou agités de sorte que le liquide chaud vienne au contact de toute la surface intérieure du récipient et l'aseptise. Le remplissage aseptique à froid est une autre technique de remplissage qui consiste à refroidir le jus jusqu'à température ambiante (17-22°C) après la flash-pasteurisation et à remplir et fermer les récipients en conditions aseptiques. L'opération dure entre 20 et 30 minutes entre le remplissage et le refroidissement. Les bouteilles ont au préalable été décontaminées par lavage avec une solution de peroxyde d'hydrogène ou d'acide péracétique puis rinçage à l'eau. Cette étape de nettoyage et de remplissage aseptique est détaillée dans la partie bibliographique sur l'emballage.

I.5.b Jus à base de concentré :

Le concentré est transporté vers un autre site avec des camions non aseptiques. Chez le conditionneur, une nouvelle pasteurisation est donc indispensable pour éliminer tout risque microbiologique. Cette pasteurisation a lieu après ré-aromatisation avec une phase huileuse et une phase aqueuse. La phase huileuse est réincorporée dans le concentré qui est ensuite dilué avec de l'eau pour revenir à un degré Brix de 11-12. Une phase aqueuse est alors ajoutée, le jus est dégazé puis pasteurisé pendant environ 30 s vers 95°C dans le cas d'une flash pasteurisation. Les deux procédés de conditionnement aujourd'hui utilisés chez le conditionneur après la flash-pasteurisation sont, comme pour le pur jus, soit le remplissage à chaud soit le remplissage aseptique à froid.

Ainsi, les procédés d'élaboration des jus de fruits qui viennent d'être décrits montrent que les fruits subissent un premier traitement thermique pour passer du stade « fruits » au stade « jus de fruits ». Ensuite, ces jus doivent subir d'autres traitements pour permettre leur conservation et leur conditionnement et garantir leur qualité microbiologique jusqu'à l'instant de consommation. Ceci est particulièrement le cas pour le jus à base de concentré. Ces traitements multiples vont affecter la qualité du jus d'orange, qui va ensuite être conservé plusieurs mois. Les paragraphes suivants décrivent les principaux constituants non volatils et volatils d'intérêt nutritionnel et organoleptique, en prenant en compte l'effet du procédé et du stockage sur leurs évolutions dans le jus.

I.5. c Modifications de couleur du jus : brunissement non-enzymatique :

Les réductones formées par les voies de dégradation aérobie et anaérobie de la vitamine C peuvent participer au brunissement non-enzymatique généralement attribué à des réactions de Maillard. Les réactions de Maillard au sens propre sont des réactions de condensation du groupe carbonyle des sucres réducteurs avec des groupes amines des acides aminés et/ou des protéines. La réaction de Maillard comporte plusieurs étapes complexes qui aboutissent à :

- la synthèse de composés carbonylés très réactifs (furfuraldéhydes, réductones),
- la formation de polymères bruns, aussi appelés mélanoidines,
- la formation de composés volatils et odorants.

II. La composition biochimique du fruit :

II .1Composition de l'orange :

Avec plus de 85% d'eau, l'orange est un fruit juteux et désaltérant. C'est dans cette eau de constitution que se trouvent, sous forme dissoute, les principaux nutritifs.

a- Glucides :

La teneur en sucres peut varier selon la variété mais elle est de 8,5 à 1,2% dans le fruit à maturité. Représentés par le saccharose (40%), le fructose et le glucose, ce sont des sucres facilement assimilables qui fournissent rapidement de l'énergie à l'organisme. [a]

b- Acides organiques :

Ce sont surtout l'acide citrique et un peu d'acide malique qui apportent à l'orange sa saveur acidulée. Le secret d'une bonne orange résulte de l'équilibre entre son acidité et son goût sucré. En effet, au cours de sa maturation, la teneur en glucides s'élève, tandis que celle des acides organiques diminue, et c'est la proportion relative entre sucres et acides qui confèrent au fruit une saveur plus ou moins acidulée.

c- Vitamines :

Le profil vitaminique de l'orange est dominé par une teneur élevée en vitamine C (40 à 80mg pour 100g, 50mg en moyenne). L'acidité vitaminique C renforcée par la présence de substances telles que les vitamines P (flavonoïdes et anthocyanes). Ces substances potentialisent l'effet antiscorbutique de la vitamine C et, par ailleurs une action protectrice sur les capillaires sanguins, de plus, la vitamine C est protégée par l'acidité naturelle du milieu (acides organiques) et par la peau épaisse du fruit qui constitue une barrière efficace vis à vis de l'oxygène de l'air.

En fin, pour bénéficier d'une teneur optimale en vitamine C, il est indispensable de cueillir les oranges en pleine maturité.

Remarque : Des études récentes en provenance d'Israël et de la Californie indiquent que les conditions climatiques sont plus importantes que la qualité du sol, des arbres poussant en régions côtières donnent des fruits plus riches en vitamines C que ceux qui poussent à l'intérieur de la terre, bien que le sol soit identique aux deux endroits.

Les vitamines hydrosolubles sont également bien représentées, toutes les vitamines du groupe B, en particulier la vitamine B1 ou thiamine et la vitamine B9 ou acide folique, la provitamine A (certains caroténoïdes) peuvent atteindre 0,05 à 0,2mg pour 100g. Selon les variétés, les plus colorées étant les plus riches, on trouve en fin de petites quantités en vitamine E (0,24mg pour 100g).(a)

d-Les pigments :

Ils donnent à la pulpe sa couleur plus ou moins marquée, jaune à orangé pour les flavonoïdes et les caroténoïdes, jaune pour les xanthophylles, rouge ou rouge violacé pour les anthocyanes ou les viola xanthines (abondantes dans les oranges sanguines). Certains des pigments (flavonoïdes, anthocyanes, caroténoïdes) possèdent en outre des propriétés vitaminiques.

e- Minéraux :

Ils sont très diversifiés : Le Calcium occupe une place privilégiée par son abondance (40mg pour 100g au lieu de 5 à 15mg pour 100g pour la plus part des autres fruits) et par sa forme particulièrement assimilable quand il est apporté par l'orange : En effet le rapport Calcium/ phosphore est de 2,5, ce qui est une valeur optimale pour la bonne utilisation du Calcium.

C'est ainsi que l'utilisation biologique du Calcium pourrait être voisine de celle du lait.

En fin la présence d'acide organique comme l'acide citrique joue également un rôle favorable dans l'assimilation calcique.

Magnésium et Potassium font partie des minéraux dont l'orange est assez bien pourvue (respectivement 13mg, 180mg et 24mg pour 100g).

f-Les fibres :

Elles sont bien présentes dans le fruit avec une teneur de 2,4% en moyenne, elles ont l'originalité d'être riches en pectines (environ 50%), particulièrement bien tolérées et jouant un rôle régulateur sur le transit intestinal. On trouve également des hémicelluloses et des celluloses (qui constituent les parois des cellules de l'orange) et quelques traces de lignine.

g-Les oligo-éléments :

Ils sont nombreux, Fer (0,3mg), Cuivre, Zinc, Manganèse, Nickel, Iode, traces de Bore et de Sélénium.

h- Couleur et acidité :

Plus les oranges sont cultivées près de l'équateur, plus elle possède un épiderme clair (vert/jaune), alors que celles qui en sont éloignées sont beaucoup plus colorées. Ce phénomène est lié à l'intensité des écarts de températures entre le jour et la nuit.

Ceux ci sont bien marqués dans le bassin méditerranéen, surtout dans sa partie continentale.

En effet, les pigments orangés se développent (au dépend de la chlorophylle), quand les températures se rafraîchissent, en automne par exemple.

En revanche, les variétés tardives qui sont encore sur l'arbre au printemps peuvent reverdissent si les températures sont trop élevées. De même, les fruits cultivés dans les zones à saisonnalité marquée ont une acidité plus élevée que ceux qui proviennent des régions à hiver chaud ; ainsi, les oranges les plus colorées sont également souvent les plus acides : tel est le cas des oranges Sanguines.

i- Les substances aromatiques :

Elles participent à la formation du goût et du parfum de l'orange : se sont des composés complexes caractéristiques de ce fruit (Citrates, liméniens, aldéhydes, terpènes, esters...), des essences odorantes sont concentrées dans les cellules sécrétrices de la peau et sont employées en alimentation, parfumerie, et pharmacie.

j- Autres composantes énergétiques :

Ils ne tiennent qu'une place négligeable dans la composition de l'orange, les lipides sont concentrés dans les pépins et la pulpe n'en renferme que des traces. Enfin, comme tous les fruits à jus, l'orange contient peu de protéines, c'est pourquoi l'orange est un fruit peu énergétique avec en moyenne 45 kcal/100g il est de même pour son jus.

Nota : On rappelle que 1cal = 4,18j.

k- La flore mésophile :

L'orange contient naturellement une flore mésophile, composée de levures et de lactobacilles indispensable à sa bonne digestion (les lactobacilles font partie de la flore digestive intestinale). [8].

II.2- L'orange et la santé :

a- Atout forme et tonus avec une vitamine C naturelle :

L'orange justifie pleinement sa bonne réputation vitaminique : un fruit moyen de 150 à 180g couvre une grande partie des apports nutritionnelles conseillés (de 80 à 100mg pour l'adulte). Cet apport est particulièrement important pendant l'hiver, (pleine saison de l'orange), et c'est durant cette

période que l'organisme doit faire face aux agressions microbiennes et virales à la fatigue et au stress. La vitamine C stimule les réactions de défense de l'organisme, en activant la formation des anticorps et l'activité phagocytaire des globules blancs.

Elle intervient en outre dans les biosynthèses de l'adrénaline et des corticoïdes, les hormones du stress, elle joue un rôle important dans la synthèse cellulaire, notamment des tissus conjonctifs, des os et des cartilages, et dans l'absorption du fer, processus dont le bon déroulement favorise également les défenses de l'organisme.

C'est ainsi que, grâce à la vitamine C qu'elle contient, l'orange contribue à la sécurité vitaminique et bien être de son consommateur [8].

b-Stimulante et équilibrante:

L'orange est naturellement stimulante pour l'organisme et pas seulement par son acidité vitaminique. En effet, ses acides organiques existent les sécrétions digestives et facilitent une bonne assimilation des aliments d'où l'intérêt d'une orange prise avant repas et de sa bonne tolérance prise en dessert. Par ailleurs l'orange participe au rééquilibrage du milieu interne, acidifiant marqué sur l'organisme. L'orange malgré sa saveur acidulé possède une action inverse alcalinisant. En effet, ces acides organiques se combinent dans l'organisme avec les minéraux et libèrent des composés basiques capables de compenser les déchets acidifiants en excès : elle a donc une action rééquilibrante [8].

c- L'orange pour qui :

L'orange pour tout bien sur, mais en particulier pour les enfants et les adolescents en croissance par son apport en vitamines en en minéraux (calcium), pour les femmes enceintes et allaitantes, les sportifs les personnes âgées et les fumeurs (le tabac détruit la vitamines C) [8].

d- Et le jus d'orange ?

Le jus d'orange renferme la quasi-totalité des éléments nutritifs du fruit, y compris la fraction soluble des pectines, il fournit ainsi ses sucres, vitamines et minéraux, très fraîchement extrait du fruit, le jus est aussi riche en vitamine C que l'orange elle-même. Mais cette teneur vitaminique s'abaisse rapidement, en raison de l'action oxydante de l'air, c'est pourquoi le jus d'orange doit être consommé sans attendre si l'on veut bénéficier de tout son potentiel vitaminique.

L'orange est un véritable aliment à part entière, qui contribue utilement à l'équilibre nutritionnel de tout par sa richesse en nutriments essentiels et en principes actifs indispensables au bon fonctionnement du métabolisme de sorte, elle (ou le jus extrait avec toutes les garanties de non-dénaturation) doit avoir une place de choix dans les apports alimentaires. [8].

Chapitre II

La qualité hygeinique.

I. Indices de contamination fécale :

La recherche des indices de contamination fécale est l'application générale pour le contrôle de l'eau et des autres aliments qui sont le véhicule de transmission des toxi-infections alimentaires. Parmi les micro-organismes de la flore intestinale, les germes indices ont été choisis en fonction des critères cités ci-dessus.

Les micro-organismes les plus fréquents dans l'intestin sont des anaérobies notamment dans le cæcum, et des micro-aérophiles, mais ces bactéries ne sont pas utilisables comme indices en raison des problèmes posés par leur mise en évidence.

Puis par ordre de concentration décroissante, on trouve les anaérobies parmi lesquelles *E.coli* est la plus fréquente, les Streptocoques fécaux et les *Clostridium* sulfito-réducteurs, ce sont ces trois groupes qui ont été retenus comme indices.

Cette distribution qui concerne l'homme, n'a d'ailleurs pas de valeur générale : [10].

D'une manière générale, un bon indice de contamination présente les critères suivants :

- Sensibilité à la détection : l'indice est une population facilement détectable ou bien une population dominante.
- Spécificité relative au type de produit.
- Technique simple et standardisée de détection : le germe choisi comme indice doit être facilement détecté et identifié par une simple technique et standard.
- Le micro-organisme doit représenter une fraction plus importante dans la population de la source de contamination [22].

II. L'altération microbienne du concentré de jus d'orange :

II.1. Origine des contaminations :

Les fruits subissent des transformations assez limitées, « préparation de jus à titre d'exemple. Ces fruits se caractérisent par un pH acide et un taux de sucre élevé. Les problèmes rencontrés seront donc principalement liés à des levures, moisissures ou des bactéries lactiques. Avec le traitement de conservation, interviennent diverses étapes variables Selon les produits.

Un premier lavage enlève une partie de la contamination, mais il occasionne un brassage de germes présents. [10].

Le produit transformé peut subir des contaminations tout au long de la chaîne technologique, cette contamination peut être à l'origine de plusieurs sources :

- L'eau qui est utilisée lors de la préparation du produit peut contenir une charge microbienne favorisant l'altération du produit.

- Les composantes du produit peuvent être à l'origine d'une contamination.
- Le personnel, l'inexistence de l'hygiène chez le personnel peut causer plusieurs problèmes.
- Présence d'animaux domestiques.
- L'état défectueux des appareils et le manque de conditions hygiéniques, ainsi l'entretien qui n'est pas pris en considération peut engendrer une éventuelle contamination.
- Les courants d'air favorisent le véhicule des micro-organismes.
- L'emballage.

II.2-Facteurs en relation avec l'altération :

L'altération microbienne est d'autant favorisée dans les conditions ambiantes pour le développement des micro-organismes, ces conditions sont classées en deux groupes :

a- Conditions intrinsèques :

- Le pH : le pH optimum de tout développement microbien est de 7, l'intervalle de pH pour le développement des bactéries est très étroit, la limite inférieure est de 4, les levures poussent entre 2 à 8,5 tandis que les moisissures peuvent se développer à un pH voisin de 2 ou supérieur à 9.
- Le potentiel d'oxydoréduction : P.O.R. : le P.O.R. intervient sur la prolifération des micro-organismes, certaines espèces ne poussent qu'en milieu réducteur. Les bactéries aérobies strictes se développent à un P.O.R. supérieur ou égal à 100mv (millivolts), les bactéries anaérobies strictes exigent un P.O.R. inférieur à 100mv.

b- Conditions extrinsèques :

- L'humidité ambiante : Une atmosphère trop humide favorise une bonne prolifération d'une microflore à la surface ; et au cœur du produit.
- La température : Il est très important de ne pas laisser la chaîne technologique interrompue. [10].

III. Altération et dégradation de la qualité :

La qualité organoleptique d'un aliment et tout ce qui est perceptible par les organes des sens et qui les rend appétissants. Il s'agit d'un aspect subjectif, émotionnel. IL dépend de réactions spontanées, instinctives devant certaines impressions sensorielles. Il dépend beaucoup de l'expérience acquise en ce

domaine : De l'éducation, de la culture, des croyances, des essais heureux ou malheureux ayant entraîné du plaisir ou des troubles digestifs divers, les chocs histaminiques, des problèmes d'allergie.

Les habitudes alimentaires et les croyances écartent déjà du régime alimentaire des aliments parfaitement frais. Celles ci et autres raisons font écarter du régime des produits fermentés ou moisis.

IV. Les toxi-infections :

IV.1 Définition :

Les toxi-infections alimentaires collectives T.I.A.C réalisent des accidents aigus d'allure toxique, consécutifs à l'ingestion des aliments contaminés par les bactéries ou des produits de leurs métabolismes. Il importe de distinguer les T.I.A.C des autres infections provoquées et transmises par l'eau, les aliments crus et les mains sales.

Sur le plan de l'étiopathogène, classiquement, ces maladies se répartissent en :

- Infection : Brucellose, fièvre typhoïdes et paratyphoïdes, shigellose, ...etc. Qui sont secondaires à l'ingestion d'un nombre relativement réduit de germes spécifiques.
- Toxi-infection : Provoquées par l'absorption massive de bactéries et de substance toxique, produit de leurs métabolismes qui se sont multipliés.
- Intoxication, où le seul agent étiologique est une toxine élaborée par des micro-organismes ayant colonisés l'aliment.

Parmi ces genres responsables d'intoxication alimentaire, il apparaît que les fréquemment rencontrés appartiennent à l'espèce *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens*, viennent ensuite les Staphylocoques enterotoxiques, plus épisodiquement *Escherichia Coli*, *Bacillus cereus*. [9].

IV.2 Principaux micro-organismes de toxi-infection :

IV.2. a *Clostridium botulinum* :

Selon ses caractéristiques on distingue quatre types de *Clostridium botulinum* leurs caractéristiques principales sont les suivantes:

Tableau 4: Principales caractéristiques biochimiques de *Clostridium botulinum*. [10].

	I	II	III	IV
Type de toxine.	A, B,F	B,E,F	CD	G.
Protéolyse.	+	-	-	+
Gélatinolyse.	+	+	+	+
Fermentation du glucose.	+	+	+	-
Fermentation du fructose.	+/-	+	+/-	-
Fermentation du mannose.	+	+	+	-
Lipase.	+	+	+	-
Température de croissance.	35 à 40°C.	18 à 25°C.	40°C.	37°C.
Température minimale de croissance.	10°C.	3,3°C.	15°C.	/
Thermoresistance des spores.	112°C.	80°C.	104°C.	10°C.

Clostridium est un bacille, gram positif, sporulé, anaérobie strict, il se développe à des pH voisins de la neutralité, sa croissance est considérée comme non possible au pH inférieur à 4,5.

Cette espèce est thermorésistante, cette résistance varie d'un groupe à un autre, celle du type A et B est plus élevée, que celle des autres types, celle du type E étant plus faible. [27].

IV.2.b *Clostridium perfringens* :

C'est un grand bacille à gram positif, à bout carré, de 0,6 à 2,4µm de diamètre et de 1,3 à 1,9µm de longueur, se présente seul ou en paires, les spores sont rarement vues in vitro, elles sont ovales, centrales à sub-terminales.

Cette bactérie ne possède pas de ciliature et est donc strictement immobile, approximativement les trois souches possèdent une capsule composée essentiellement de polysaccharides.

Clostridium perfringens produit un grand nombre de toxines qui ont des activités très variées, quatre toxines létales majeurs permettant de séparer le *Clostridium perfringens* en cinq types qui ne peuvent être différenciés morphologiquement ou biochimiquement, ces cinq types sont notés A,B,C,D et E.

La température optimale de croissance des souches A, D et E est de 45°C. Les souches de type B et C se multiplient aussi bien à 37°C. qu'à 45°C.; une gamme de pH compris entre 5,5 à 8 permet la croissance de *Clostridium perfringens*, pour l'aw, un minimum de 0,930 à 0,945 est signalé selon les souches. [27].

Tableau 5 : Principales caractéristiques de *Clostridium perfringens*. [10].

Caractéristiques.	Résultats.
Mobilité.	-
Indole.	-
Production de lipase.	-
Production d'une gélatinase.	+
Réduction de nitrate.	+/-
Uréase.	+/-
Production d'acide à partir de :	
• Glucose, lactose, maltose, Saccharose.	+ variable.
• Amidon.	-
• Salicine.	+
Sulfito-réduction.	+
Hemolyse.	

IV.2.c *Staphylococcus aureus* :

Espèce toxine appartenant à la famille des micocceae , c'est un gram positif, non sporulée et immobile, en outre, elle peut produire de nombreuses enzymes, protéases, lipases, coagulases libres, comme elle élabore un pigment caroténoïde qui donne aux colonies une coloration Jaune ou orange, le caractère peut être perdu au cours du repiquage, les deux autres espèces toxigènes, coagules positives (*S.intermediud* et *S.hyicus*) n'élaborent pas de pigments.

Sur ce plan physiologique *S. aureus* peut se multiplier en aérobiose ou en anaérobiose, il est mésophile, sensible à l'acidité du milieu, tolère une concentration élevée NaCl et des aw réduites.

C'est un germe thermosensible, des populations de 10⁶ germes/ml peuvent être complètement inactivées en 4 à 24 mn à 64-60°C à pH neutre.

Tableau 6 :Quelques facteurs de croissance et toxigènes des *S.aureus* [10].

Facteurs.	Croissance.	Production de toxines.
Température (°C.).	6 à 46.	10 à 45.
Température optimale (°C.).	37.	40.
PH.	4,9 à 8.	5 à 8.
pH Optimum.	6 à 7.	6,5 à 7 (stable).
[Nacl] (%).	0 à 20.	0 à 10.
[Nacl] (%).	0.	0.
Aw.	0,83 à > 0,99.	0,83 à > 0,99.
Aw optimal.	> 0,99.	> 0,99.

V. Les toxi-infections :

V.1. Toxi-infection à *staphylococcus aureus* :

Le *staphylococcus aureus* peut produire de nombreuses enzymes, protéases lipases, coagulase liée, coagulase libre, nucléase thermostable ou thermonucléase, etc. Ces deux dernières enzymes sont également produites par *S. intermedius*, et *S. hyicus*, il ne faut pas confondre coagulase liée et coagulase libre qui constituent deux entités distinctes le terme « coagulase » employé sans qualificatif désigne la coagulase libre.

Le *S. aureus* est rencontré chez l'homme, les fosses nasales constituent le principal réservoir du germe, puis il est disséminé sur la peau, (visage, mains, ...) puis sur les vêtements, Il peut provoquer des infections diverses. Infection localisée (abcès et mammites), ou des infections générales, telle que la septicémie = empoisonnement du sang.

Symptômes :

Une toxi-infection alimentaire par le staphylocoque, est un syndrome gastro-intestinal survenant de 1 heure à huit après ingestion d'un aliment contenant des enterotoxines staphylococciques, les signes apparaissent brutalement : Nausées, Céphalées (maux de tête), douleurs abdominales, et surtout vomissements vidents et répétés, accompagnés de diarrhée, il n'y a généralement pas de fièvre.

Des complications peuvent survenir en fonction de la dose de toxines ingérées et de la sensibilité individuelle (Déshydratation crampes musculaires, hypotension, chocs ...) la mortalité est exceptionnelle.

Prévention :

Une TIA à *S. aureus* peut être évitée à condition de respecter les règles d'hygiène tout au long de la chaîne alimentaire et plus spécialement lors de la préparation des produits.

La contamination des aliments d'origine humaine peut être minimisée par l'éloignement des personnes porteuses des germes dans la préparation des denrées et par la bonne manipulation et la propreté.

La contamination d'origine alimentaire peut être réduite par le contrôle du produit à son arrivée et de faire une analyse bactériologique à une bonne fréquence.

V.2. Intoxication à *clostridium botulinum* « botulisme » :

Cette intoxication est liée à l'ingestion de la toxine botulinique, contenue dans un aliment contaminé. La toxine botulinique est un des poisons les plus

violents connus, son pouvoir toxique est environ 50000 fois plus élevé de la strychnine, sa DL_{50} est estimée de 10^{-8} à 10^{-3} g/kg poids vif.

Sur la base de la spécificité sérologique de leur toxine, six types (A, B, C, D, E et F) de *C.botulinum* sont identifiés, c'est pour cela que la mortalité est élevée malgré les thérapeutiques par les sérums antitoxiques.

Les toxines botuliques sont des macromolécules protéiques de masse moléculaire élevée. Ainsi la toxine de type A comprend 4 espèces moléculaires dont les masses molaires varient de 150.000 à 900.000, ces molécules sont captées par leurs systèmes lymphatiques digestif passent dans le sang puis se fixent sur les jonctions myo-neurales des fibres nerveuses du système nerveux périphérique, ils s'ensuivent des troubles nerveux tels que = Asthénie, Céphalées, Vertige, Nausées, Vomissement, Crampes abdominales, constipations sécheresse des muqueuses de la peau, troubles respiratoires avec paralysie.

Cette toxi-infection est rencontrée souvent par la consommation d'aliments crus ou insuffisamment traités par la chaleur, la dénaturation de ces toxines par la chaleur varie selon les auteurs, elle est de 8 à 90 mn à 80°C et pendant quelques secondes à 100°C [10].

V.3Toxi-infection à *clostridium perfringens* :

Cette bactérie anaérobie fréquemment rencontrée dans la nature (Saprophyte des sols et des eaux), elle est présente dans de très nombreux produits naturels, c'est grâce à sa spore que cette bactérie peut résister aux conditions défavorables. .

On distingue au moins six types de *C.Perfreingens* en fonction de la nature des toxines qu'ils synthétisent et secrètent, les toxines étant au moins au nombre d'une douzaine. La toxi-infection résulte ainsi par la consommation d'un aliment laissée refroidis quelques heures à des températures voisines ou supérieures à la température ambiante, et ce à partir des spores dont la germination à été induite par la cuisson, cette cuisson diminue le potentiel d'oxydoréduction et favorise par voie de conséquence le développement de ces anaérobies.

Les symptômes de cette maladie apparaissent entre 8 à 24 heures après la consommation de l'aliment, il s'agit essentiellement de douleurs abdominales aiguës et d'une diarrhée, nausées, vomissement et fièvres. [28]- [10].

Chapitre III

L'emballage.

I. L'emballage :

I.1 Le but de l'emballage et le conditionnement :

La commercialisation des denrées alimentaires exige la connaissance et l'observation de règles techniques permettant de préserver l'aspect et les qualités du produit destiné à la consommation. Pour cela, la fonction de l'emballage et le conditionnement, consiste à choisir les meilleurs matériaux et le format adéquat.

Le conditionnement constitue la première étape de l'emballage, et il consiste à placer le produit au contact de l'enveloppe qui le protège de l'extérieur et qui permet d'éviter sa dégradation physique, chimique, bactériologique durant sa conservation, son transport, et sa commercialisation.

I.2 Les fonctions de l'emballage :

L'emballage peut assurer plusieurs fonctions :

a- Une fonction de contenant :

L'emballage est d'abord un récipient associé à des servitudes réglementaires métrologiques (Obligation de l'indication exacte de la masse ou du volume).

b- Une fonction d'information :

L'emballage des denrées alimentaires est généralement le support d'une étiquette ou son inscrites des montions relatives aux denrées contenues et au contenant ou bien c'est l'emballage proprement dit qui porte par encrage, gravure ou estampages.

c- Une fonction de présentation :

C'est la fonction marketing qui vise à retenir l'attention et à séduire l'acheteur (Le bel emballage attire l'œil et fait vendre).

d- Une fonction de sécurité alimentaire :

L'emballage doit être avant tout une barrière entre le produit et le milieu extérieur et constitue donc une protection vis à vis de ce milieu.

e- Une fonction de service :

La notion de service s'étend à la commodité d'emploi, notamment la facilité d'ouverture sans outils particuliers.

I.3 Les risques liés aux contaminations par l'emballage :

Chimiquement, l'absence de l'inertie absolue des matériaux provoque ainsi une interaction entre le contenu et la contenance dont le résultat se traduit par une modification de la qualité organoleptique des denrées alimentaires ou par une contamination toxicologique.

Les risques liés aux contaminations de l'emballage métallique :

Les matériaux en métal peuvent réagir avec les acides présents dans les aliments avec la formation d'hydrogène gazeux provoquant le bombage des boites et formation des ions métalliques, cause des corrosions.

D'autres réactions entre la paroi métallique et le contenu sont possibles comme la réaction entre l'Etain et l'élément Soufre présent dans l'aliment ; ce qui donne naissance à des taches noires ou brunâtres [3].

II. L'emballage des jus d'orange :

Le jus de fruit tel quel contient souvent trop de principes aromatiques ce qui lui communique un égout un peu désagréable ; un certain nombre de jus sont le résultat d'un coupage de concentré avec du jus frais. Le concentré préparé sous vide à basse température est débarrassé des principes aromatiques et le coupage à dose adéquate avec du jus frais permettant d'obtenir un produit plus agréable que le jus brut.

Le jus d'orange subit une pasteurisation à 95°C., ce qui les stabilise ; ils sont ensuite emboîtés à chaud.

A- Les boites métalliques en fer blanc :

Qui s'avère le meilleur type d'emballage.

Elles conservent intégralement les qualités du jus pendant plus d'un an ; ce n'est qu'à partir de la deuxième année que le jus prend un goût métallique, surtout si la boîte a été conservé à température ambiante élevée. Ceci est du au fait que le jus d'orange est très sensible à l'oxydation ; une extraction l'oxygène se dissout dans le jus et se fixe sur ses composés les plus réducteurs, l'Etain qui recouvre la face interne des boites fixe cet oxygène ; de cette manière l'Etain bloque les phénomènes d'oxydation et le jus conserve toute sa fraîcheur tant que la couche d'Etain subsiste.

B- Les bouteilles en verre qui plaisent au consommateur à cause de leur aspect propre et parce qu'elle laisse voir la belle couleur du jus. Ce procédé a permis

d'augmenter fortement les ventes en Allemagne de l'Ouest, mais il a divers défauts :

- Le jus d'orange en bouteilles de verre perd au bout de deux ou trois mois sa belle couleur vive.
- La teneur en acides ascorbique diminue rapidement, ceci provient de : L'oxygène dissout dans le jus n'est pas inactivé comme dans la boîte métallique.

C-Des bouteilles de polyéthylène rigide ont fait l'objet de divers essais, mais la perte de coloration et la diminution de la teneur en acide ascorbique est encore plus rapide que dans les bouteilles en verre parce qu'elles sont légèrement poreuses et l'oxygène de l'air passe pour se dissoudre dans le jus et aggraver les réactions néfastes dues à l'oxydation, d'autre part les arômes traversent le polyéthylène en sens inverse et se perdent.

En général les fabriques de jus d'orange conditionnent les produits au fur et à mesure de leur production et ne les stockent pas en vrac parce que la production des fruits s'étale sur une longue période de l'année.

Chapitre IV :
Réglementation et normalisation.

I. Réglementation : [8].

Les jus d'orange sont réglementés par le décret du 23 novembre 1978, complété et précisé par la directive 93/77 du 21 septembre 1993.

Il définit les termes suivants :

a- Fruits :

Fruits frais ou conservés par le froid, sain, exempt de toute altération, privé d'aucun des composants essentiels des jus et parvenu au degré de maturité approprié.

b- Jus de fruit :

- Jus obtenu à partir de procédés mécaniques, fermentescible mais non fermenté, possédant la couleur, l'arôme et goût caractéristique des jus de fruits dont il provient, dans le cas des agrumes, le jus de fruit provient obligatoirement de l'endocarpe.
- Produits obtenus, à partir de jus de fruit concentrés, par :

Reconstitution de la proportion d'eau extraite au jus, lors de la concentration, l'eau ajoutée présente les caractéristiques appropriées, notamment du point de vue chimique, micro biologique, organoleptique, de façon à garantir la qualité essentielle du jus.

- Reconstitution de son arôme au moyen de substance aromatisantes récupérées lors de concentration du jus de fruits dont il s'agit ou de fruit provenant de la même espèce.

c- Jus de fruit concentré :

Produit obtenu à partir du jus de fruit par élimination physique d'une partie de l'eau de constitution. Lorsque le produit est destiné à la consommation directe, la concentration est d'au moins 50% ; toute autre boisson ne correspondant pas à ces critères est qualifiée de (boisson à base de fruit).

II. Normalisation : [8].

Norme NFV 76-005 de janvier 1995 (Remplace la norme NFV 76-005 de juillet 1986), cette norme (Intitulée : Jus d'orange ; spécifications), expose les spécifications d'un jus d'orange et indique les teneurs maximales autorisées pour certains nombre de paramètre physico-chimique : acidité, cendre, minéraux divers, sucres, acides aminés, acides organiques et vitamines.

Norme XP01-002 de décembre 1998 (Hygiène et sécurité des produits alimentaires. Glossaire Hygiène des aliments.

Ce glossaire définit les termes relatifs à l'hygiène, à la sécurité et aux qualités nutritionnelles des produits destinés à l'alimentation ; Il souligne notamment que l'aliment doit être exempt de contamination pouvant porter préjudice à la santé du consommateur et qu'il doit conserver ses qualités nutritionnelles.

Objectif du travail

Le travail de recherche que nous voulons réaliser consiste en une manière générale, à une étude micro -biologique et physico-chimique dans la filière des fruits, et plus précisément de l'un de ses dérivés qui est le concentré de jus d'orange.

Nous nous limiterons à effectuer des analyses micro -biologiques sur le produit après son extraction, après sa pasteurisation et sur le concentré ; des analyses complémentaires, deux tests de stabilité, et des analyses physico-chimiques ; pour cela cette étude aura comme objectifs :

- ***Le jugement, après analyses micro -biologiques et physico-chimiques, de la qualité du concentré de jus d'orange.***
- ***La détection des principales sources de contaminations (D'après les analyses complémentaires).***
- ***La proposition de solutions et des remèdes aux problèmes rencontrés au niveau de l'unité , dans le but d'une amélioration de la qualité hygiénique, qui se traduit par la protection du consommateur en premier lieu.***

I. Technique du prélèvement :

Dans les conditions aseptiques, un prélèvement à l'aide d'une pipette stérile est effectué ou bien à partir d'un robinet qui est bien désinfecté par l'alcool ou de l'eau de javel.

Nous essaierons d'obtenir un échantillon en laissant une certaine quantité du liquide s'écouler, l'échantillon sera composé de cinq unités similaires.

L'échantillon est contenu dans un flacon stérile, on doit noter la valeur de la température et l'heure du prélèvement respectivement.

Prélèvement -Transport et préparation de l'échantillon :

Deux facteurs importants peuvent influencer la valeur des résultats de l'analyse bactériologique, en premier lieu, le prélèvement doit être effectué sur des bases d'un mode d'échantillonnage valable du point de vue statistique.

Ensuite, en deuxième lieu, la prise d'essais pour la réalisation de l'analyse, on ne doit en aucun cas subir de modifications bactériologiques tout en se référant à l'aliment dont elle doit refléter la qualité, en d'autres termes, il ne faut pas qu'il ait de contaminations qui permettent de fausser les valeurs de nos résultats.

II .Le prélèvement :

Lors du prélèvement, il faudrait prendre comme échantillon des éléments conditionnés dans leur emballage d'origine pour pouvoir les transporter jusqu'au laboratoire où s'effectuera l'analyse bactériologique. De même pour le produit non emballé, le prélèvement doit se faire dans des conditions d'asepsie.

Ceci n'est pas toujours possible, dans le cas des matières en vrac ou sous forme de pièces trop volumineuses, car deux soucis seront pris en compte :

- Le prélèvement statistique qui doit être représentatif.
- La non modification de la flore du produit car elle peut être faite en introduisant une microflore étrangère.

Dans le cas des prélèvements des liquides alimentaires, il faudrait prendre une quantité assez suffisante de flacons stériles et bien évidemment nettoyer le robinet de la prise d'échantillon et désinfecter à l'aide d'une flamme.

En premier lieu, laisser couler le liquide pendant un certain temps, puis faire la prise de l'échantillon aseptiquement en introduisant une seringue stérile dans le produit dont le flux ne s'arrête pas.

Après avoir rempli le flacon, flamber la bague, fermer le flacon, et recouvrir la bague et l'épaule du flacon avec du papier aluminium stérile. L'opération se répètera deux à trois fois dans le même endroit dans le but d'avoir un échantillon représentatif.

Pendant le déroulement du prélèvement, il est nécessaire et très important de noter la valeur de la température du produit, la température de l'atmosphère ambiante, la date et l'heure du prélèvement.

III. Transport et conservation de l'échantillon :

L'étape qui suivra le prélèvement sera de la plus grande importance. Le transport et la conservation doivent permettre une stabilité quantitative et qualitative maximale de la microflore juste au moment du prélèvement.

Le transport de l'échantillon pourra se faire dans une enceinte à basse température, et qu'il soit congelé rapidement.

La conservation aux basses températures positives 0à5°C., stabilise la microflore, elle ralentit la multiplication des bactéries psychrotrophes, alors que la conservation aux basses températures négatives « état congelé » pourra modifier la microflore qualitativement et quantitativement, mais cet effet est moins marqué quand la congélation est rapide.

D'autre part, il est impératif que le reste du produit soit congelé jusqu'au moment de l'analyse.

IV. Prise de l'échantillon pour l'analyse :

Le prélèvement doit être réalisé aseptiquement à proximité d'une flamme ; dans le cas des produits liquides, on s'aidera d'une pipette stérile.

D'autre part pour chaque aliment, il existe évidemment des dispositifs qui permettent de bien réaliser le prélèvement dans les meilleures conditions.

La prise d'essai pour l'analyse sera prélevé à l'aide d'une pipette graduée stérile, on prélèvera la quantité Xml voulue aseptiquement, et on pourra l'introduire dans un tube stérile, contenant le diluant.

Le diluant utilisé pour préparer la suspension mère est généralement le même que celui qu'on utilisera pour effectuer les dilutions décimales.

Le diluant ne doit avoir aucune influence quantitative ou qualitative sur la microflore présente dans le produit, et ne favorise pas leur multiplication.

Pour la recherche du germe *salmonella*, la préparation de la suspension mère peut être faite en eau peptone tamponnée, cette préparation sera mise directement en incubation pour l'étape du pré enrichissement.

a- Les dilutions :

Nous réalisons généralement à partir du liquide alimentaire ou à partir de la suspension des dilutions successives en progression géométrique à raison de 10^{-1} . Le diluant utilisé est en général celui qui a servi à préparer la suspension mère. La dilution s'effectue de la façon suivante :

On répartit stérilement 9ml du diluant dans une série de tubes, et à partir de la suspension mère 1/10 on transfère 1ml dans le tube n° 01 à l'aide d'une pipette pasteur jetable et permettant le travail aseptique, et à partir du tube n°01, on transfère 1ml dans le tube n°02 à l'aide d'une nouvelle pipette pasteur et ainsi de suite.

b- L'inoculation :

En ce qui concerne l'inoculation, on prendra pour chaque dilution deux plaques de gélose par 1ml de dilution, ceci se fera en fonction du germe recherché.

La lecture des résultats se fera dans une certaine durée bien précise.

Partie

Matériel et méthodes

Chapitre I

Présentation de l'unité Sicam

I. Présentation de l'unité :

Créée en 1971, l'entreprise où nous avons effectué notre étude est spécialisée dans la production de :

- Conserves
- Boissons

S'appuyant sur le professionnalisme et la compétence et le savoir faire de son personnel qui avoisine un effectif de 50 agents, l'entreprise met sur le marché des produits de haute qualité à des prix compétitifs au bénéfice de ses clients.

II. Processus de fabrication de boissons fruitées :

Les démarches mises en œuvre pour la fabrication de boissons fruitées se font de la manière suivante:

Réception de la
Matière

Contrôle de la
Matière

PNC

Fournisseur

PC

Lavage-triage

Trituration

Raffinage

Pulpe de fruits

Préparation

Concentration

Concentré

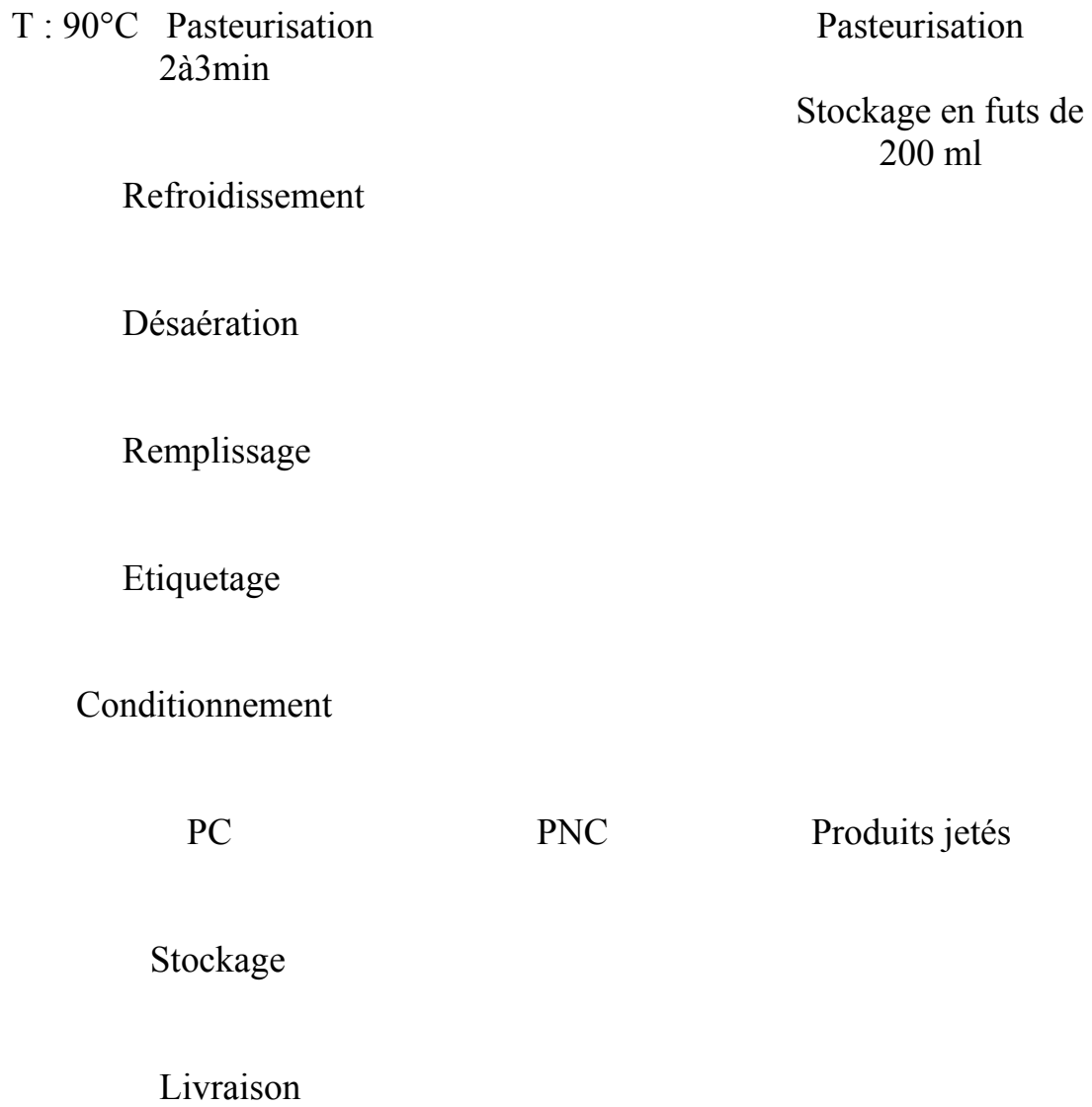


Figure 4. Diagramme de fabrication de boissons fruitées.

Chapitre II

Méthodes d'analyses microbiologiques

I. Les germes aérobies totaux ou flore totale à 30°C :

La flore totale devrait être l'ensemble des germes vivants contenus dans un aliment donné. Elle devrait correspondre à l'ensemble des aérobies (mésophiles, psychrophiles, thermophiles) et des anaérobies.

Leur recherche et dénombrement se fait à partir des dilutions décimales allant de 10⁻¹ à 10⁻⁹, porter aseptiquement 1ml dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée.

Compléter ensuite avec environ 20ml de gélose PCA, TDYM, TGEA ou GN fondue, puis refroidie à 45±1°C.

Faire ensuite un mouvement circulaire et de va et vient en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.

Laisser solidifier sur paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5ml de la même gélose ; cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 30°C pendant 72 heures.

La lecture se fait pour toutes les colonies ayant poussé et dont le nombre est compris entre 30 à 300 colonies. Le résultat sera exprimé en germe /g ou en germe /ml.

II. Les coliformes fécaux :

A partir de la solution mère et des dilutions décimales choisies, 1ml de l'inoculum est mis dans deux boîtes de pétri stériles, le milieu sélectif VRBL est coulé par la technique de double couche. 13ml environ sont coulés en premier lieu, on mélange l'inoculum et le milieu, après solidification du mélange, environ 3ml de gélose VRBL sont coulés de nouveau et laissés refroidis pour se solidifier.

L'incubation : les boîtes retournées sont mises à incubation 44°C (±1°C) pendant 24heures (±2heures), un dénombrement des colonies caractéristiques (rouge foncé d'un diamètre supérieur à 0,5 mm) est réalisé sur les boîtes pour lesquelles le nombre de colonies est compris entre 15 et 150 [5] ; [34] ; [23].

III. Dénombrement des *Staphylococcus aureus* :

Réalisé directement par comptage des colonies caractéristique sur milieu sélectif sans recours à une étape de pré-enrichissement.

« Le milieu de Baird Parker est le mieux adapté pour cette espèce car il permet la récupération du maximum des cellules stressées » [31].

Nous avons utilisé ce milieu pour les analyses complémentaires concernant le personnel.

L'incubation des boîtes se fait à 37°C. +ou- 1°C pendant 24 heures puis 48 heures.

Le dénombrement se fait pour les colonies caractéristiques ; c'est à dire noires, brillantes, bombées d'un diamètre compris entre 0,5 et 2mm ; entourées d'une auréole d'éclaircissement du milieu de culture bien visible. [34] ; [23].

IV. Dénombrement des *Clostridium sulfito-reducteurs* :

Dans quatre tubes à essai vides et stériles, 1ml de la suspension mère sera réparti dans chacun d'eux, ces tubes inoculés subissent un choc thermique (Chauffage à 80°C. pendant 5 à 10mn au bain-marie puis refroidissement sous l'eau de robinet), de la gélose viande de foie préalablement fondue et additionnée d'une ampoule d'alun de fer et d'une autre de sulfite de sodium, sera coulée dans les tubes. Après agitation par des mouvements par des rotations du poignet, solidification du milieu, les tubes seront incubés à +46°C.(+ou- 1°C.), des lectures périodiques (après 24 heure, 48 heure, et 72 heure) consiste à dénombrer les colonies de couleur noire (coloration due à la réduction des sulfites en sulfures, ces derniers se complexent avec le fer en donnant un composé stable de couleur noire).

Le résultat sera calculé en tenant compte de la dilution et le volume de l'inoculum, il sera exprimé en spores et par gramme du produit. [1]- [5].

V. Dénombrement des Streptocoques fécaux :

La recherche des streptocoques fécaux ou streptocoque du groupe D de la classification de Lancefield, se fait en milieu liquide par la technique du nombre le plus probable NPP.

Cette technique fait appel à des tests consécutifs à savoir :

Le test de présomption : qui se fait sur milieu Rothe simple concentration.

Le test de confirmation : sur milieu EVA.

a-Test de présomption :

Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe à raison de trois tubes par dilution ; porter aseptiquement 1ml dans chacun des tubes correspondant à une dilution donnée ; puis mélanger l'inoculum dans le milieu. L'incubation se fait à 37°C.pendant 24 heure à 48 heures. La lecture consiste à considérer comme positifs les tubes présentant un trouble microbien.

NB : Aucun dénombrement ne se fait à ce stade, les tubes positifs feront l'objet d'un repiquage.

b-Test de confirmation :

Chaque tube de Rothe positif fera donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée sur tube contenant le milieu EVA.

Bien mélanger l'inoculum dans le milieu ; l'incubation se fera à 37°C pendant 24 heures.

La lecture consiste à considérer comme positifs les tubes d'EVA présentant à la fois :

- Un trouble microbien.
- Et une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

Le nombre de Streptocoques fécaux est exprimé par le NPP selon la table de Mac Grady.

VI. Dénombrement des levures et moisissures :

Le dénombrement de ces micro-organismes, qui sont capable d'altérer la qualité marchande du concentré de jus d'orange, se fait par le comptage des colonies sur le milieu gélosé. Nous transférons à l'aide d'une pipette stérile 0,1ml de la suspension mère et dilution décimales retenues à la surface du milieu OGA ou gélose Sabouraud. L'inoculum sera étalé sur toute la surface du milieu.

Les boîtes seront incubées en position inversée dans une étuve à 22°C. Pendant 5jours.

Nous devons surveillé quotidiennement les boîtes pour éviter l'envahissement du milieu par les moisissures.

Pour le dénombrement, nous faisons un comptage sur les boîtes contenant entre 15 à 150 colonies.

VII. Le contrôle de stabilité :

Le contrôle consiste à soumettre un échantillon de la conserve à un étuvage, puis vérifier que cette incubation n'a pas apporté de transformations notables par rapport à un témoin non étuvé.

Pour cela nous rechercherons :

Les variations d'aspect de l'emballage.

La variation du pH .

La modification de la flore microbienne.

Nous choisissons pour l'étuvage des conserves dont l'emballage est normal, c'est à dire, ne présentant ni bombement, ni fuite, ni flocage.

Les emballages sont soigneusement nettoyés.

Pour les conserves acides, nous nous contentons d'un simple étuvage à 30°C. ou 32°C. pendant 21 jours. En effet, les micro-organismes susceptibles de se développer dans ces conserves ne sont pas thermophiles.

Lorsque le délai de l'incubation est écoulé, les conserves sont stabilisées à température ambiante. Nous examinons ensuite :

L'aspect de l'emballage : nous noterons la présence éventuelle de bombage, de fuites, ou de flocage.

Le pH sur le produit directement, s'il est homogène.

Une analyse microbiologique.

Pour interpréter :

La conserve analysée est considérée comme stable si elle satisfait à tous les critères suivants :

Absence de modification d'aspect de l'emballage et du produit après étuvage.

Variation de pH par rapport au témoin non étuvé, inférieur ou égal à 0,5 unité de pH.

Absence de variation de la flore microbienne, ni du point de vue qualitatif, ni du point de vue quantitatif.

VIII. Méthodes d'analyses complémentaires :

Les analyses s'effectuent à différents niveaux de l'unité. A partir de ces analyses, notre but est de détecter les principales sources de contaminations.

a- Analyse du personnel :

Un prélèvement cutané est réalisé, par application des empreintes digitales du personnel contre la surface du milieu de culture en boîte de pétri.

Un prélèvement vestimentaire à l'aide d'un ruban adhésif appliqué sur le vêtement du personnel puis transappliqué sur le milieu de culture.

Après chaque prélèvement, la boîte sera fermée rapidement et incubée à la température et pendant la durée correspondante pour chaque germe recherché. [10]; [23].

b- Analyse de l'atmosphère :

L'analyse de l'atmosphère réalisé par des boîtes de pétri, contenant des milieux gélosés, déposées ouvertes à une hauteur de 1,5 à 2,5m pour piéger les germes contenus dans l'atmosphère de l'unité.

Cette analyse peut être réalisée également par des mouvements de bas en haut, des boîtes ouvertes à une certaine vitesse. [10] ; [34].

Les milieux de cultures utilisés pour ces analyses sont la gélose nutritive pour les germes aérobies mésophiles, la gélose VRBL pour les coliformes fécaux, le milieu de Baird Parker pour le *Staphylococcus aureus*, et gélose OGA pour les levures et moisissures.

c- Analyse de la vanne de distribution :

La vanne fréquemment ouverte est ciblée, et les mêmes milieux de cultures utilisés pour l'analyse de l'air ambiant seront utilisés.

d- Analyse des boîtes vides :

Le prélèvement s'effectue par une application de ruban adhésif sur la surface interne de la boîte vide, puis transappliqué sur le milieu de culture, les boîtes seront incubées à la température et à la durée correspondante. [10].

e- Analyse de l'eau de distribution :

Des prélèvements d'eau ont été effectués au niveau de l'unité et la recherche de germes responsables de toxi-infection est très importante (voir Annexe I).

Du point de vue industriel il est difficile de donner des normes de composition valable globalement en raison des conditions particulières de stabilisation de la flore intervenant dans les divers produits.

Normes microbiologiques :

Il n'existe pas de normes micro -biologiques très strictes pour les boissons à cause du faible danger d'ordre sanitaire qu'elles présentent.

Du point de vue industriel il est difficile de donner des normes de composition valable globalement en raison des conditions particulières de stabilisation de la flore intervenant dans les divers produits.

Nous donnerons quelques indications d'ordre général.

Pour toutes les industries de boissons non alcoolisées on peut considérer, au niveau de la fabrication, les valeurs suivantes :

- Eau : Flore totale : <100/ml.
Flore fongique : <1/ml.
Coliformes : <1/10ml.
- Concentré de fruit de base : Flore totale : <1000/ml.
Flore fongique : <10/ml.

Pour les produits finis les valeurs varient en fonction de leur nature de traitement subi. Dans de nombreux cas la nature de la flore est beaucoup plus importante que son niveau.

Pour les jus de fruits on peut appliquer les normes suivantes :

Levures osmophiles	<20/1ml.
Moisissures	<10/100ml.
Coliformes dans 10ml.	Absence.
Clostridium butyrique dans 100ml	Absence.

Au niveau réglementaire il existe un grand nombre de textes concernant les boissons, mais il ne se rapporte pas à des problèmes purement microbiologiques. [24].

Chapitre III

Méthodes de calcul et expression des résultats

I- Dénombrement en milieu solide :

On suppose que le volume de l'inoculum est de 1ml, et que le nombre de colonies après incubation égal à :

Suspension mère : Essai 1 : 150colonies.	Essai 2 : 135colonies.
Moyenne=142,5.	
Dilution 10 ⁻² : Essai 1 : 72 colonies.	Essai 2 : 88 colonies.
Moyenne=80.	
Dilution 10 ⁻⁴ : Essai 1 : 35 colonies.	Essai 2 : 30 colonies.
Moyenne=32,5.	
Dilution 10 ⁻⁶ : Essai 1 : 09 colonies.	Essai 2 : 03 colonies.
Moyenne=06.	

a- Le calcul :

Les boîtes de la dilution 10-6 seront éliminées, car le nombre de colonies est inférieur à 30.

Les autres boîtes seront prises en compte car le nombre en colonies est compris entre 30 et 300 colonies (Cas des germes mésophiles).

Suspension mère : $X1 = 142,5 \times 10 = 1425$.
 $X2 = 80 \times 100 = 8000$.
 $X3 = 32 \times 10000 = 320000$.

Selon ces calculs la moyenne des charges sera donc :
 $X = (1425 + 8000 + 320000) / 4 = 8,23 \times 10^4$ germes /gramme.

Cette moyenne arithmétique sera comparée avec les normes du journal officiel (Voir Annexe I). [23].

II-Dénombrement en milieu liquide :

Deux tubes pour chaque dilution par exemple :

Dilution 10 ⁻¹	Tube 1 (+).	Tube 2 (+).	Chiffre : 2.
Dilution 10 ⁻²	Tube 1 (+).	Tube 2 (+).	Chiffre : 2.
Dilution 10 ⁻³	Tube 1 (-).	Tube 2 (-).	Chiffre : 0.

Dans la table de Mac Grady, le nombre 220 correspond à un nombre caractéristique 25, c'est à dire que le produit contient 25 germes dans la dilution 1/10², il contient donc 250 germes par gramme du concentré. [22].

Milieux de culture, réactifs et additifs :

Au niveau de l'annexe, la composition et le mode de préparation des milieux sont précisés.

Milieux de culture liquides :

- a- L'eau physiologique : Elle a été préparé au niveau du laboratoire, et conditionnée en tubes et en flacons ; Utilisée pour la préparation des suspensions-dilutions.
- b- Milieu de Rothe s/c : Il a été utilisé pour le test de présomption des Streptocoques.
- c- Milieu Lytski : Il a été utilisé pour le test de confirmation des Streptocoques.

Milieux de cultures solides :

Les milieux de cultures hydratés, prêt à l'emploi, conditionnés en flacons de 250ml ont été utilisés.

- a- Gélose nutritive : Utilisée pour le dénombrement des germes aérobies totaux ; Il peut être remplacé par la gélose PCA, ou TDYM, ou TGEA.
- b- Gélose VRBL : Utilisée pour l'isolement et le dénombrement des coliformes fécaux ; Elle peut être remplacé par la gélose desoxycholate.
- c- Milieu de Baird Parker : Utilisé pour le dénombrement du *Staphylococcus aureus*, en raison de sa meilleure sélection par rapport au milieu de Chapman.
- d- Gélose Viande de foie : Utilisée pour le dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs*.
- e- Gélose OGA : Utilisée pour l'isolement de levures et moisissures.

Additifs :

- a- Additif sulfite de sodium : Additionné à la gélose Viande de foie pour le rendre plus sélectif au *Clostridium sulfito-réducteurs* qui réduisent les sulfites en sulfures ; Une dose de 5ml par flacon de 250ml de gélose.
- b- Additif Alun de fer : Utilisé pour la formation d'un complexe noir entre le fer et les sulfites réduites par les *Clostridium* ; Une dose de 1ml par flacon de 250ml.

Chapitre IV

Méthodes d'analyses physico-chimiques.

I. Détermination du taux d'humidité :

I. a Le principe :

Le principe de la méthode est basé sur la dessiccation du produit, à une température de $103 \pm 2^\circ\text{C}$., dans une étuve, à pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. [2].

I. b Mode opératoire :

Le mode opératoire consiste à sécher une capsule vide à l'étuve pendant 15min à $103 \pm 2^\circ\text{C}$. Après refroidissement au dessiccateur celle ci est tarée. 5g de l'échantillon à analyser sont posés dans cette même capsule qui est ensuite placée dans l'étuve préalablement réglée à $103 \pm 2^\circ\text{C}$. Cette température est maintenue pendant trois heures.

La capsule est ensuite retirée de l'étuve et placée dans le dessiccateur, après refroidissement, elle est pesée puis remise à l'étuve pendant une heure. L'opération est répétée jusqu'à ce que la différence entre deux pesées successives soit presque nulle.

I.c Expression des résultats :

La teneur en eau du concentré de jus d'orange est donnée par la relation :

$$H\% = \frac{P1-P2.100}{P1-P0}$$

Où :
P0 : Le poids de la capsule vide.
P1 : Le poids de la capsule vide plus 5g du concentré de jus d'orange.
P2 : Le poids de la capsule après étuvage.

II. Détermination de la matière sèche : [2].

II.a Principe :

La matière sèche est le produit résultant de la dessiccation par évaporation pendant 5 heures à $103 \pm 2^\circ\text{C}$., d'une certaine quantité initialement de jus d'orange, le résidu obtenu à la fin de l'opération est pesé.

II. b Mode opératoire :

Introduire à la pipette 5ml du concentré de jus d'orange dans une capsule sèche et peser le tout.

Placer la capsule, pendant une minute sur le bain-marie bouillant, puis l'introduire dans l'étuve réglée à 103±2°C. Pendant trois heures.

Mettre ensuite la capsule dans le dessiccateur.

Peser ; effectuer au moins trois déterminations sur le même échantillon.

II.c- Expression des résultats :

La teneur de la matière sèche, exprime le pourcentage % massique est donnée par la formule suivante :

$$MS\% = \frac{M1-M0}{M2-M0} \cdot 100$$

Où :

M0 : la masse (en gramme) de la capsule vide.

M1 : la masse (en gramme) de la capsule et du résidu après refroidissement.

M2 : la masse (en gramme) de la capsule et de la prise d'essai.

III. Détermination de la teneur en cendre : [2].

III. a Principe :

Le cendre de jus d'orange est le produit résultant de l'incinération de la matière sèche de jus d'orange à 530 ± 20°C.

III.b- Mode opératoire :

Introduire à la pipette 20ml de jus dans une capsule appropriée pour l'incinération, peser le tout, placer la capsule dans le four froid à condition qu'avant sa mise en équilibre de température (550°C.). Après l'équilibre de la température, incinérer pendant 2 à 3 heures. Mettre ensuite la capsule dans le dessiccateur, peser, effectuer au moins 3 déterminations sur le même échantillon préparé.

III. c L'expression des résultats :

La teneur en cendre exprime (en gramme) par litre de jus d'orange et en pourcentage massique suivant la formule suivante :

$$\text{Cendre (g/l)} = (M1-M0) \cdot \frac{1000}{P0}$$

Où M_0 : masse (en gramme) de la capsule vide.
cendres. M_1 : masse (en gramme) de la capsule et des
jus d'orange. P_0 : masse (en gramme) de la prise d'essai de

IV. Détermination de Brix : [2].

IV. a Principe :

Le degré « Brix » est déterminé avec un réfractomètre. Carl. Zeiss.

IV. b Mode opératoire :

Analyse du Brix à l'aide d'un réfractomètre.
Lire la valeur de l'indice et sur l'échelle correspondante la concentration de la solution en pourcentage.

V. Détermination du pH : [2].

V.a Principe :

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH-mètre, c'est un appareil qui mesure la différence de potentiel entre deux électrodes, le potentiel de l'une indépendante du pH (c'est l'électrode de référence, généralement une électrode de Calomel) et le potentiel de l'autre étant fonction du pH (c'est l'électrode de mesure, généralement une électrode en verre).

V.b Mode opératoire :

Le pH permet de mesurer le taux d'acidité dans le produit à analyser.

VI. Détermination de l'acidité : [2].

VI. a Principe :

Nous avons utilisé la méthode qui consiste en une titration par la soude 0,1N en présence de la phénophtaléine.

VI. b Mode opératoire :

Verser dans un Erlen Meyer 200ml de capacité :
10ml de solution à analyser.

Une à deux gouttes de phénophtaléine.

Titrer le mélange par la solution de NaOH 0,1N jusqu'à apparition d'une couleur rose pale. Soit V le volume de soude versée.

VII. Détermination des sucres réducteurs : [2].

VII. a Principe :

La méthode appliquée est celle décrite par (BERN-FELD.1955). Les extrémités réductrices des sucres réagissent avec l'acide dinitrosalicylique et donnent une réaction jaune - orange proportionnelle à la quantité des sucres réducteurs.

La teneur en sucres réducteurs est obtenue après lecture de l'absorbance à la longueur d'onde de 540 nm ; pour les calculs, la réalisation d'une courbe d'étalonnage avec une solution de glucose à différentes concentrations est nécessaire.

VII. b Mode opératoire :

- Défécation de jus et de concentré d'orange :
Prendre une fiole de 200ml, verser 2g de produit et 40ml d'H₂O distillée et ajouter 0,8g de CaCO₃, agiter.
Ajouter 2ml de ferrocyanure de potassium à 15% et de 2ml d'acétate de zinc.
Compléter à 200ml avec de l'eau distillée.
Agiter et filtrer.
- Dosage :
Mettre dans un tube 1ml de filtrat avec 2ml de DNS et agiter.
Chauffer à ébullition pendant 5min.
Refroidir à l'aide de la glace.
Dilution avec 20ml d'H₂O distillée.
Les absorptions sont mesurées à une longueur d'onde de 540nm contre un essai blanc.
Puis préparer les courbes d'étalonnage.

VII.c Réactifs :

Solution mère de glucose (2g/l d'eau distillée).

Acide dinitrosalicylique DNS préparé comme suit :

- Dissoudre 30g de tartrate double Na⁺ et K⁺ dans 60ml d'H₂O distillée, chauffer et agiter.
- Ajouter 1g d'acide dinitrosalicylique.
- Compléter avec l'eau distillée jusqu'à 100ml.
 - ✓ Ferrocyanure de Potassium à 15%.
 - ✓ Acétate de Zinc à 30%.

VIII. Détermination de la vitamine C : [2].

VIII. a Mode opératoire :

Mettre dans un Erlen de 150ml :

- 10ml de la solution d'acide ascorbique.
- 1ml de la solution d'acide acétique.
- Remplir la burette avec la solution de 2,6DPIP et titrer le contenu de l'Erlen avec la solution de DPIP jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pale, persistance 30 secondes.

VIII. b Dosage dans le produit : (2)

- Peser 10g de produit à l'aide d'une balance.
- Ajouter 35ml d'acide oxalique.
- Verser le contenu dans une éprouvette de 50ml et compléter avec la même solution.
- Filtrer.
- Prélever 10ml de filtrat et les mettre dans un Erlen.
- Ajouter 1ml d'acide acétique.
- Titrer le contenu avec la solution de 2,6DPIP jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pale, persistance 30 secondes.
- Effectuer au moins 3 déterminations sur le même échantillon préparé.

VIII. c Réactifs :

- Solution de 2,6 dichlorophénolindophénol .
 - Dissoudre 50mg DPIP ET 48mg NaHCO₃ dans 500ml d'eau distillée.
 - Filtrer la solution et conserver au froid et à l'obscurité.
- Solution d'étalon d'acide ascorbique, dissoudre 40mg d'acide ascorbique pur dans 100ml d'acide oxalique à 0,25%.
- Acide oxalique 0,25%.
- Solution d'acide acétique à N/20.

VIII.d- L'expression des résultats :

mg d'acide ascorbique : Le $\frac{V_2 \cdot V \cdot 100}{V_1 \cdot g}$ par 100g de produit.

V₁ : Volume de DPIP déterminé.

V : Volume total d'échantillon (50ml).

g. : Masse exacte de produit.

Résultats et discussions.

I- Résultats des analyses microbiologiques effectués sur le produit :(germes/ml)

Tableau 7 :Après extraction :

Germes / ECH	1	2	3	4	5
GAT.	1,06.10 ³ +/- 2,37.10 ³	2,46.10 ⁵ +/- 5,50.10 ⁵	2,60.10 ⁵ +/- 5,94.10 ⁵	5,46.10 ⁴ +/- 1,22.10 ⁵	1,50.10 ⁶ +/- 2,26.10 ⁶
Coliformes fécaux.	abs	abs	abs	abs	abs
C.S.R.	abs	abs	abs	abs	abs
Levures et moisissures.	2,32.10 ³ +/- 3,32.10 ³	1,40.10 ³ +/- 2,86.10 ³	1,31.10 ⁴ +/- 2,25.10 ⁴	8,93.10 ³ +/- 1,17.10 ⁴	1,02.10 ⁶ +/- 1,41.10 ⁶

Tableau8 :Arès raffinage :

Germes / Etapes.	1	2	3	4	5
GAT.	8,94.10 ² +/- 2,25.10 ³	3,01.10 ⁴ +/- 0,52.10 ³	5,63.10 ⁴ +/- 1,72.10 ⁵	5,63.10 ⁴ +/- 1,72.10 ⁵	1,86. 10 ³ +/- 2,30.10 ² +/-
Coliformes fécaux.	abs	abs	abs	abs	abs
C.S.R.	abs	abs	abs	abs	abs
Levures et moisissures.	5,64.10 ³ +/- 3,36.10 ⁴	7,36.10 ² +/- 2,39.10 ³	6,74. 10 ⁵ +/- 3,65.10 ³	6,74.10 ⁵ +/- 3,65.10 ³	7,50.10 ² +/ 2,64. 10 ³

Tableau9 :Arès concentration :

Germes / Etapes.	1	2	3	4	5
GAT.	6,23.10 ² +/- 9,28.10 ²	4,10.10 ³ +/- 1,17.10 ³	5,22.10 ² +/- 6,14.10	9,70. 10 ² +/- 1,08. 10 ³	9,65 .10 ² +/- 1,12. 10 ³
Coliformes fécaux.	abs	abs	abs	abs	abs
C.S.R.	abs	abs	abs	abs	abs
Levures et moisissures.	5,44+/- 1,01	5,30+/- 0,89	5,65+/- 1,48	5,61+/- 1,74	3,85+/-2 ;

Le dénombrement de la flore totale, c'est de compter tous les microorganismes présents, à fin d'apprécier la pollution microbienne du produit, elle regroupe tous les germes aérobies-anaérobies facultatifs qui se développent à 30°C.

Nous remarquons d'après les résultats, que la charge bactérienne est élevée dans l'extrait et le jus raffiné. Cette présence élevée montre une contamination au cours de la fabrication qui peut être expliquée par :

- La contamination de la matière première par les microorganismes du sol lors de la réception. Un lavage et un brossage mal conduit permettent le passage des microorganismes qui se trouvent sur la surface des fruits de passer au jus lors de l'extraction.
- Les microorganismes de l'eau, car l'eau non traitée utilisée pour le lavage peut contaminer la matière première.
- Les microorganismes de l'air, car l'air et les poussières contiennent un très grand nombre de cellules microbiennes en suspension.

Ce sont surtout des bactéries, parfois des moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium* ...) et plus rarement des levures. Parmi les bactéries prédominent les sporulantes et les micro coccus ; les germes pathogènes sont les plus fréquemment absents. Le jus raffiné est stocké dans des bacs ouverts favorise le développement de ces germes qui sont véhiculés par l'air.

Les moisissures rencontrées dans les aliments, sont importantes pour deux raisons :

- Ils constituent une source sérieuse de contamination.
- Certaines espèces peuvent sécréter des mycotoxines nuisible pour l'homme.

Les levures et moisissures sont les plus considérées dans le jus d'orange, car ce milieu est très favorable pour leurs développement.

A travers les résultats, nous remarquons que le traitement thermique (concentration), détruit entièrement les levures et les moisissures.

Mais selon le Codex Alimentarius (1992) il est recommandé que le jus de fruit et légumes, doit être exempt de microorganismes capables de se développer dans des conditions normales d'entreposage; et ne doit contenir aucune substance provenant de microorganismes en quantité pouvant présenter un risque pour la santé.

L'existence des germes après traitement thermique, peut provoquer des altérations du produit au cours du stockage. Sur tout si ce dernier est mal conduit.

A partir des tableaux cités ci-dessus, il ressort que les échantillons analysés après concentration sont de qualité microbiologique satisfaisante.

Car la charge microbienne en germes pathogènes est inférieure au seuil de référence déterminé par le journal officiel (Voir Annexe I).
L'acidité du concentré ne favorise pas leur prolifération et occasionne par la suite sa bonne conservation.

Les jus d'orange sont des produits sélectifs qui ne posent pas de problèmes sanitaires.

II-Résultats de l'analyse microbiologique complémentaire : (JORA)

Tableau10 :Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur la vanne de distribution : (germes/3cm²) :

Germes Analyse de :	GAT.	CF.	S.au.	L+M.	C.S.R.	Strep.
1	54.	20.	12.	27.	abs	abs
2	46	01	09	38	abs	abs
3	58	07	10	41	abs	abs
4	89	02	04	37	abs	abs
5	88	02	07	99	abs	abs

En ce qui concerne les résultats obtenus à partir de l'analyse microbiologique effectuée pour le matériel, nous remarquons la figuration des germes aérobies totaux , des levures et moisissures ainsi que de quelques coliformes fécaux.

La manipulation de cette vanne par des mains sales, ou bien l'absence de l'hygiène, peuvent être à l'origine d'une contamination du produit.

Tableau11 : Résultats de l'analyse microbiologique complémentaire effectuée sur l'eau de distribution (germes /ml) :

Germes	GAT.	CF.	C.S.R.	Strep.
1	38	87	abs	abs
2	54	117	abs	abs
3	70	101	abs	abs
4	62	29	abs	abs
5	82	26	abs	abs

Pour l'eau de distribution, qui se trouve dans un bac d'accumulation, nous notons une charge élevée en coliformes fécaux qui dépasse très largement la norme donnée par le journal officiel.

La présence des coliformes nous renseigne sur l'indice de contamination fécale, c'est à dire, sur le risque que peut courir le consommateur.

Tableau12: Résultats de l'analyse micro-biologique complémentaire effectuée sur les boîtes vides (germes/3cm²):

Germes	1	2	3	4	5
GAT	22	32	47	27	38

En ce qui concerne les boîtes vides, elles sont parfaitement exemptes d'une flore microbienne néfaste vue le nombre très réduit de ces dernières.

Tableau13 : Résultats des analyses microbiologiques complémentaires effectuées sur l'atmosphère de la zone production (germes/3m²):

Germes Atmosphère.	GAT			CF			St.au			L + M		
1	50	33	23	abs	abs	abs	abs	abs	abs	45	55	67
2	83	38	46	abs	abs	abs	abs	abs	abs	21	33	70
3	97	88	81	abs	abs	abs	abs	abs	abs	44	33	70
4	20	abs	99	abs	abs	abs	abs	abs	abs	37	48	70
5	83	60	61	abs	abs	abs	abs	abs	abs	68	37	85

A partir des tableaux qui résument les résultats microbiologiques effectués pour les atmosphères qui règnent dans l'unité, nous avons pu noter la présence de levures et moisissures, de germes aérobies totaux, ainsi de quelques coliformes fécaux.

La présence des levures et moisissures est tout à fait normale, car la combinaison température / courants d'air favorise leur prolifération.

Tableau14 : Résultats microbiologiques complémentaires effectués sur le personnel :

Germes Pré	GAT	CF	S.au	L+M
P.V	20. 43. ind.	Ind. 67. 44.	81. 75. ind.	Ind. Ind. 177.
P.C	57. 211. 201	22. ind. Ind.	Ind. Ind. Ind	77. 83. 18.

A partir des tableaux résumant les résultats microbiologiques effectués pour le personnel, il ressort que le taux des coliformes fécaux, et des levures et moisissures est très élevé ce qui nous amène à dire que les conditions hygiéniques du personnel ne sont pas suivies.

Nous avons noté, d'autre part la présence du germe *Staphylococcus aureus*, à des charges beaucoup plus élevées que les coliformes fécaux, mais ces derniers ne peuvent agir, car l'acidité du concentré ne tolère pas leur prolifération.

III-Résultats des analyses physico-chimiques :

Tableau15 :L'humidité Au Cours de La Fabrication du Concentré de Jus d'orange :

	Après extraction.	Après raffinage.	Après concentration
Humidité En % De Poids De Jus.	80,02	85,61	38,75
NA	-	89,80	49

Ce tableau représente l'évolution de l'humidité d'après laquelle on remarque une diminution assez importante, celle ci peut être expliquée par une évaporation de l'eau lors de la concentration.

Tableau16 :L'extrait sec au cours de la fabrication du concentré de jus d'orange :

	Après extraction	Après raffinage	Après concentration
Extrait sec en % de poids de jus.	20,65	17,24	65,81
NA	-	>10,5	>52,5

La connaissance de l'extrait sec total est important à suivre durant le processus d'élaboration, car elle peut nous renseigner sur les éventuelles pertes en composés nutritionnels du produit.

L'extrait sec total doit être supérieur ou égal à 10,5 g dans 100 g de jus d'orange utilisés et d'autre part par l'état nutritionnel des arbres fruitiers en question . (AFNOR, 1988).

Nous remarquons une élévation de l'extrait sec total après concentration, et qui a comme valeur 65,81%.

Pour le jus d'orange concentré l'extrait sec total est de 17,24% dans le jus raffiné, cette teneur élevée peut être expliquée par l'état de maturité de fruits d'orange.

Tableau17 :Le brix au cours de la fabrication du concentré de jus d'orange :

	Après extraction	Après raffinage	Après concentration
Brix en % de poids de jus.	12	12	59,50
na	-	<10,20	>51

L'extrait sec seul appelé conventionnellement degré Brix, représente l'ensemble des corps dissous, c'est donc un critère important pour juger la valeur alimentaire du produit.

Selon AFNOR (1988), l'extrait sec soluble dans le jus d'orange est $\geq 10,2\%$.

Nous remarquons que l'extrait sec soluble est de 12° Brix dans le jus raffiné, cette valeur est élevée, elle augmente après concentration pour atteindre 59,50° Brix.

Tableau18 :Les cendres au cours de la fabrication du concentré de jus d'orange :

	Après extraction	Après raffinage	Après concentration
Cendre en % de poids de jus.	0,52	0,45	1,60
na	-	0,28-0,55	1,40-2,75

Au cours de la concentration on remarque une augmentation du taux des cendres cela est expliqué par l'intervention du phénomène d'évaporation de l'eau.

Tableau19 : Le pH et l'acidité au cours de la fabrication du concentré de jus d'orange :

Etapas / Unité	pH		Acidité.	
	Echantillon.	NA.	Echantillon g/l.	NA.
Après extraction	2,09	-	16,10	-
Après raffinage	2,50	3,10- 4,50	16,32	6-16
Après concentration.	2,05	3,50	71,52	30-80

Le pH correspond au logarithme négatif de la concentration en ions H⁺.

Pour le jus d'orange concentré nous remarquons une diminution de la valeur du pH qui passe de 2,50 après le raffinage à 2,05 après la concentration, cet abaissement peut être expliqué par :

L'apparition des ions Hydrogène dans le jus suite à la dissociation de l'eau, cette réaction est favorisée en présence des acides organiques et protéines.

D'autre part cette diminution serait due également à l'effet thermique et à la présence de certains éléments minéraux tel que les ions stanneux et les ions ferriques dissout dans le jus

L'acidité totale ou titrable correspond à la somme des acides minéraux et organiques libres dans le jus d'agrumes, il s'agit généralement de l'acide citrique et l'acide malique.

La flaveur caractéristique des agrumes provienne principalement des hautes concentrations en sucres et en acides organiques, dont les 90% sont sous forme d'acide citrique.

Les résultats obtenus montrent une augmentation de façon importante de l'acidité totale au cours de la concentration suite à l'élimination de l'eau. Ainsi la valeur obtenue est dans l'intervalle de la norme (30 < acidité totale < 80).

Tableau20:La vitamine C au cours de la fabrication du concentré de jus d'orange :

	Après extraction	Après raffinage	Après concentration
Vitamine C mg/100g.	83,72	85,16	130
na	-	>20	>100

Pour le jus d'orange concentré, la teneur en acide ascorbique passe de 85,16 à 130 mg/ 100 g. Cette augmentation est expliquée par l'élimination de l'eau par évaporation. Il est à signaler qu'aucun procédé ne permet d'éviter la perte vitaminique.

Tableau 21 : Les sucres réducteurs au cours de la fabrication du concentré de jus d'orange :

	Après extraction	Après raffinage	Après concentration
Sucres réducteurs en% de poids de jus.	7,30	7,16	25,60
na	-	5-20	25-100

Les différents sucres présents dans le jus de fruit, sont constitués généralement de glucose, fructose et saccharose, les deux premiers sont directement réducteurs, alors que le saccharose ne l'est pas.

Nous remarquons que le taux des sucres réducteurs passe de 7,30 à 7,16 à cause de l'élimination de la pulpe au cours du raffinage.

Conclusion.

Tout au long de notre étude, nous avons pu évaluer la qualité microbiologique et physico-chimique d'un concentré de jus d'orange, et par conséquent la détermination des éventuelles sources de contaminations.

L'existence des germes après traitement thermique, peut provoquer des altérations du produit au cours du stockage. Sur tout si ce dernier est mal conduit et il en ressort que les échantillons analysés après concentration sont de qualité microbiologique satisfaisante. Car la charge microbienne en germes pathogènes est inférieure au seuil de référence déterminé par le journal officiel et l'acidité du concentré ne favorise pas leur prolifération et occasionne par la suite sa bonne conservation.

Donc, nous avons noté une qualité microbiologique satisfaisante pour tous les échantillons analysés.

Les analyses complémentaires ont été effectuées dans le but de la recherche des sources de contaminations, en vue de leur élimination, car ceci pourra améliorer la qualité du produit.

La manipulation des vannes par des mains sales, ou bien l'absence de l'hygiène, peuvent être à l'origine d'une contamination du produit.

La présence des coliformes nous renseigne sur l'indice de contamination fécale, c'est à dire, sur le risque que peut courir le consommateur.

Mais ces analyses confirment toujours le bon niveau hygiénique de l'unité, à savoir le personnel, la vanne de distribution, les boîtes vides, l'atmosphère de production l'unité, et de l'eau.

D'après les études physico-chimiques qui ont été réalisé sur le concentré de jus d'orange, nous avons pu conclure que les échantillons étaient conformes aux normes précisées par le journal officiel ainsi que par la bibliographie.

Les différents points discutés, notamment qu'il est impératif de remédier à de petites corrections des conditions hygiéniques à fin d'améliorer encore plus la qualité du produit, cette correction garantira la protection du consommateur en premier lieu et celle du fournisseur en second.

Références bibliographiques

1-ABOUHADJAR.S., 2000.

Problèmes de la qualité hygiéniques et micro-biologiques dans la production du lait et produits laitiers, cas : laiterie de BENI-TAMOU ; Thèses d'Ing.Agro. Université de Blida.

2-ALEM.A., 1986.

Elaboration de la chaîne agrume, et du double concentré de tomate, valorisation des déchets. Thèse de technicien supérieur. Université de Boumerdess.

3-AMALOU. D., 2002.

Cours des emballages et conditionnement ; 5^{ème} année sciences alimentaires.

4-ANONYME, 1991.

5-ANONYME, 1990.

Mémento de l'agronome 4^{ème} édition. Collection ; Techniques rurales en Afrique.

6-ANONYME, 1982.

7-Baron A. (2002).

Jus de fruits. In Technologies de transformation des fruits. XX Eds Paris: Tec & Doc.

8-BENAICHE Jacques, 2001.

Jus d'orange concentré ; Extraction et conservation ; Techniques d'ingénieur. Paris.

9-BOUCETTA. S., 1999.

Qualité micro-biologique des préparations alimentaires en restaurations collectives ; Thèse d'Ing.Agro ; Université de Blida.

10-BOURGEOIS.CM., 1996.

Micro-biologie alimentaire ; Tome 1 ; Aspects micro-biologiques de la sécurité et de la qualité des aliments ; édition : Apria ; Paris.

11-BOURGEOIS.CM., 1980.

**Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires ;
Tome 2 ; Le contrôle micro-biologique ; édition : Apria ; Paris.**

12-Brat P., Rega B., Alter P., Reynes M., Brillouet J.M. (2003). Distribution of volatile compounds in the pulp, cloud, and serum of freshly squeezed orange juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51 (11), 3442-3447.

13- Braddock R.J. (1999). Juice processing operations. In Handbook of citrus by-products and processing technology. New York: Wiley. 35-51.

14-Cameron R.G., Niedz R.P., Grohmann K. (1994) Variable heat stability for multiple forms of pectin methylesterase from citrus tissue culture cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42, 903-908.

15-CHEFTEL. Jean claude et Henri., 1984. Introduction à la biochimie et la technologie des aliments ; Volume 1.

16-Chen C.S., Shaw P.E., Parish M.E. (1993). Orange and tangerine juices. In Fruit Juice Processing Technology, Nagy S., Chen C.S., Shaw P.Z., Eds. Auburndale, Florida, USA: Agscience Inc. 119-124.

17-Davies F.S., Albrigo L.G. (1994). Fruit quality, harvesting and postharvest technology. In Citrus. Atherton J., Rees, A., Eds. Crop Production Science in Horticulture. CAB International.

18-FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2003). Agrumes, statistiques : agrumes frais et transformés.

19-Farnworth E.R., Lagacé M., Couture R., Yaylayan V., Stewart B. (2001). Thermal processing, storage conditions, and the composition and physical properties of orange juice. Food Research International, 34 (1), 25-30.

20-Fellers P.J. (1985). Citrus : sensory quality as related to rootstock, cultivar, maturity and season. In Evaluation of quality of fruits and vegetables. Pattee, HE, Ed. AVI Publishing, Co, 83-128.

21-Fox K. (2000).

New technology in citrus processing-reprint of 1991. Fruit Processing, 10, 94- 101.

22-GOUDJAL.Y.,2001.

Etude micro-biologique complète des qualités hygiéniques et commerciales des viandes rouges destinées à la consommation ménagère dans la ville de Blida ; Thèse d'Ing.Agro. Université de Blida.

23-GUIRAUD.J.P.,1998.

Microbiologie alimentaire ; édition : Dunod ; Paris.

24-GUIRAUD.J.P.,1979.

Analyse micro-biologique dans les industries alimentaires. Compagnie Française d'édition .Paris.

25-J.L CUQ, et S. GUILBERT,1989.

Protéines alimentaires, techniques et documentation, édition : Lavoisier ; Paris.

26-Kimball D.A. (1999).

Citrus processing, a complete guide, second edition. Kimball D.A., Ed. Gaithersburg : An Aspen publication.

27-LACHA.B., PRUDHOMME.C., COLIN.P.,1990.

Analyses critiques des méthodes de recherches, de dénombrements et d'identification des micro-organismes dans les industries agroalimentaires ; édition : Apria ; Paris.

28-LAPREN.J.P., 1985.

Manuel pratique de la micro-biologie ; édition : Hermance ; Paris.

29-LEDERER.J.,1986.

Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire ; édition : S.A., éditeur : Paris.

30-Lee J.Y., Lin Y.S., Chang H.M, Chen W., Wu M.C. (2003).

Temperature-time relationships for thermal inactivation of pectinesterases in orange juice. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83 (7), 681-684.

31-MARCHAL.N., BOURDON.J.L .,RICHARD.C.L,1982.

Les milieux de cultures pour isolement et identification biochimiques des bactéries ; édition : Doin ; Paris.

**32-Mouly P.P., Gaydou E.M., Lapierre L., Corsetti J. (1999).
Differentiation of several geographical origins in single-strength Valencia orange juices using quantitative comparison of carotenoid profiles. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47 (10), 4038-4045**

**33-LOUSSERT.R.,1987.
Les agrumes ; Arboriculture ; édition scientifique universitaire ; Lavoisier ; Paris.**

34-Normes AFNOR,1993.

**35-Park G.L., Byers J.L., Pritz C.M., Nelson D.B., Navarro J.L., Smolensky D.C., Vandercook C.E. (1983).
Characteristics of California navel orange juice and pulp wash. Journal of Food Science, 48 (2), 627-632, 651.**

**36-ROZIER.J.,1985.
Bases micro-biologiques de l'hygiène des aliments ; édition : Sépaic ; Paris.**

**37-PAUL ROBERT ;1982.
Dictionnaire alphabétique et analogique de la langue Française ; Paris.**

**38-PRALORAN. J.C.,1971.
Les agrumes.**

**39-Sanchez-Moreno C., Plaza L., de Ancos B., Cano P. (2003).
Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83 (5), 430-439.**

**40-Saunt J. (1990).
Citrus varieties of the world : an illustrated guide. Saunt J., Ed. Sinclair International**

**41-Snir R., Koehler P.E., Sims K.A., Wicker L. (1996).
Total and thermostable pectinesterases in citrus juices, Journal of Food Science, 61 (2), 379-382.**

42-Trystram G., Duquenoy A., Bimbenet JJ. (2002)

**Génie des procédés alimentaires : des bases aux applications, Dunod,
Collection Hors Collection, 576 pages.**

a-INTER NET : <http://www.orange.juice.com/2002>.

Journal officiel des normes algériennes 1998 page 35

Annexes.

ANNEXE I :

Journal officiel N°35 /Mai 1998.

Tableau VII : Critère microbiologiques des eaux et boissons :

Eau de distribution traitée.	n	c	m
Germes aérobies à 37°C./ml.	1.	-	20.
Germes aérobies à 22°C./ml.	1.	-	<10 ² .
Coliformes aérobies à 37°C./100ml.	1.	-	<10.
Coliformes fécaux à 42°C./100ml.	1.	-	Absence.
Streptocoques D/50ml.	1.	-	Absence.
Clostridium sulfito-réducteur à 46°C./ml.	1.	-	Absence.
Clostridium sulfito-réducteur à 46°C./20ml.	1	-	<5.

Jus de fruit et eau fruitée.	n	c	m
Coliformes/10ml.	5.	2.	Absence.
Levures osmophiles./litre.	5.	2.	<20.
Moisissures/100ml.	5.	2.	10.
Leuconostoc citrovorum/ml.	5.	0.	Absence.
Clostridium butyrique/100ml.	5.	1.	Absence.

Emballage pour eau et boissons embouteillées.	n	c	m
Germes aérobies par récipient.	1.	0.	Absence.

Avec :

n ; nombre d'unités composant l'échantillon.

c ; nombre d'unités d'échantillon donnant le résultat compris entre 3m et M.

m ; seuil de référence déterminant la qualité du produit, exprimé en germes par gramme de concentré.

m' : seuil délimitant une tolérance analytique (m' = 3m dans le cas de milieu solide).

M : seuil limite d'acceptabilité ou M = 10m lors du dénombrement en milieu solide et M = 30m lors de l'utilisation d'un milieu liquide.

S : seuil de toxicité (S = m.10².10 dans le cas général ; pour S. Aureus cette valeur ne doit jamais dépasser 5.10².10²germes/gramme).

N : moyenne arithmétique des résultats, exprimée en germes/gramme.

(ROZIER, 1985 ; GUIRAUD, 1998

ANNEXE II :

Milieux de culture – composition et préparation :

Eau physiologique :

Chlorure de sodium 9g

Eau distillée 1000ml

Autoclavage à 121°C pendant 20min (MARCHAL ET BOURDAN, 1982)

.Gélose nutritive :

Peptone tryptique 15g

NaCl ou KCl 5g

Agar 15 à 20g

Macération de viande (pour eau distillée + extrait de viande) 1000ml

On fait dissoudre les ingrédients dans l'eau distillée chauffée à 80°C, un autoclavage à 121°C pendant 30min, le pH final est égal à 7,6 à 7,8.(MARCHAL ET BOURDAN, 1982).

Gélose :VRBL : (Violet, Read, Bile, Agar) :

Peptone 7g

Extrait de levure 3g

Lactose 10g

Chlorure de sodium 5g

Mélange de sels biliaires 1,5g

Rouge neutre 0,03g

Cristal violet 0,002g

Agar-agar 13g

Eau distillée 1000ml

On fait dissoudre les différents ingrédients dans l'eau distillée préalablement portée à ébullition pendant 10min et refroidie à 50°C, on peut éventuellement autoclaver sans dépasser 15min à 115°C, le pH final est égal à 7,4. (MARCHAL ET BOURDAN, 1982).

Milieu Braid Parker (ou ETGPA : Egg yolk, Tilturite de potassium, Glycocolle, Pyruvate, Agar) :

Peptone tryptique de caséine 10g

Extrait de viande 15g

Extrait de levures 2g

Pyruvate de sodium 10g

Glycocolle 12g

Agar 14g

Eau distillée 1000ml

On fait dissoudre les ingrédients en les portant à ébullition dans l'eau distillée, un autoclavage pendant 20min à 120°C, le pH final est égal à 7,2. (MARCHAL ET BOURDAN, 1982).

Gélose viande-foie VF :

Base viande-foie 20g

Glucose 0,75g

Sodium sulfure 1,20g

Fer citrate ammoniacal 0,50g

Agar-agar 11g

Eau distillée 1000ml

On fait dissoudre les ingrédients, puis un autoclavage à 120°C pendant 15min, le pH final est égal à 7,4 à 7,6. (MARCHAL ET BOURDAN, 1982), (ABOUHADJAR, 2000).

Gélose OGA (oxytétracycline, glucose, agar) :

Extrait de levures 5g

D-glucose 20g

Oxytétracycline 0,1g

Agar-agar 16g

Eau distillée 1000ml

On fait dissoudre les ingrédients dans l'eau distillée puis un autoclavage à 121°C pendant 15min, le pH final est égal à 6,6. (MARCHAL ET BOURDAN, 1982), (ABOUHADJAR, 2000).

Rothe :

Peptone. 20g.

Glucose. 5g.

Chlorure de sodium. 5g.

Phosphate bi potassique. 2,7g.

Phosphate mono potassique. 2,7 g.

Azide de sodium. 0,2g.

Le pH est de 7 ; répartir en tubes à essais (9ou 10ml) et auto claver à 115°C., pendant 20mn.

Bouillon de Lytski ou EVA :

Peptone. 20g.

Glucose. 5g.

Chlorure de sodium. 5g.

Phosphate bipotassique. 2,7 g.

Phosphate monopotassique. 2,7g.

Azide de sodium. 0,3g.

Ethyle violet. 0,5 g.

A pH 7.

ANNEXE III :

Méthodes de désinfection et de stérilisation :

Stérilisation par autoclavage :

Les tubes à essai et les flacons contenant l'eau physiologique sont autoclavés par la chaleur humide à 121°C, 1bar et pendant 20min. (GOUDJAL, 2001).

Stérilisation par l'étuve :

Tout le matériel utilisé sera stérilisé à 180°C pendant 1heure.

Stérilisation par flambage :

La stérilisation par flambage dans la flamme bleue a été utilisée pour la stérilisation des ustensiles utilisés.

Désinfection par l'alcool et l'eau de javel :

La paille, les becs benzènes, les mains ont été désinfectés par l'emploi de l'alcool et de l'eau de javel.

ANNEXE IV :

Appareillage :

Balance de précision.

Agitateur des tubes à essais.

Autoclave.

Etuve à 180°C : Memmert, 37°C Séléta, 30°C Memmert, 44°C Memmert, 46°C Memmert.

Bain-marie : Memmert.

Compteur de colonies : Stuart colony.

Glacière.

Réfrigérateur : ENIEM.

Réfractomètre Carl Zeisse-88184

pH mètre Minissis-8000

Burette Aspin (Brosilicote 33)

Four à 530°C

Spéctrophotomètre.

ANNEXE V :

Table de Mac – Grady pour le dénombrement en milieu liquide par la méthode NPP : Deux tubesensemencés par dilution décimale. (d’après GUIRAUD, 1998).

Nombre caractéristique	Nombre probable des germes.
000	0,0
001	0,5
010	0,5
011	0,9
020	0,6
100	0,6
101	1,2
110	1,3
111	2,0
120	2,0
121	3,0
200	2,5
201	5,0
210	6,0
211	13,0
212	20,0
220	25,0
221	70,0
222	110,0