

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

Université Saad Dahlab Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et la Vie

Département Agroalimentaire

Spécialité : Agroalimentaire et Contrôle Qualité

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

Thème

**Effets de l'incorporation de la poudre de Graviola et de la Chlorelle
sur les caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques de la
boisson "Orangina"**

Présenté par :

Mme CHETOUANE Sarah & Melle MAYOUF Ghofrane

Devant le jury :

Mr. AMALOU.D	MCB- USDB	Président
Dr. BOUZAR .A.C	MAB-USDB	Examineur
Mme.ATTAL. F.S	MAA-ISTA	Promotrice
Mme BERROUANE.N	MSc-ENSA	Co promotrice

Année universitaire 2021/2022

REMERCIEMENTS

Nous remercions DIEU, qui nous a donné de la volonté et de la patience, pour étudier et élaborer ce modeste travail.

Tout d'abord notre promotrice Madame Attal pour ses encouragements, sa patience, sa rigueur scientifique à approfondir les raisonnements au cours des discussions toujours fructueuses.

Au Personnel du Laboratoire de entreprise SPA Djgaguen pour leurs aides et leurs chaleureux accueils.

A toute la noble famille d'enseignement depuis notre première année au sein de l'ISTA et Université.

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à ce travail.

Aux membres du jury Mr. AMALOU et Dr. BOUZAR d'avoir accepté de examiner le présent travail et pour le temps et les orientations accordées

Nos remerciements vont également à l'ensemble des enseignants de l'Université Saad Dahleb Blida 01

Nous voudrions aussi exprimer notre profonde gratitude à nos familles pour leur soutien moral, matériel leurs encouragements prodigués pendant toutes ces années d'études.

Qu'ils nous soit permis ici d'adresser nos sincères remerciements a tous les amis et les personnes qui nous ont données de leur temps, leur idées et d'autres qui ont été assez aimable pour prendre part à nos recherches. Une pensé spéciale a ceux qui nous sont chères et qui nous ont quittées

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à : A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir ; à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman je t'adore.

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet, à toi mon très cher mari Mohamed

A celui qui m'a donné la force pour la réussite, mon fils Fadi

Aux personnes que j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères et ma sœur (Smail, Abdou, Khaled et ma sœur Leila),

A mon frère Abd Elwahed Qui Est Toujours Dans Mon Cœur, paix à son âme

Je dédie ce travail dont le grand plaisir leur revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements. A toute ma famille et ma belle-famille, sans oublier ma belle-mère Fatima

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci

Sarah

Dédicaces

A L'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi Mon père.

A Ma Très Chère mère Qui Est Toujours Dans Mon Cœur, paix à son âme

*À Mon frère : **Madjd edinne***

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes

Côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures

Je vous serais jamais assez reconnaissante je dédie aussi ce modeste travail en

*Exprimant ma gratitude à **Mme Attal**, qui m'a fait l'honneur d'être*

***Ma promotrice** ; ainsi que pour l'intérêt qu'il a apporté à la réalisation de ce*

Travail. Je la remercie chaleureusement pour ses encouragements, orientations,

Aide, précieux conseils, patience et aussi pour sa disponibilité et sa gentillesse.

Ghofrane

Tables des matières

Remercîment	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1
Partie Bibliographique	
Chapitre I : Jus et boissons gazeuses.....	4
I.1. Définition et classification.....	4
I.1.1 Jus de fruits.....	4
I.1.2 concentré de jus de fruits.....	4
I.1.3.Jus de fruits à base de concentré.....	4
I.1.4.Jus de fruits obtenu par extraction hydrique	4
I.1.5. Purée de fruits destinée à la production de jus et de nectars de fruits.....	5
I.1.6. Nectar de fruits.....	5
I.1.7. Smoothie.....	5
I.2.1.Les boissons gazeuses.....	5
I.2.1.1. Définition des boissons gazeuses.....	5
I.2.1.2.Les principaux types de boissons gazeuses.....	6
I.2.1.2.1. Les sodas	6
I.2.1.2.2. Limonades.....	7
I.2.1.3.Valeur nutritionnelle	7
I.3. Procédé de fabrication de jus de fruits.....	7
I.3.1.Extraction du jus	7
I.3.2.Tamisage et centrifugation.....	8
I.3.3.Pasteurisation.....	8
I.3.4.Concentration.....	8
I.3.5.Conditionnement en bouteille	8
I.4.Composition biochimique de jus de fruits.....	9
ChapitreII. Boissons fonctionnelles.....	11

II .1.Aliments fonctionnels.....	11
II .1. 1.Définition	11
II.1.2.Aliments fonctionnels : Un consensus.....	11
II .2.1.Boisson fonctionnelle.....	12
II .2.2.Utilisation.....	12
II .3.Les éléments nutritifs.....	13
II .3. 1. Chlorelle	13
II .3. 1.1. Définition et origine	13
II .3.1.2. Morphologie	14
II .3.1.3. Reproduction.....	14
II .3.1.4.Culture de la chlorelle.....	14
II .3.1.4.1. Conditions de la culture.....	14
II.3.1.4.2.Milieu de culture.....	16
II .3.1.4.3.Technique de culture.....	16
II .3.1.4.3.1.Mode de culture.....	16
II .3.1.4.3.2.Mise en culture et maintenance.....	17
II .3.1.5.Composition chimique.....	17
II .3.1.6.Intérêt nutritionnel.....	17
II .3.1.7.Intérêt thérapeutique.....	19
II .3.2. Le Graviola (Annonamuricata L).....	21
II .3.2.1. Description et classification botanique	22
II .3.2.2.Distribution et culture de la plante	24
II .3.2.3.Composition chimique.....	25
II .3.2.4.Conservation et exportation.....	26
II .3.2.5.Utilisation traditionnelles.....	26
II .3.2.6. Propriétés thérapeutiques d'Annonamuricata L.....	27
Chapitre II : Matériel et méthodes	
III.1.Présentation de l'entreprise Orangina.....	36
III.1.1.Historique.....	36
III.2. Processus de fabrication.....	36
III.2. 1.Définition d'une boisson gazeuse Orangina.....	36

III.2.2. Matières premières de la boisson gazeuse Orangina.....	37
III.2.3. Procède de fabrication boisson gazeuse Orangina.....	38
III.2.3. 1. Traitement de l'eau de boisson.....	38
III.2.3.2. Préparation de la boisson gazeuse Orangina.....	41
III.2.3.3. Lavage des Bouteilles.....	42
III.2.3.4. Remplissage.....	42
III.2.3.5. Capsulage et datage.....	43
III.2.3.6. Le traitement thermique (Pasteurisation).....	43
III.2.3.7. Etiquetage et Stockage.....	43
III.3. Matériels.....	46
II. 3.1. Matériel d'étude.....	46
II.3.1.1. Matières premières.....	46
III.3.1.2. Matériel végétal.....	46
III.3.2. Matériel non biologique.....	47
III.3.2.1. Verrerie et appareillage.....	47
III.3.2.2. Milieux de culture	47
III.3.2.3. Réactifs et solutions	47
III.3.3. Méthodes.....	47
III.3.3. Echantillonnage.....	47
III.3. 3.1. Eau.....	47
III.3.3.2. Le produit fini.....	47
III.3.3.3. Le produit fini enrichi en Graviola et chlorelle.....	47
III.3.4. Méthodes d'analyses physicochimiques.....	48
III.3.4.1. Analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau.....	49
II.3.4.1.1. Détermination de titre alcalimétrique (TA)	59
III.3.4.1.2. Détermination de titre alcalimétrique complet (TAC)	50
III.3.4.1.3. Détermination de titre hydrotimétrique TH de l'eau.....	50
III.3.4.1.4. Détermination des chlorures (Cl ⁻).....	51
III.3.4.1.5. Détermination du chlorure libre «méthode par comparateur palintés.....	52
III.3.4.1.6. Mesure de pH.....	52
III.3.4.2. Analyses physico-chimiques effectuées sur le produit fini et le produit enrichi.....	52

III.3.4.2.1.L'extrait sec totale (Degrée Brix).....	53
III.3.4.2.2.Le pH.....	54
III.3.4.2.3.L'acidité titrable.....	54
III.3.4.2.4. Détermination de la teneur en protéines	55
III.3.4.2.5. Détermination de Taux de sucres.....	59
III.3.4.2.6. Détermination de Taux de lipides.....	59
III.3.5. Méthodes d'analyses microbiologiques.....	59
III.3.5.1. Analyses microbiologiques effectuées sur l'eau de process.....	60
III.3.5. 1.1.Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT).....	61
III.3.5.1.2.Dénombrement des coliformes fécaux et totaux.....	62
III.3.5.1.3. Recherche et dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réducteurs.....	62
III.3.5.1.4.Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	63
III.3.5.2. Analyses microbiologiques effectuées sur le produit fini et le produit fini enrichi.....	64
III.3.5.2.1. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT).....	64
III.5.3.2.2. Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	66
III.3.6.L'analyse sensorielle de la boisson.....	67
IV .1.Résultats des analyses physicochimiques.....	69
IV .1.1.Résultats des analyses physicochimiques de l'eau	69
IV .1.1.1.Résultats des analyses physicochimiques de l'eau de chaudière.....	69
IV .1.1.2.Résultats des analyses physicochimiques de l'eau de bache.....	69
IV .1.1.2.Résultats des analyses physicochimiques de l'eau de process.....	70
IV.1.2. Résultats des analyses physicochimiques du produit fini.....	71
IV .1.3.Résultats des analyses physicochimiques du produit fini enrichi en Graviola et chloreille	72
IV .2.Résultats des analyses microbiologiques.....	75
IV .2.1. Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process.....	75
IV .2.2.Résultats des analyses microbiologiques de produit fini.....	75
IV .2.3.Résultats des analyses microbiologiques de produit fini enrichi en Graviola et chloreille.....	76
IV .3.Résultats des analyses sensorielles.....	77

IV .3.1.Résultat statistique du caractère goût.....	77
IV .3.2.Résultat statistique du caractère odeur.....	78
IV .3.3.Résultat statistique du caractère couleur-intensité.....	79
IV.3.4.Évaluation sensorielle.....	79
Conclusion.....	83
Références bibliographiques.....	85
Annexes.....	89

Résumé

Durant notre étude expérimentale au niveau de laboratoire de l'entreprise SPA Djaguen nous avons élaborer une boisson Orangina enrichi par des éléments nutritifs (le Graviola et la Chlorelle) suivi par des analyses physico-chimiques, microbiologiques et sensorielles et la comparer avec la boisson Orangina en étudiant les effets de l'incorporation de ces éléments sur la qualité du produit .

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que la boisson Orangina enrichi par le Graviola et la Chlorelle est riche en protéines (0,18 g /l), sucres (124g /l) et lipides (0,014g /l) par rapport à la boisson Orangina le taux de proteins est de (0,011 g/l) ,taux de lipides (0,010 g /l) .,taux de sucres (114 g /l)

Et les résultats des analyses physicochimiques et microbiologiques sont conformes aux normes établies par entreprise.

Mots clés : le Graviola et la Chlorelle, incorporation, physicochimique, paramètres microbiologique, sensorielle, validation.

Abstract

During our experimental study at the level of laboratory of the company SPA Djgaguen we have elaborated a drink Orangina enriched by nutritive elements (the Graviola and the Chlorella) followed by physicochemical, microbiological and sensory analyses and compare it with the drink Orangina by studying the effects of this incorporation of these elements on the quality of the product.

According to the results , we notice that the Orangina drink enriched by Graviola and Chlorella is rich in proteins (0,18 g /l) , sugars (124g /l) and lipids (0,014g /l) compared to the Orangina drink the protein level is (0,011 g/l) , the level of lipids is (0,010 g/l) and the level of sugars is (114 g /l)

And the results of physicochemical and microbiological analysis are in accordance with the standards established by the company.

Key words: Graviola and Chlorella, incorporation, physicochemical analysis, microbiological analysis, sensory analysis.

المخلص

خلال دراستنا التجريبية على المستوى المختبر للشركة ، قمنا بتركيب مشروب اورونجينا مدعم بالعناصر الغذائية (الجرافيوولا و الكلوريلا) متبوع بتحاليل فيزيوكيميائية،ميكروبيولوجية وحسية ومقارنتها مع مشروب اورونجينا.و دراسة آثار هذه العناصر على جودة المنتج .

وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها نلاحظ أن مشروب اورونجينا المدعم بالعناصر الغذائية (الجرافيوولا و الكلوريلا) غني بالبروتينات 0,018 غ/ل و السكريات 124 غ/ل و الدهون 0,014 غ/ل مقارنة بمشروب اورونجينا ,مستوى البروتينات غ/ل 0,011 و السكريات 114 غ/ل و الدهون 0,010 غ/ل .

ونتائج التحليلات الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية تتوافق مع المعايير التي وضعتها الشركة
الكلمات الدالة التحاليل الفيزيائية التحاليل الميكروبيولوجية التحاليل الحسية الجرافيوولا و
الكلوريلا

Liste des abréviations :

Abs : Absence.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

°Brix : Degré Brix.

°C : Degré Celsius.

D/C : Double Concentration

DPD : Diéthyl-phénylènediamine.

E.D.T.A : Éthyle diamine tétra acétique

°F: Degré français.

GAMT: Germes Aérobie Mésophiles Totaux

NaOH : Hydroxyde de sodium.

N.E.T : Noire Erichrome

NPP: Nombre Plus Probable

pH : Potentiel hydrogène.

S/C : Simple Concentration.

T: Témoin

TA : Titre Alcalimétrique.

TAC : Titre Alcalimétrique Complet.

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

TH : Titre Hydrométrique

TSE : Tryptone Sel Eau

UI : Unité internationale

VF: Viande Foie

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

BPF : Bonne pratique de fabrication

BPL : Bonne pratique de laboratoire

Liste des figures :

Figure I.1. Diagramme de fabrication des jus de fruits à base de concentré.....	9
Figure II. 1. la chlorelle.....	13
Figure II.2. Un schéma représentant les différentes phases de la formation de la paroi cellulaire de la cellule fille chez <i>Chlorellavulgaris</i>	14
Figure II.3. Arbre d' <i>Annonamuricata</i> et son fruit.....	23
Figure II.4. Fleurs d' <i>Annonamuricata</i>	23
Figure II.5. Fruits d' <i>Annonamuricata</i>	24
Figure III.1. Schéma de traitement de l'eau de boisson de l'unité Orangina.....	40
Figure III.2. Etiquette	44
Figure III.3. Bouteille de produit fini	44
Figure III.4. Diagramme de fabrication de boisson gazeuse Orangina.....	45
Figure III.5. La Graviola (<i>Annonamuricata</i> L) utilisée	47
Figure III.6. la chlorelle utilisée.....	47
Figure III.7. Pesage des doses de Graviola et chlorelle	48
Figure III.8. Le produit fini enrichi en Graviola et chlorelle.....	48
Figure III.9. le réfractomètre	54
Figure III.10. Pesage de catalyseur.....	56
Figure III.11. les matras.....	56
Figure III.12. Le minéralisateur.....	57
Figure III.13. Le minéralisant	57
Figure III.14. Acide borique et indicateur de Tachiro	57
Figure III.15. le minéralisant et eau distillée.....	58
Figure III.16. Le distillateur	58
Figure III.17. changement de couleur.....	58
Figure III.18. le titrage.....	59
Figure III. 19. Le pH mètre.....	59
Figure III.20. Autoclave.....	65
Figure III.21. Incubation des boîtes pétries (GAMT)	66
Figure III.22. Incubation des boîtes pétries (levures et moisissures)	67

Figure IV .1. Comparaison du caractère goût de boisson Orangina et boisson enrichie en Graviola et chlorelle.....	78
Figure IV .2. Comparaison du caractère odeur de boisson Orangina et boisson enrichie en Graviola et chlorelle.....	78
Figure IV.3. Comparaison du caractère couleur-intensité de boisson Orangina et boisson enrichie en Graviola et chlorelle.....	79
Figure IV .4. Histogramme représente les résultats de dégustation de boisson Orangina.....	80
Figure IV .5. Histogramme représente les résultats de dégustation de boisson Orangina enrichi en Graviola et chlorelle.....	81

Liste des tableaux :

Tableau I.1. Composition approximative d'un jus de pomme.....	9
Tableau II.1. Composition générale de la chlorelle sèche (%).....	17
Tableau II.2. Taxonomie d'Annonamuricata L.....	22
Tableau II.3. Saisons de récolte du corossol en fonction des régions du Monde.....	25
Tableau II.4. Études sur les mécanismes d'action antitumoraux d'A.murica.....	28
Tableau III.1. les différentes concentrations de Graviola et chlorelle dans 1lite de boisson gazeuze Orongina.....	46
Tableau IV .1. Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de chaudière.....	69
Tableau IV .2. Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de bêche.....	69
Tableau IV .3. Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process.....	70
Tableau IV .4. Résultats des analyses physicochimiques du produit fini.....	71
Tableau IV .5. Résultats des analyses physicochimiques du produit fini enrichi en Graviola et chlorelle.....	72
Tableau IV .6. Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de proces.....	75
Tableau IV .7. Résultats des analyses microbiologiques de produit fini.....	76
Tableau IV .8. Résultats des analyses microbiologiques de produit fini enrichi en Graviola et chlorelle.....	76
Tableau IV .9. les différents caractères de l'analyse sensorielle de boisson Orongina(témoin).....	79
Tableau IV .10. les différents caractères de l'analyse sensorielle de boisson Orangina enrichi en Graviola et chlorelle.....	81

Introduction

La production commerciale de jus de fruits et de boissons a vraiment débuté à la fin du 18ème et au début du 19ème siècle, mais ses origines remontent beaucoup plus loin, en Europe au moins, à l'époque romaine .

Un jus de fruits est une boisson riche en fibres et en vitamines, obtenue à partir d'un fruit comestible mur. C'est un produit de premier choix pour toute personne intéressée par la santé et le bien-être. Il est devenu ainsi le produit phare de l'industrie agro-alimentaire, et beaucoup d'entreprises se sont spécialisées dans leur production et commercialisation. Cependant, la production d'un jus de fruit est régie par une réglementation stricte qui définit sa qualité biochimique, ses différentes catégories, ainsi que la procédure de préparation.

Aujourd'hui dans le domaine de boissons il existe beaucoup d' idées de recettes et beaucoup de saveurs et goûts qui se déclinent répondant à la demande de consommateur, la fonction des boissons est d'étancher la soif, avec un goût à la fois acidulé et sucré, agréable et très apprécié, mais notre but n'est pas seulement la recherche de goût mais aussi la recherche de utilité par l'addition d'ingrédients fonctionnels au pourrait altérer ses profils texturaux et sensoriels nutritionnelle. Par conséquent, l'impact de ces changements devrait être étudié afin de prédire l'acceptation par le consommateur des nouveaux produits développés

Le but général de notre travail qui sera effectuée au niveau de l'entreprise Orangina, est l'élaboration d'une boisson en incorporant des éléments nutritifs qui sont : la chlorelle et Graviola .

Les objectifs :

- Apprendre le processus de la fabrication de la boisson Orangina.
- La comparaison entre la boisson Orangina et la boisson élaborée.
- Etudier les effets d'incorporation de la chlorelle et Graviola sous forme de poudre dans l'élaboration d'une boisson sur les paramètres physico-chimiques, microbiologiques et sensorielle.

Hormis l'introduction et la conclusion, ce travail est organisé en trois grandes parties :

- La première partie est consacrée à la recherche bibliographique concernant les :

- Généralités sur les jus de fruit.
- Généralités sur les boissons gazeuses.
- Boissons fonctionnels
 - La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes mises en place pour le protocole expérimental. Les résultats dispensés sont ensuite développés dans une troisième partie où ils sont discutés
 - Enfin, en guise de conclusion générale nous synthétisons les résultats obtenus et dégagerons les perspectives de la poursuite de ce travail de recherche.

Partie Bibliographique

Chapitre I. Jus et boissons gazeuses

I.1. Définition et classification

Selon la norme générale Codex pour les jus et les nectars de fruits, les jus de fruits sont classés en sept catégories, parmi lesquelles se trouvent les jus de fruits, les jus de fruits à base de concentré et les nectars. La fabrication des produits est régie par des règlements bien précis qui doivent être strictement respectés (**CODEX STAN 247, 2005**).

I.1.1. Jus de fruits

Le jus de fruits est le liquide non fermenté, mais fermentescible tiré de la partie comestible de fruits sains, parvenus au degré de maturation approprié et frais ou de fruits conservés dans de saines conditions par des moyens adaptés. (**Codex alimentarius, 2005**).

Il possède la couleur, l'arôme et le goût caractéristiques des fruits dont il provient. Il est obtenu par simple pression des fruits, suivie d'une pasteurisation (**Braescoa et al., 2013**).

I.1.2. Concentré de jus de fruits

Un concentré de jus de fruits est obtenu à partir d'un jus de fruits, après élimination physique de l'eau en quantité suffisante pour porter la valeur Brix à un niveau supérieur de 50% au moins à la valeur Brix établie pour le jus reconstitué du même fruit.

Les concentrés de jus de fruits peuvent contenir des substances aromatiques et des composés aromatisants volatils restitués, qui doivent tous être obtenus par des moyens physiques adaptés et provenir du même type de fruit. De la pulpe et des cellules obtenues par des moyens physiques adaptés à partir du même type de fruit peuvent être ajoutées (**Codex alimentarius, 2005**).

I.1.3. Jus de fruits à base de concentré

Il est obtenu par pression des fruits, pasteurisé puis concentré par évaporation de l'eau. À l'embouteillage, le produit est reconstitué avec la même quantité d'eau que celle extraite lors de la concentration. Cette concentration a pour but de faciliter le stockage ainsi que le transport et améliore l'impact environnemental du produit (**Braescoa et al., 2013**).

I.1.4. Jus de fruits obtenu par extraction hydrique

Le jus de fruits obtenu par extraction hydrique est le produit obtenu par diffusion dans l'eau :

- du fruit à pulpe entier dont le jus ne peut être extrait par aucun procédé physique .
- du fruit entier déshydraté.

Ces produits peuvent être concentrés et reconstitués.

I.1.5. Purée de fruits destinée à la production de jus et de nectars de fruits

La purée de fruits destinée à la production de jus et de nectars de fruits est le produit non fermenté, mais fermentescible, obtenu par des procédés appropriés, par exemple en passant au tamis ou en broyant la partie comestible du fruit entier ou pelé sans en prélever le jus. Le fruit doit être sain, parvenu à un degré de maturation approprié et frais ou bien conservé par des moyens physiques ou par un ou plusieurs des traitements.

La purée de fruits peut contenir des substances aromatiques et des composés aromatisants volatils restitués, à condition qu'ils aient été obtenus par des moyens physiques adaptés et à partir du même type de fruit. De la pulpe et des cellules obtenues par des moyens physiques adaptés à partir du même type de fruit peuvent être ajoutées.

I.1.6. Nectar de fruits

Le nectar de fruits est le produit non fermenté, mais fermentescible, obtenu en ajoutant de l'eau, avec ou sans adjonction de sucres, de miel et/ou de sirops à un jus de fruits, un concentré de jus de fruits, une purée de fruit concentré ou à un mélange de ces produits **(Codex alimentarius, 2005)**.

I.1.7. Smoothie

Une nouvelle catégorie de produit est apparue sur le marché : le « Smoothie », qui correspond le plus souvent, dans le secteur des boissons, à une association de jus et de purée de différents fruits. Il n'existe pas de définition réglementaire permettant de contrôler l'usage de cette dénomination, que l'on retrouve dans divers produits du secteur alimentaire (produits laitiers) ou non alimentaire (textile). Lorsqu'ils contiennent uniquement des jus et des purée de fruits, les Smoothie sont réglementairement des jus de fruits, et doivent être dénommés comme tel **(Braesco et al., 2013)**

I.2.1. Les boissons gazeuses

I.2.1.1. Définition des boissons gazeuses

Gazeux se dit ce qui est dans un état de gaz ou s'il s'agit d'un liquide qui dégage des gaz. Le nom de boissons gazeuses est réservé à l'eau gazéifiée sucrée, additionnée de matière Aromatique et de colorants, acidulée et pouvant aussi contenir des extraits des plantes (Menthe, feuille de cola). (**Codex Alimentarius, 2005**)

Les boissons gazeuses appartiennent à la famille des boissons rafraichissantes sans alcool (BRSA) on peut distinguer les boissons à base d'extrait naturels de fruits ou végétaux, eau embouteillée, jus de fruits et nectars...etc. (**Vierling.E., 1998**)

Les boissons gazeuses sont caractérisées généralement par un potentiel d'hydrogène faible, et une concentration de sucre très élevé, avec une faible concentration en oxygène et concentration de gaz carbonique particulièrement sélective et une faible concentration en azote assimilable notamment en acide aminée et vitamine (**Marez., 2003**)

I.2.1.2. Les principaux types de boissons gazeuses.

La décision interministérielle N° 50301 du 22/10/1986 définit les différents types de boissons gazeuses comme suit :

I.2.1.2.1. Les sodas :

Sodas est une charge d'acide carbonique ordinairement additionnée de sirop de fruit ou d'extrait de plante. (**Bourgeois, C.M et al, 1996**)

Ils sont fabriqués généralement par addition de trois volumes d'eau, d'un volume de sirop, de deux volumes de sucre et de gaz carbonique, leur production ne requiert pas l'intervention de techniques industrielles complexes.

Leurs processus de fabrication peuvent nécessiter l'emploi d'acidifiants, d'antioxydants, de colorants, de conservateurs, d'émulsifiants et de gélifiant (**Bourgeois, C.M et al, 1996**)

Les différents types de soda sont classés en trois grandes catégories :

- **Les sodas colas :** ils subissent l'adjonction d'extraits de plantes. Ils existent en

deux classe : avec la caféine (15mg/100ml) ou sans caféine, le colorant le plus dominant est le Caramel. Exemple coca-cola, Pepsi-Cola.

➤ **Les sodas tonics** : ils sont obtenus à partir d'eau gazéifiée, d'huiles essentielles d'agrumes ou bien les extraits de végétaux. Exemples : Fanta, sprite

➤ **Les sodas bitters** : ils sont fabriqués à partir de jus ou d'extraits d'agrumes ou de végétaux. Exemples schweppes. (Marque de boissons qui est exploitée par le groupe Orangina. **(Bourgeois, C.M et al, 1996)**)

I.2.1.2.2. Limonades :

Ce sont des boissons aromatisées dont le parfum le plus utilisée est celui du citron, elles sont limpides, incolores et gazéifiées. Ils contiennent :

- L'eau gazéifiée à l'acide carbonique.
- Saccharose.
- Un ou plusieurs acides organiques.
- Jus de citron ou l'un de ses dérivés. **(Bourgeois, C.M et al, 1996)**

I.2.1.3. Valeur nutritionnelle

Les boissons gazeuses apportent à l'organisme des sucres facilement assimilables donc immédiatement créateurs d'énergies.

Par exemple : les glucides ont un apport énergétique important, un litre de jus apporte 400 calories, une consommation excessive de boissons gazeuses peut contribuer à la prise de poids, à l'ostéoporose et à la carie dentaire. **(Baudat, 2008)**

Les adolescents consomment deux fois plus de boissons gazeuses, la consommation est devenue la norme aux repas et à l'heure de goûter plutôt qu'une gâterie occasionnelle.

Cela est peut être attribuable à la forte publicité que font les fabrications, à l'accès facile à ces boissons et à leur prix abordable. **(Cassuto, 2013)**

I .3. Procédé de fabrication de jus de fruits

I .3.1.Extraction du jus

Les fruits mûrs et sains sont d'abord triés et lavés soigneusement. Ils subissent ensuite un **pressage mécanique pour extraire le jus**. Certains sont broyés au préalable afin de faciliter l'extraction du jus. On obtient ainsi du pur jus de fruits. Vous y trouvez l'essentiel des nutriments présents dans le fruit d'origine : vitamines, minéraux ainsi qu'oligo-éléments.

I .3.2.Tamissage et centrifugation

Cette étape concerne particulièrement les jus de fruits très pulpeux. En effet, le jus peut encore contenir divers résidus non appropriés comme des restes de pépins. Leur élimination passe obligatoirement par un tamissage et une centrifugation. **.[1]**

I .3.3.Pasteurisation

Dans cette étape de la fabrication du jus de fruits en bouteille, le jus est chauffé (en général à une température autour de 90 °C) durant un court laps de temps (inférieur à deux minutes). Le flash pasteurisation, procédé de plus en plus répandu, se fait sur un temps plus court et prend seulement entre 20 et 30 secondes. La pasteurisation ne se fait qu'une fois l'extraction terminée. Elle vise à éliminer les bactéries pathogènes ainsi que les enzymes responsables de la fermentation et de l'oxydation. Cette opération permet ainsi de prolonger la durée de conservation du jus tout en préservant au mieux les qualités nutritionnelles et organoleptiques des jus de fruits. .

I .3.4.Concentration

Cette phase concerne uniquement les jus de fruits à base de concentré et quelquefois les nectars. Elle consiste à faire évaporer une partie l'eau contenue dans le jus afin de réduire les coûts de transport et de stockage. Cette même quantité d'eau extraite est ensuite restituée lors du conditionnement. .

I .3.5.Conditionnement en bouteille

Les jus de fruits sont mis en bouteille et stockés bien à l'abri de la lumière. Les professionnels des jus de fruits utilisent alors des contenants en verre ou en plastique PET stérilisés. Ces matériaux garantissent la préservation des jus de fruits ainsi que de leurs

qualités nutritionnelles et gustatives. Afin de répondre aux besoins de fonctionnalité des consommateurs, les emballages sont présentés dans des formes, capacités et même couleurs variées. La performance des emballages, de plus en plus techniques, combine résistance aux chocs et grande capacité de conservation.

Ces emballages protègent les produits contre :

- L'air, limitant le contact du jus avec l'oxygène, premier ennemi de la vitamine C ;
- Toute perte des qualités nutritionnelles, limitant la dégradation des vitamines, notamment la vitamine C.

La fabrication de jus fruits à base de concentré est résumée sur la figure 1.

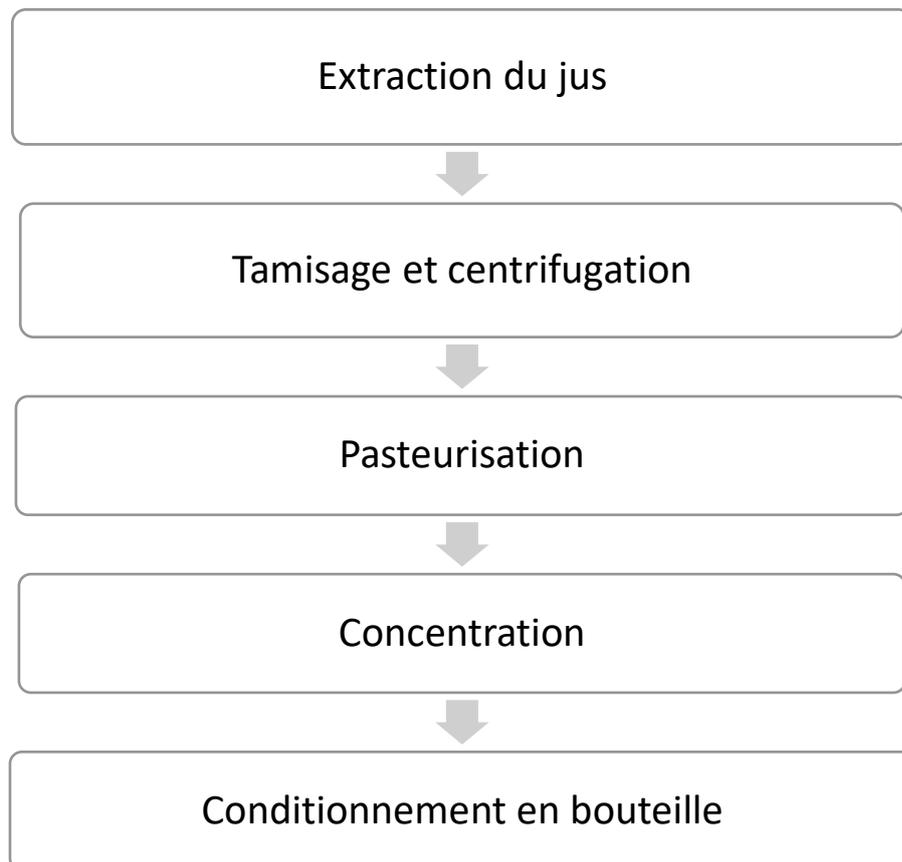


Figure I.1. Diagramme de fabrication des jus de fruits à base de concentré ([https://www.mesjusdefruits.fr/info/fabrication-du-jus-de-fruit-en-bouteille/.](https://www.mesjusdefruits.fr/info/fabrication-du-jus-de-fruit-en-bouteille/))

I .4.Composition biochimique de jus de fruits

La composition d'un jus de fruits dépend de la variété, l'origine, les conditions de croissance du fruit, de sa qualité, et des procédés de traitement et de stockage. En plus de

l'eau, les majeurs constituants des jus de fruits sont les sucres, les acides, les composés azotés, les polyphénols, les sels minéraux et les vitamines(**Camerlingo et al., 2007**).

Tableau I.1 : Composition approximative d'un jus de pomme (**Camerlingo et al., 2007**).

Composant	Concentration (g/l)
Eau	860-900
Sucres	100-120
Fructose	46-70
Saccharose	27
Glucose	20
Acide Malique	3-7
Pectines	1-5
Amidon	0.5-5
Polyphénols	1
Protéines	0.6
Vitamines (acide ascorbique)	0.05
Cendres	2

Chapitre II. Boissons fonctionnelles

II .1. Aliments fonctionnels

II .1. 1. Définition

<<Aliment fonctionnel>> est une expression qui a presque autant de définitions qu'il y a d'auteurs s'y référant. Ces définitions sont soit simples comme :

- Aliment qui fournit des bénéfices nutritionnels au-delà de la nutrition de base
- Aliment ou produit alimentaire commercialisé avec un message de bénéfice pour la santé ;
- Aliment de tous les jours transformé en sauveur de vie potentiel par l'addition d'un ingrédient magique).

Soit plus élaborées :

- Aliment ou boisson dérivée de substances naturelles et consommée comme partie de la nourriture quotidienne et qui, s'il est ingéré, a des effets physiologiques bénéfiques).
- Un aliment qui contient des composants potentiellement bénéfique incluant tous produits, composant au mode alimentaire qui peut fournir un bénéfice pour la santé au-delà de ceux dépendant des nutriments traditionnels qu'il contient. **(Guegnoun et Medjbar, 2018)**

II .1.2. Aliments fonctionnels : Un consensus

Les particularités du concept "aliments fonctionnels" sont :

- D'être un produit alimentaire traditionnel et courant.
- D'être consommé dans le cadre de l'alimentation normale et habituelle.
- D'être composé de constituants naturels, parfois en concentration inhabituelle ou ajouté dans des produits alimentaires qui n'en contiennent pas naturellement.
- D'avoir des effets bénéfiques sur des fonctions cibles, au-delà de ce qui peut être attendu de la valeur nutritive traditionnelle.
- D'avoir la capacité de maintenir voire d'améliorer l'état de bien-être ou de santé ou de réduire le risque d'une maladie.

- D'avoir la capacité d'apporter un bénéfice physiologique qui se traduit par une amélioration de la quantité de la vie.
- D'avoir une ou des allégations justifiée(s) scientifiquement et autorisée(s) par une instance reconnue.

D'un point de vue concret, aliments fonctionnels peut-être un aliment :

- Naturel.
- Auquel un composé a été ajouté.
- Au sein duquel la concentration d'un composant a été augmentée.
- Au sein duquel on a retiré un composant potentiellement délétère.
- Au sein duquel un ou plusieurs composants ont été modifiés.
- Au sein duquel la biodisponibilité d'un ou plusieurs composants a été modifiée.
- Toute combinaison de ce qui précède (**Guegnoun et Medjbar, 2018**)

II .2.1.Boissons fonctionnelles

Une boisson fonctionnelle est classée comme un aliment liquide conventionnel commercialisé pour véhiculer les ingrédients d'un produit ou un bénéfice supposé pour la santé. Bien qu'une boisson « fonctionnelle » puisse être commercialisée en tant que panacée ou substance améliorant les performances, il n'existe aucune preuve scientifique d'effets spécifiques sur la santé de ces boissons ou de leur réglementation uniforme au niveau international, à partir de 2020.

Des exemples de boissons fonctionnelles incluent les boissons lactées, les boissons pour sportifs et de performance, les boissons énergisantes , les thés prêts à boire, les boissons « intelligentes », les boissons aux fruits enrichies , les laits végétaux et l' eau enrichie[2]

II .2.2.Utilisation

Les boissons fonctionnelles sont couramment consommées par les personnes qui tentent d'obtenir des bienfaits pour la santé de leurs aliments et boissons. La commodité et la santé ont été identifiées comme des facteurs importants dans la prise de décision des consommateurs concernant les achats d'aliments et de boissons. Les boissons fonctionnelles sont annoncées comme ayant divers avantages pour la santé.

Par exemple, certains prétendent améliorer la santé cardiaque, l'immunité, la digestion et la santé des articulations, tandis que d'autres se présentent comme rassasiants et énergisants.

II .3.Les éléments nutritifs

II .3. 1. Chlorelle

II .3. 1.1. Définition et origine

Le nom Chlorella provient du mot grec "chloros" (Χλωρός), qui signifie vert, et le suffixe latin "ella" se référant à sa taille microscopique. C'est une micro algue unicellulaire d'eau douce et qui est présente sur terre depuis la période précambrienne il y a 2,5 milliards d'années et depuis lors son intégrité génétique est restée constante. Elle fut découverte en 1890 par un microbiologiste hollandais Martinus Willem Beijerinck.

Au début des années 1900, la teneur en protéines de Chlorella (>55% de poids sec) a attiré l'attention des scientifiques allemands en tant que source nutritionnelle non conventionnelle. Dans les années 1950, la Carnegie Institution de Washington a repris l'étude et a réussi à développer cette micro-algue à grande échelle pour réduire les émissions de CO₂. De nos jours, le Japon est le leader mondial dans la consommation de Chlorella et l'utilise pour le traitement médical entre autres. (Safi et al. 2014).



Figure II.1. : La chlorelle (<https://www.topsante.com/nutrition-et-recettes/les-bons-aliments/les-vertus-sante-de-la-chlorelle-une-micro-algue-d-eau-douce-246831>)

II .3.1.2. Morphologie

Chlorella est une cellule microscopique sphérique de 2 à 10 µm de diamètre et possède de nombreux éléments structuraux similaires aux plantes.

II .3.1.3. Reproduction

La chlorelle est une cellule reproductrice non mobile (autospore) se reproduit asexuellement et rapidement. Ainsi, dans les 24 heures, une cellule de chlorelle cultivée dans des conditions optimales se multiplie par auto sporulation, qui est la reproduction asexuée la plus commune chez les algues. De cette manière, quatre cellules filles ayant leur propre paroi cellulaire sont formées à l'intérieur de la paroi cellulaire de la cellule mère (figures 4)(Safi et al., 2014).

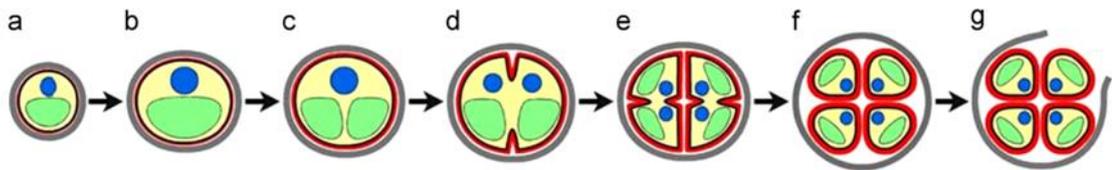


Figure II.2. Un schéma représentant les différentes phases de la formation de la paroi cellulaire de la cellule fille chez *Chlorellavulgaris* : (Safi et al. 2014)

a) la phase précoce de croissance cellulaire ; (b) la phase de croissance cellulaire tardive ; (c) la phase de division chloroplastique ; (d) la phase de division protoplastique précoce ; (e) la phase de division protoplastique tardive ; (f) la phase de maturation des cellules filles (g) la phase d'éclosion (Safi et al. 2014).

II .3.1.4. Culture de la chlorelle

II .3.1.4.1. Conditions de la culture

Lors de la culture des microalgues, des paramètres très importants doivent être pris en compte:

a) Energie lumineuse

Comme tout organisme photosynthétique, la chlorelle trouve sa source d'énergie dans la lumière. Celle-ci est un facteur indispensable à la photosynthèse, provoquant la reproduction des cellules et augmentant ainsi la concentration cellulaire (Greque de Morais et al., 2015).

Elle a aussi une influence notable sur la composition de la biomasse produite et sur la vitesse de croissance. En absence de lumière, il n'y a pas de production de matière organique alors qu'un excès de lumière peut provoquer un phénomène de photo

inhibition. Les meilleures vitesses de photosynthèse s'obtiennent avec une alternance de périodes de lumière et d'ombre(Celis, 2010).

b) Température

La gamme de température la plus appropriée dépend de l'espèce de microorganisme à cultiver. Cependant pour la Chlorelle une température de 25°C est idéale pour sa croissance.

c)Agitation

L'agitation lors de la culture des micros algues, est indispensable pour obtenir des productivités importantes de biomasse. Elle permet de mieux éclairer les cellules, de favoriser l'apport de CO₂ en améliorant le transfert gaz-liquide et d'éliminer l'oxygène produit qui pourrait être toxique à la culture.

d) Dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone est un élément nécessaire pour la photosynthèse. Selon plusieurs études expérimentales, une injection d'air enrichi en CO₂ dans la culture favorise la croissance des algues.

e)Eléments minéraux

-L'azote : est principalement utilisé pour la synthèse protéique. Chez la Chlorelle une augmentation de la concentration en azote dans le milieu entraîne une augmentation de la biomasse, de la quantité de protéines et de chlorophylle par cellule.

-Le phosphore : il est habituellement fourni sous forme d'ortho phosphate et il joue un rôle important dans le transfert d'énergie et la biosynthèse des acides nucléiques dans les cellules. Chez Chlorella, le phosphate a une propriété détoxifiante, en effet, sa présence dans le milieu de culture permet de réduire la toxicité intracellulaire des métaux par la formation des polyphosphates qui se lient aux métaux et réduisent leur toxicité en maintenant un faible niveau cytoplasmique des métaux.

-Le magnésium : est un métal essentiel pour la croissance des algues, il joue un rôle important dans la photosynthèse. Le magnésium est en effet un élément central de la molécule de chlorophylle. Il est impliqué dans l'agrégation des ribosomes dans les unités fonctionnelles et dans la formation de catalase (Guegnoun et Medjbar, 2018)

f) pH

Le pH dépend principalement de la concentration en carbone inorganique dans le milieu, sous forme de CO₂, acide carbonique (H₂CO₃), bicarbonate (HCO₃⁻), carbonate (CO₃²⁻). **Mayo et al.,(1997)** ont montré que *Chlorellavulgaris* peut tolérer un pH très bas jusqu'à 3,0. En revanche, un pH final élevé (11) peut inhiber la croissance d'une autre souche de *Chlorella* (**Guegnoun et Medjbar, 2018**)

II .3.1.4.2.Milieu de culture

Bold's Basal Medium (BBM) est un milieu de sels inorganiques largement utilisé pour la culture d'algues planctoniques d'eau douce.

II .3.1.4.3.Technique de culture

II .3.1.4.3.1. Mode de culture

D'une façon générale, il existe deux modes d'opération pour cultiver les micros algues :

- ❖ Mode continu : Le milieu de culture frais est apporté dans le réacteur de façon continue. Afin que le volume de la culture reste constant, l'excès de liquide contenant des algues est éliminé du réacteur par une surverse. Le but de la culture en continu est de maintenir la concentration cellulaire à l'intérieur du réacteur stable. La culture est débutée en mode batch jusqu'à ce que la concentration cellulaire souhaitée soit obtenue, puis le milieu de culture est injecté en continu.
- ❖ Mode batch : Un inoculum de micro algues est ajouté à un volume de milieu. Durant toute la culture, les éléments essentiels ajoutés vont être consommés par les algues et leurs concentrations vont diminuer dans le milieu. Quand la concentration de biomasse désirée est atteinte, la culture est arrêtée et la biomasse est récoltée (**Guegnoun et Medjbar, 2018**)

II .3.1.4.3.2.Mise en culture et maintenance

La souche mère est obtenus par transfert de l'inoculum sur gélose nutritive ; les tubes gélosés sont conservés à 4° C à l'obscurité et repiqués trimestriellement. Ils permettent l'ensemencement de milieu liquide en flacon d'Erlenmeyer (stade pré culture), puis le passage par repiquage au dixième à des cultures en bouteilles de 1 L ou en flacons d'Erlenmeyer de 500 ml. Le contrôle sanitaire de la souche est réalisé par observation

microscopique, coloration de Gram et développement sur milieu Infusion Broth de Biomérieux (IB) (Naessens, 2013).

II .3.1.5.Composition chimique

Lorsque Chlorella est séchée et réduite en poudre, elle renferme près de 45 % de protéines, 20 % de lipides (dont des acides gras essentiels et polyinsaturés, 20 % de glucides (dont du glucose, fructose et saccharose), 10% de vitamines et de minéraux, et 5% de fibres et de pigments particuliers. Son apport calorique est de 400 kcals par 100 g. (Guegnoun et Medjbar, 2018)

La composition générale de la chlorelle sèche (%) est représentée dans le tableau 2

Tableau II.1. Composition générale de la chlorelle sèche (%) (Safi et al., 2014).

Protéines	42–58
Glucides	12–55
Lipides	5–40
Chlorophylle	1–2

II .3.1.6.Intérêt nutritionnel

La chlorelle contient une importante quantité de vitamines et de minéraux, à hauteur 10% par rapport à son poids. D'après les données de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) il est possible de trouver dans 100 grammes de chlorelle en poudre :

-11 mg de vitamine A, qui est fortement impliqué dans la synthèse des pigments de l'œil et dans le renforcement et la croissance des os. La prise de cette vitamine améliore, par ailleurs, la structure de la peau et lutte contre les boutons d'acné. Pour guise de rappel les besoins quotidiens en vitamine A est de 3400 UI, soit environ 1 mg, pour les hommes, contre 2400 UI pour les femmes ou 0,7 mg environ ;

-3,6 mg de vitamine B2 ou riboflavine, qui assure une importante fonction dans la transformation des aliments simples en énergie au sein de l'organisme. Cette vitamine entre aussi dans le métabolisme de réparation des muscles, donc très conseillée après des activités physiques intenses ;

-0,2 mg de vitamine B12 ou cobalamine, qui jouent un rôle essentiel dans le bon fonctionnement du cerveau et du système nerveux en participant à la synthèse de neuromédiateur. Cette vitamine est aussi un cofacteur dans le métabolisme des cellules ;

-30 mg de vitamine C qui est connu pour son importante contribution au système immunitaire, à la synthèse de globules rouges et de collagène. Cette vitamine possède aussi un rôle dans le métabolisme du fer, en agissant en tant que promoteur de son absorption ;

-11 mg de vitamine E ou tocophérol, qui est réputée pour son action antioxydant au niveau des membranes biologiques, en neutralisant les radicaux libres et bloquant leurs réactions, afin de réduire leur nocivité. En plus de cette fonction, cette vitamine prévient aussi l'agrégation plaquettaire, facteur responsable des thromboses ;

-0,5 mg de vitamine K, qui entre notamment dans la coagulation sanguine, ainsi que dans le métabolisme des tissus et des os ;

-2900 mg de potassium, qui est vital pour le fonctionnement des cellules. Certaines études scientifiques avancent qu'un régime alimentaire enrichi en potassium réduit les risques d'hypertension artérielle (**Guegnoun et Medjbar, 2018**)

-600 mg de calcium, qui est indispensable dans la formation et le renforcement des dents et des os. Ce minéral joue aussi un rôle non négligeable en physiologie cellulaire ;

-400 mg de magnésium, qui est aussi vital pour l'organisme et permet de prévenir divers troubles, comme les crises d'angoisse, les spasmes, la dépression, les troubles cardiovasculaires et l'ostéoporose. L'apport quotidien recommandé en magnésium est de 300 mg par jour ;

-60 mg de fer, qui est nécessaire aux globules rouges et à leurs pigments (l'hémoglobine) ;

- 10 µg de sélénium, qui diminue le risque de survenue de différents cancers, notamment ceux du côlon et de la prostate. Selon certaines études la dose journalière recommandée est estimée à 200 µg(**Guegnoun et Medjbar, 2018**)

La Chlorelle contient d'autres composants aux fonctions non négligeables :

- Les peptides purifiés de *Chlorellavulgaris* peuvent prévenir la destruction cellulaire ;

- Le β -1,3-glucane est un polysaccharide de *Chlorella* ; qui est un immunostimulateur actif, un collecteur de radicaux libres, qui réduit ainsi les lipides sanguins ;
- 18 acides aminés indispensables pour l'organisme et 10 acides gras essentiels et polyinsaturés. (Guegnoun et Medjbar, 2018)

Dans la même portion de 100 g on peut aussi trouver selon l'AFSSA :

- ❖ 3,6 g de chlorophylle, pigment responsable de la coloration verte de cette algue et indispensable pour la photosynthèse. Il est reconnu scientifiquement que la consommation de chlorophylle permet d'augmenter la production d'hémoglobine, de favoriser la cicatrisation des plaies, d'assainir la flore intestinale et de corriger l'équilibre acido-basique de l'organisme ;
- ❖ 5 % de fibre par rapport à son poids, qui est non assimilables par l'organisme, dont la cellulose. Cette dernière enveloppe les toxines, les métaux lourds, les graisses et autres substances non digérés par l'organisme et les évacue par voie naturelle. (Guegnoun et Medjbar, 2018)

II .3.1.7.Intérêt thérapeutique

Chlorella été utilisée comme médecine alternative en Extrême-Orient depuis l'Antiquité et est connue comme un aliment traditionnel en Orient. Elle a des avantages pour la santé, tels que la régulation des troubles comme : les ulcères gastriques, les plaies, la constipation, l'anémie, l'hypertension, le diabète, la malnutrition infantile et la névrose.

La *Chlorelle* revêt de multiples bienfaits thérapeutiques grâce à sa richesse en nutriments.

1.Supplément à l'alimentation

La *Chlorelle* est un excellent complément alimentaire, très conseillée pour les sportifs, les enfants en croissance, les personnes convalescentes et les sujets souffrant de carences nutritionnelles. Ses protéines sont directement et facilement assimilables par notre organisme, contrairement aux autres variantes de protéines végétales qui doivent être entièrement digérées avant de pouvoir agir et être utilisées par le corps. Sa forte concentration en nutriments permet de revigorer rapidement l'organisme et de booster le système immunitaire.

2.Régénérateur cellulaire

Cette algue unicellulaire contribue énormément au développement, au renouvellement, à la division et en la réparation des cellules, grâce à son facteur de croissance 'Chlorella Growth Factor' (CGF). Le CGF est un complexe formé d'acides aminés, de vitamines, de protéines complexes et d'acides nucléiques, nécessaires au développement de certains organismes et micro-organismes. Chez la Chlorelle, cette substance est contenue dans son noyau.

Ce facteur de croissance présente plusieurs actions sur l'organisme, en améliorant entre autres la flore intestinale, en renforçant les défenses immunitaires, bloquant le développement des cellules cancéreuses ainsi que la prolifération des bactéries et des virus pathogènes. Certaines études en laboratoire ont même avancé que le CGF est un facteur de longévité (**Guegnoun et Medjbar, 2018**)

3.Efficacité contre la fibromyalgie

Des études scientifiques ont démontré l'efficacité de la chlorelle dans le traitement de la fibromyalgie, un syndrome qui associe des douleurs articulaires et musculaires diffuses ainsi que de troubles de sommeil et de l'humeur. Le test a été réalisé sur 20 patients présentant des syndromes variés, allant de modérés à sévères. Ces sujets ont été soumis à une dose journalière de 10 g de Chlorellapyrenoidosa pendant 2 mois. Les résultats ont montré que 7 des individus testés ont constaté une amélioration de leur santé ; peu de changement pour 6 autres et aucun pour le reste. Un autre essai, réalisé plus tard, a donné des résultats plus satisfaisants (**Guegnoun et Medjbar, 2018**)

4.Détoxifiant puissant

La Chlorelle peut être utilisée comme détoxifiant, de par sa forte teneur en fibres. Une étude japonaise a prouvé que la prise de cette algue chez les femmes enceintes ont permis de détoxifier leur organisme et par la même occasion leur lait maternel. Aucun changement n'a été remarqué chez les sujets qui n'ont pas inclus la Chlorelle dans leurs habitudes alimentaires (**Guegnoun et Medjbar, 2018**)

5.Action contre l'hypertension artérielle

La prise de chlorelle aide aussi à réduire légèrement l'hypertension artérielle, d'après 2 études cliniques. Les expériences ont été menées sur des personnes hypertendues. Ces

patients ont pris pendant deux mois entiers, 10 g de chlorelle en comprimés. Une baisse légère de la tension artérielle a été remarquée, accompagnée d'une importante réduction du taux de mauvais cholestérol dans le sang et une amélioration de la santé en général

(Guegnoun et Medjbar, 2018)

6.Remède anti cancer

Cette algue verte d'eau douce constitue une médication naturelle contre les cancers, d'après certaines analyses scientifiques. Nombreux d'entre elles ont confirmé que les principes actifs de la chlorelle arrivent à stopper la prolifération des cellules cancéreuses. Des études menées sur des souris ont rapporté que l'administration de *Chlorellavulgaris* ont permis d'inhiber les cellules atteintes **(Guegnoun et Medjbar, 2018)**

7.Autres propriétés médicales découvertes

Une étude effectuée en 2010 a révélé que la chlorelle contient un peptide connu sous le terme de chlorella-11, capable d'inhiber les endotoxines libérées lors de la lyse de certaines bactéries Gram négatif thermostables de nature lipopolysaccharidique et de prévenir ainsi une réaction inflammatoire. Il convient de noter que si les endotoxines atteignent le sang, elles risquent d'entraîner un choc septique souvent mortel **(Guegnoun et Medjbar, 2018)**

8.Application de la chlorelle dans le domaine agroalimentaire

L'utilisation des micro-algues dans le secteur de l'alimentation animale et humaine représente un intérêt considérable du point de vue économique et nutritionnel. Outre leur richesse en acides aminés et protéines, les algues vertes et les cyanoprocaryotes fournissent des lipides, des vitamines hydrosolubles - C, E et des colorants. **(Guegnoun et Medjbar, 2018)**

II .3.2. Graviola (Annonamuricata L)

II .3.2.1. Description et classification botanique

1. Classification botanique

Annonamuricata L. est une plante appartenant à la grande famille des Annonaceae qui regroupe 2.106 espèces reconnues et 128 genres dont celui des *Annona*. **(Zine,S.2018)**

C'est la plus grande famille de l'ordre des Magnoliales. Elle est composée d'arbres, d'arbustes ou de lianes des zones tropicales ou sub-tropicale

Tableau II.2. Taxonomie d'Annonamuricata

(https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRptsearch_topic=TSN&search_value=18092#null)

Taxonomie	
Division	Angiospermes (Magnoliophytes)
Classe	Dicotylédones
sous-classe	Magnoliideae
Ordre	Magnoliales
Famille	Annonaceae
Genre	Annona L.
Espèce	Annona muricata L.

A. muricata L. porte le nom de corossolier et est souvent appelé par le nom de son fruit, le corossol. Il est également désigné par de nombreux noms vernaculaires français comme cachimantier, corossol épineux, cachiman épineux, grand corossol .
(Zine,S.2018)

Dans la littérature, ses noms anglais (soursop), espagnol (guanabana) ou encore portugais (graviola), sont régulièrement cités.

Annonamuricata L. est une espèce ayant plusieurs synonymes scientifiques .
(Zine,S.2018) dont notamment:

- *Annonabonplandiana*Kunth
- *Annonacearaensis*Barb.Rodr.
- *Annonamacrocarpa*Wercklé
- *Annonamuricata* var. *borinquensis* Morales
- *Annonamuricata* f. *mirabilis*
- *Guanabanusmuricatus* M. Gómez

2. Description d'Annonamuricata

L. Annonamuricata L. est un arbre plutôt mince, car pouvant mesurer de 3 à 10 mètres de hauteur avec un tronc d'un diamètre moyen de 15 centimètres. . (Zine,S.2018) Les rameaux bruns rougeâtres, glabres sont ramifiés près de la base. Les rameaux poussent de façon ascendante, mais forment par la suite une sorte de cône inversé, en raison de leur faible diamètre comparé à la taille du fruit qu'ils portent



Figure II.3. Arbre d'Annonamuricata et son fruit (<http://www.ventedecorossol.sitew.fr>)

Les fleurs, solitaires, d'un diamètre d'environ 4 cm, peuvent apparaître partout sur le tronc ou les branches. Elles sont de couleur jaunâtre, avec des sépales pétaloïdes charnus, les 3 pétales internes étant plus petits que les 3 pétales externes 2 à 4 cm de long). Les pétales intérieurs sont recourbés vers le sommet et entourent le mésocarpe (pulpe) de couleur blanc crémeux.



Figure II.4. Fleurs d'Annonamuricata(<https://www.graviola-corossol.biologique.bio/>)

Les fruits d'*Annonamuricata* sont des syncarpes, charnus, ovoïdes, souvent asymétriques et irréguliers. Ils peuvent mesurer de 10 à 20 cm de largeur et de 15 à 35 cm de longueur. Ils pèsent en moyenne entre 4 et 7 kg. De couleur vert foncé devenant vert jaunâtre à maturité, sa peau est coriace, recouverte d'épines non piquantes, charnues, recourbées et molles. Elle se sépare facilement de la chair blanche, fibreuse et juteuse. Les fruits deviennent mous et fragiles à maturité. Leur pulpe, de saveur acide et sucrée, contient de nombreuses graines obovoïdes, brillantes, de couleur brun foncé mesurant de 1,5 à 2 cm de long. Un seul fruit peut contenir plus de 200 graines (Zine,S.2018) .



Figure II.5. Fruits d'*Annonamuricata* (<http://blog.alimentaire-bio.com/pour-prevenir-diminuer-lacceleration-des-cellules-cancereuses-consommez-du-corossol>)

II .3.2.2.Distribution et culture de la plante

1. Distribution

Le corossol est très certainement originaire des Antilles et d'Amérique Centrale. Nous devons la description la plus ancienne connue à Gonzalo Fernandez d'Oviedo en 1526 qui mentionne son abondance à l'état sauvage en Amérique tropicale. Les colonisateurs espagnols auraient ensuite participé à sa propagation vers les autres régions tropicales du Monde. Le corossolier fut l'un des premiers arbres fruitiers à être exporté d'Amérique vers les zones tropicales de « l'ancien Monde » (terme incluant l'Europe, l'Afrique et l'Asie). C'est pourquoi nous retrouvons actuellement le corossol dans d'autres régions tropicales, telles qu'au Sud-Est de l'Asie et de la Chine jusqu'en Australie, en passant par l'Inde, la Thaïlande, les Philippines et les îles du Pacifique. On le trouve que dans les plaines chaudes de l'est et l'ouest de l'Afrique.

2.Culture

Le corossolier, arbre typiquement tropical, peut pousser jusqu'à 1.000 mètres d'altitude. Pour son développement optimal, la température moyenne annuelle doit être comprise entre 25 et 30°C; et la pluviométrie moyenne annuelle d'environ 1.000 mm. (Zine,S.2018) Il est très sensible au froid et exige des températures supérieures à 3°C. En dessous d'une telle température, l'arbre perd ses feuilles, et on note un arrêt de la fructification. Le corossolier nécessite également un bon ensoleillement, l'ombre provoquant une diminution de la production de fruits. De plus, le système racinaire du corossolier étant fragile et peu profond, il doit être protégé des vents violents. Cet arbre aime les sols bien drainés et plutôt acides (pH entre 5 et 7). Peu exigeant, il tolère les sols pauvres, cependant, un sol très alcalin provoquerait des carences nutritionnelles. (Zine,S.2018) Le corossolier pousse rapidement et la production de fruits peut commencer à partir de la deuxième année. Un arbre de 5 ans peut produire jusqu'à 50 fruits. (Zine,S.2018) et il faut environ 6 mois pour que le fruit se développe à partir de la fleur. La floraison et la fructification du corossol ont lieu presque toute l'année, mais dans chaque région du Monde, il existe une saison principale pour la récolte

Tableau II .3. Saisons de récolte du corossol en fonction des régions du Monde (Zine,S.2018)

Zone géographique	Saison de récolte
Mexico	Mai à juin
Brésil	Avril à juillet
Porto Rico	Mars à septembre (pic de juin à août)
Queensland	Avril à juin
Sud de l'Inde	Juin à Septembre
Hawaï	Janvier à avril

II .3.2.3.Composition chimique

Plusieurs études portant sur la composition phytochimique des diverses parties d'Annonamuricata ont démontré la présence de différents composés dont des minéraux, des alcaloïdes (ALKs), des megastigmanes (MGs), des flavonolstriglycosides (FTGs), des acides phénoliques (PLs), des cyclopeptides (CPs), et des huiles essentielles. Cependant, les éléments majeurs dont A. muricata est une source particulièrement riche, sont les acétogénines d'Annonaceae (AAG).

II .3.2.4.Conservation et exportation

Du fait de sa forte activité métabolique après sa cueillette, le corossol est fragile et très vite périssable. Le fruit doit être cueilli encore ferme, mat (les fruits immatures sont brillants) et de couleur vert jaune. Dépassé un certain seuil de maturité, l'acide abscissique et l'éthylène provoquent la chute des fruits qui deviennent alors impropres à la récolte. Un fruit cueilli mûr peut être conservé seulement 2 à 3 jours à température ambiante. Quand le fruit est destiné à l'export, il est conservé à une température moyenne de 12°C avec une humidité relative de 85 à 90%. Dans ces conditions, le fruit peut être conservé 7 à 14 jours. En revanche, l'idéal serait de consommer le corossol dans les 5 à 6 jours après sa cueillette. Au delà, le goût est moins prononcé et une odeur désagréable se développe (Ratsimbazafy, M.2011). La fragilité et la faible conservation de ce fruit représentent un facteur limitant pour sa culture industrielle en vue de l'exportation.

II .3.2.5.Utilisation traditionnelles

- **Alimentation**

La pulpe du corossol est de saveur acide et sucrée. Sa saveur peut rappeler un mélange d'ananas et de fraise avec une pointe d'agrumes. Ceci en fait donc un fruit exotique aromatique apprécié par les populations locales (Philippine, Indonésie, Guadeloupe). Les fruits les moins acides peuvent être consommés crus quand ils sont bien mûrs. Ils peuvent également être coupés en morceaux et servis en salade de fruit ou bien broyés comme dessert, glacé avec du sucre et du lait ou de la crème. Le corossol est également largement utilisé pour préparer des sirops, bonbons, boissons, yaourts, compotes, glaces et milkshakes. (Ratsimbazafy, M.2011)

Les fruits immatures peuvent même être cuits comme des légumes. Ainsi en Indonésie, on peut trouver de la soupe de corossol, et au Brésil, du corossol rôti ou frit. Mais le plus

souvent, le corossol est consommé en boisson rafraîchissante (sa pulpe étant souvent considérée comme trop acide pour être mangée crue). Le jus de corossol est fabriqué de manière industrielle, principalement dans les usines agroalimentaires d'Amérique centrale (comme à Porto Rico), mais également dans une moindre mesure en Asie du Sud-Est (comme aux Philippines). Ce jus étant de couleur blanche, des colorants rose ou vert sont souvent ajoutés pour rendre les boissons plus attractives (**Ratsimbazafy, M.2011**)

- **Ethno pharmacie du corossol**

En médecine traditionnelle, toutes les parties de la plante sont utilisées. Les feuilles ont la plus large utilisation, suivi de l'écorce et du fruit. Ses principaux usages traditionnels sont les suivants:

- Sédatif - Bactéricide, antiparasitaire - Anti-inflammatoire - Astringent - Hémostatique - Antispasmodique, anti-ulcéreux et anti-diarrhéique - Antitussif - Hypotensif - Contre les vertiges - Antipyrétique – Galactogogue(**Ratsimbazafy, M.2011**)

- **Autres usages**

Annonamuricata est utilisé comme insecticide et antiparasitaire. De façon traditionnelle, une extraction aqueuse ou alcoolique est réalisée à partir des racines, des feuilles ou bien des graines du fruit. De plus, de l'huile peut être extraite des graines et être utilisée dans le même objectif. En Ouganda, l'écorce de corossol peut être utilisée pour produire un colorant jaune ou brun et son bois est utilisé pour fabriquer des manches d'outils. Comme c'est souvent le cas dans les zones d'agriculture vivrière, la plante est polyvalente. (**Ratsimbazafy, M.2011**)

II .3.2.6. Propriétés thérapeutiques d'*Annonamuricata* L

1. Activité anti-tumorale

De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* rapportent un effet anti-prolifératif significatif de différents extraits d'*A. muricata* ainsi que d'AAG isolées, et ce, envers diverses lignées de cellules tumorales, que ce soit du poumon, du sein, du colon, de la prostate, du rein ou encore du pancréas (37–41).

Cependant, peu de ces études ont su expliquer le mécanisme d'action sous-jacent. Ces études sont résumées dans le tableau VII ci-dessous (**Ratsimbazafy, M.2011**)

Tableau II .4. Études sur les mécanismes d'action antitumoraux d'*A. muricata*
(Moghadamtousi S et al,2015)

Partie de la plante	Sujet de l'étude	Activité
Extrait acétate éthylique de feuilles	Cellules tumorales de poumon A549	Apoptose médiée par la mitochondrie Arrêt du cycle cellulaire en phase G1
Extrait acétate éthylique de feuilles	Cellules tumorales de colon HT-29 et HCT-116	Apoptose médiée par la mitochondrie Arrêt du cycle cellulaire en phase G1 Suppression de la migration et de l'invasion
Extrait aqueux de feuilles	Prostate de rat	Réduction de la taille de la prostate
Extrait éthanolique de feuilles	Tissus mammaires de souris	Prévention des dommages induit par le DMBA sur l'ADN
Extrait éthanolique de feuilles	Genèse de papillome cutané sur souris	Suppression de l'initiation et de la promotion de la tumeur
Extrait éthanolique de feuilles	Cancer du colon induit par DMH	Réduction de la formation d'ACF
Extrait éthanolique de feuilles	Cellules de leucémie myéloïde chronique K562	Induction de l'apoptose
Infusion aqueuse de feuilles	Cancer mammaire métastatique	Stabilisation de la maladie
Extrait acétate éthylique de feuilles	Cancer du colon induit par Azoxymethane	Réduction de la formation d'ACF

DMH : Dimethylhydrazine, DMBA : Diméthylbenzanthracène, ACF : Foyers de cryptes aberrantes

1.1. Activité cytostatique

Des études ont démontré que le corossol pouvait induire une inhibition sélective des cellules cancéreuses du sein par régulation négative de l'EGFR (récepteur du facteur de croissance épidermique). Le récepteur de l'EGF est un oncogène fréquemment sur-exprimé dans le cancer du sein, et sa sur-expression a été associée à un mauvais pronostic et à une résistance accrue aux anticancéreux. L'EGFR est donc une cible rationnelle pour le développement de thérapies contre le cancer du sein. Il est à rappeler que les médicaments anti-EGFR font partie des thérapies ciblées, et de la famille des inhibiteurs des voies de transduction du signal. De plus, certaines expériences ont montré que certains extraits du fruit d'*A. muricata* pourraient inhiber sélectivement la croissance des cellules du cancer du sein sur-exprimant l'EGFR (cellules MDA-MB-468), mais pas les cellules épithéliales mammaires non cancéreuses (MCF-10A).

Les auteurs concluent que le corossol pourrait avoir des effets anti-croissance sélectifs entre les cellules cancéreuses et non cancéreuses. Concernant le cancer de la prostate, des études portant sur des extraits alcooliques de feuilles de corossol ont rapporté une inhibition de la croissance tumorale. De plus, il a été démontré une synergie entre les constituants des extraits de feuilles de corossol par rapport à ses fractions enrichies en flavonoïdes et en acétogénines (**Ratsimbazafy, M.2011**)

1.2. Activité chimiopréventive

Dans une étude datant de 2015, des chercheurs ont étudié l'effet chimiopréventif potentiel in vivo d'*A. muricata*. Pour cela, ils ont utilisé des rats chez qui ils ont induit une pré-tumeur colo-rectale via l'administration d'azoxyméthane. Ce dernier est un cancérigène qui est activé au niveau du foie et gagne l'intestin par le sang ou par la bile sous forme de conjugué à l'acide glucuronique. Il engendre à court terme (dès deux semaines) des foyers de cryptes aberrantes (ACF), considérés comme de bons marqueurs préneoplasiques, et à plus long terme (6 mois), des tumeurs qui partagent avec les tumeurs humaines de nombreuses similarités histologiques et biologiques, y compris dans les altérations génétiques.

L'administration orale d'extraits alcooliques de feuilles de corossol à deux doses (250 et 500 mg/ kg) pendant 60 jours a réduit significativement la formation d'ACF chez les rats (évaluée par la coloration au bleu de méthylène des échantillons colorectaux). L'analyse

immunohistochimique a montré que cette activité était accompagnée de la régulation positive de Bax (protéine pro- apoptotique) et de la régulation négative de Bcl-2 (protéine anti-apoptotique). Cette étude in vivo a été suivie d'une étude in vitro, qui a permis d'isoler l'annomuricine E comm molécule d'AAG principalement responsable de l'activité apoptotique mitochondriale (**Ratsimbazafy, M.2011**)

Une autre étude a démontré que les extraits alcooliques d'*A. muricata* ont permis, chez un groupe de souris femelles, la diminution de la prolifération de tissus mammaires induite par un agent cancérigène, le diméthylbenzèneanthracène (DMBA). L'électrophorèse sur gel d'agarose a montré que les extraits de plantes ont permis de prévenir dans une certaine mesure, les dommages sur l'ADN provoqués par le DMBA (**Ratsimbazafy, M.2011**)

2. Activité anti-arthritique

A. muricata fait partie des plantes utilisées en ethnopharmacie pour traiter la douleur arthritique. Une étude in vivo utilisant différentes doses (3, 10, 30 et 100 mg/kg) d'extrait alcoolique de feuilles d'*A. muricata* a étudié l'activité antiarthritique dans l'arthrite complète à l'adjuvant de Freund chez le rat (arthrite expérimentale produite chez le rat par l'injection dans les pattes d'adjuvant complet de Freund, un mélange d'huile minérale et d'agents émulsifiants). D'après les résultats, l'administration orale de l'extrait a réduit l'œdème de manière dose-dépendante après deux semaines d'injection. L'extrait à des doses plus élevées supprime significativement l'expression du TNF- α et de l'IL-1 β dans les tissus locaux, l'activité anti-arthritique des feuilles d'*A. muricata* contribuerait à la suppression des cytokines pro-inflammatoires) (**Zine,S.2018**) Par conséquent, le potentiel anti-arthritique de *A. muricata* a été confirmé par les résultats de cette étude in vivo.

3. Activité anticonvulsivante

Dans les pays africains, la décoction des feuilles d'*A. muricata* est traditionnellement utilisée pour contrôler la fièvre et les crises convulsives . Pour étayer l'activité anticonvulsivante des feuilles, Gouemo et ses collaborateurs ont étudié l'effet de l'extrait alcoolique des feuilles contre les crises tonico-cloniques induites par le pentylénetétrazol chez la souris. Les résultats montrent que l'extrait de plante à des doses de 100 et 300 mg/kg diminuait significativement l'incidence et le taux de mortalité des crises toniques. L'administration de l'extrait à des souris a également allongé le début des crises

cloniques. Cette étude a prouvé l'effet anticonvulsivant d'*A. muricata*, mais ne s'est pas penché sur l'isolement d'un composé bio-actif pouvant être utilisé comme médicament anticonvulsivant. Ceci pourrait potentiellement être réalisé dans des études ultérieures. (Zine,S.2018)

4. Activité antidiabétique et hypolipidémiant

Adeyemi et ses collaborateurs ont étudié in vivo les effets antidiabétiques et hypolipidémiants d'extraits alcooliques d'*A. muricata*. Ils ont rapporté que l'injection intrapéritonéale quotidienne d'extraits alcooliques d'*A. muricata* (100 mg/kg) sur des rats diabétiques (induits par la streptozotocine) pendant deux semaines réduisait significativement leur glycémie de 21,64 à 4,22 mmol/L. De plus, l'extrait à la même dose a significativement diminué le cholestérol total sérique, les lipoprotéines de basse densité (LDL) et les triglycérides(Zine,S.2018)Une autre étude similaire a examiné l'extrait aqueux des feuilles d'*A. muricata* contre le diabète induit par la streptozotocine chez le rat et a rapporté les mêmes activités antidiabétiques prometteuses

5. Activité antalgique et anti-inflammatoire

Le traitement oral chez le rat avec des extraits alcooliques de feuille d'*A. muricata* (10, 30, 100 et 300 mg/kg) a réduit de façon significative l'oedème induit par la carragénine chez les rats. Cet effet anti-inflammatoire est accompagné d'une réduction de la migration leucocytaire et du volume d'exsudat (Zine,S.2018)

L'administration orale chez la souris avec le même extrait de plante a montré une suppression significative des contorsions abdominales induites avec l'acide acétique, ce qui présume une activité anti-nociceptive (58,59). De plus, le test au formol (modèle couramment utilisé de la douleur clinique dans laquelle la première phase semble être liée à une stimulation chimique directe des nocicepteurs alors que la deuxième phase dépend de l'inflammation périphérique) ainsi que les réponses à la plaque chauffante ont également corroboré l'effet analgésique marqué des feuilles d' *A. muricata* (Zine,S.2018)

L'effet protecteur des feuilles d'*A. muricata* contre l'arthrite induite par l'adjuvant de Freund chez le rat et l'oedème auriculaire induit par le xylène chez la souris sont associés à une atténuation de l'expression des protéines TNF- α et IL-1 β . Ceci pourrait être utilisé contre l'inflammation aiguë et chronique (59). Les mêmes essais ont montré des activités anti-inflammatoires et analgésiques des fruits d'*A. muricata*, ces effets sont induits par la

suppression des médiateurs inflammatoires et des interactions avec la voie opioïdérique . Ces résultats démontrent des effets anti-nociceptifs et anti-inflammatoires d'A. muricata ce qui vient appuyer sa consommation traditionnelle comme analgésique. (Zine,S.2018)

6. Activité antioxydante

Les dysfonctionnements du métabolisme de l'oxygène sont à l'origine de la production accrue d'espèces chimiques très réactives appelées « espèces réactives de l'oxygène » (ERO), parmi lesquelles se trouvent des radicaux libres (comme $\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2 \cdot^-$, $\text{RO}_2 \cdot$), ainsi que des produits nonradicalaires (comme H_2O_2 , RO_2H). Ces espèces, et en particulier les espèces radicalaires, créent des dommages oxydatifs au niveau des macromolécules biologiques (ADN, lipides, protéines), qui peuvent considérablement perturber la machinerie cellulaire. Les phénomènes de stress oxydant sont impliqués dans de nombreuses pathologies (athérosclérose, diabète, maladies neurodégénératives, cancer...), ainsi que dans les processus de vieillissement. Les antioxydants ont pour rôle d'inhiber, d'une manière plus ou moins efficace, les dommages oxydatifs générés par les ERO. Ces (Zine,S.2018) dernières années, l'identification des antioxydants à partir de produits naturels est devenue un sujet de grand intérêt dans les études.

Des tests sur des extraits aqueux et alcooliques de feuilles d'A. muricata ont montré des activités antioxydantes des deux extraits, via des effets protecteurs de l'ADN contre la toxicité induite par l'oxygène (Zine,S.2018)

Un extrait d'écorce de la tige à un dosage de 200 mg/kg a également montré des effets protecteurs contre le stress oxydatif induit par le tétrachlorure de carbone chez des rats (Zine,S.2018)

Les graines et les feuilles de la plante possèdent des antioxydants enzymatiques, ce qui comprend la catalase et la superoxyde dismutase, et des antioxydants non enzymatiques, ce qui comprend la vitamine C et E . (Zine,S.2018) Ces résultats démontrent donc qu'A. muricata est une source naturelle d'antioxydants.

7. Activité hypotensive

Une étude a évalué les propriétés hypotensives des feuilles d'A. muricata, en administrant un extrait aqueux de feuilles (9,17-48,5 mg / kg) à des rats. Les résultats ont montré une diminution significative de la pression sanguine, et ce de manière dose-

dépendante. L'étude suggère que cet effet pourrait être induit par des mécanismes impliquant l'antagonisme de Ca^{2+} . (Zine,S.2018)

8. Activité antiparasitaire

Le corossol est utilisé comme antiparasitaire de façon traditionnelle dans diverses régions du monde. Certaines études ont donc évalué l'activité antiparasitaire d'*A. Muricata*. Dans l'une d'elles, l'extrait alcoolique de feuille d'*A. Muricata* a été testé contre trois espèces de *Leishmania* (PH8, M2903 et PP75) et contre *Trypanosomacruzi*. L'activité antiparasitaire a été rapportée, avec des valeurs de CI50 (concentration inhibitrice médiane) inférieures à 25 µg / mL (Zine,S.2018)

9. Activité gastroprotectrice

L'activité gastroprotectrice des feuilles d'*A. muricata* a été analysée dans une étude comparant les lésions gastriques induites par l'éthanol chez des rats ayant eu une administration par voie orale d'extrait alcoolique de la plante (200 et 400 mg/kg). Un potentiel antiulcéreux médié par des effets protecteurs contre les lésions de la muqueuse de la paroi gastrique a été démontré(Zine,S.2018) La coloration immunohistochimique a démontré que l'extrait de feuilles diminuerait l'expression de la protéine Bax (protéine pro-apoptotique) et augmenterait l'expression de la protéine Hsp70 (protéine chaperonne, garante de la bonne conformation des protéines de la cellule). L'effet de l'extrait sur les tissus gastriques s'accompagnait d'une augmentation de l'activité des antioxydants enzymatiques ce qui représente un effet conservateur contre le mucus de la paroi gastrique

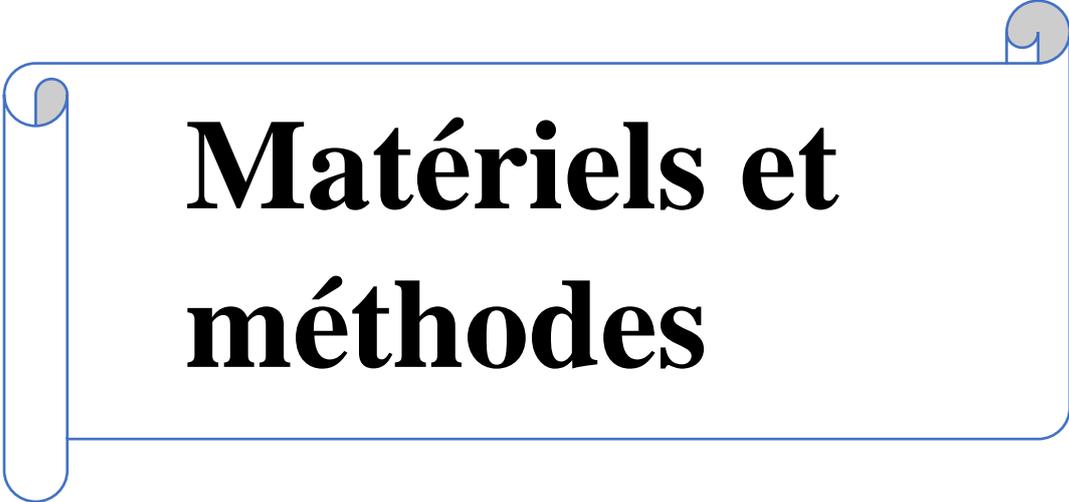
10. Activité cicatrisante

En 2015, une étude s'est portée sur le potentiel cicatrisant de l'extrait alcoolique d'*A. muricata* sur des rats chez qui l'on infligeait des plaies excisionnelles. L'administration topique de l'extrait pendant 15 jours a révélé un potentiel de cicatrisation des plaies évalué par des analyses macroscopiques et microscopiques. Il a été démontré la mise en œuvre d'effets anti-inflammatoires au cours du processus de guérison, tel que la régulation à la hausse des protéines Hsp70 (mise en évidence via analyse immunohistochimique). L'activité antioxydante a également fortifié l'activité cicatrisante des feuilles d'*A. muricata*. La même expérience utilisant l'extrait alcoolique de l'écorce de

tige a également montré une réduction significative de la surface de la plaie à partir du 4ème jour après la lésion. **(Zine,S.2018)**

,

Chapitre III

A decorative scroll frame with a blue border and rounded corners, containing the text 'Matériels et méthodes'. The frame has a small circular tab on the top right and a larger circular tab on the left side.

Matériels et méthodes

III.1. Présentation de l'entreprise SPA Djgaguen

III.1.1. Historique:

Entreprise SPA Djgaguen est une entreprise familiale installée à Blida qui détient et exploite la marque Orangina déposée légalement en Algérie depuis 1966, sans conteste. Elle est née de la rencontre, à l'automne d'un 1935 à la foire de Marseille, d'un inventeur, le docteur espagnol Trigo, et négociant d'huiles essentielles installé en Algérie: Léon Béton. Le docteur Trigo Mitrales, pharmacien à Valence (Espagne) est l'inventeur d'un procédé permettant de conserver le jus d'orange plus lentement : son idée consiste à mélanger un concentré de jus d'orange à de l'eau gazéifiée, le tout étant conditionné dans une bouteille granuleuse et ventrus comme une orange, en guise de bouchon, une fois renfermant de l'huile essentielle d'orange. Trigo baptise son invention « Orangina, Soda de Naranjina » (Naranjina signifie « petite orange » en Espagnol). Léon Béton, quant à lui, élabore et commercialise en Algérie des huiles essentielles de lavande et de géranium. Il s'intéresse également aux jus de fruit, et se demande comment écouler la production d'orange d'un pays qui se couvre d'orangers « un jour, se dit-il: nous connaissons la formule qui permettra de boire le jus de nos oranges aux quatre coins du monde..... ».

Après sa rencontre décisive avec le docteur Trigo, Marseille, Béton rapporte la fameuse formule chez lui, à Boufarik petite ville de la plaine de la Mitidja. Dès sa naissance, la marque est secouée car la guerre d'Espagne et la seconde guerre mondiale interrompent son développement.

Elle a retourné ses inconvénients de naissance (une forme ronde, la pulpe qui colle aux parois du verre) en argument marketing de choc. Avec son slogan devenu fameux, « secouez, secouez moi », la marque a gagné le pari de l'audace publicitaire. Aujourd'hui, un milliard de petites bouteilles ventrues sont vendues dans le monde.

III.2. Procédè de fabrication

III.2. 1.Définition d'une boisson gazeuse Orangina

Orangina est une boisson carbonatée (gazeuse) non alcoolique faite à partir de l'orange. Selon le site web anglophone de la marque « la formule exacte est secret étroitement gardé, mais Orangina se compose d'une teneur élevée de jus et de la pulpe d'orange : la boisson se compose de Jus d'orange, pulpe, huiles essentielles ». La célébrité de la marque vient en partie de l'originalité de sa bouteille, en forme d'orange avec une surface granulée, qui n'a jamais changé depuis sa création.

III.2.2.Matières premières de la boisson gazeuse Orangina

- **L'eau**

L'eau représente le constituant le plus important des denrées alimentaire. C'est un élément essentiel pour l'organisme, et sa consommation journalière, implique une surveillance étroite tant sur les plans organoleptiques, physico-chimiques, et bactériologiques.

L'eau destinée à la fabrication des boissons est une eau de forage traitée, elle doit être limpide, incolore et inodore.

C'est le constituant majeur dans la production du boisson, cette eau est livrée à la consommation humaine donc elle doit être potable non susceptible à porter atteinte à la santé de consommateur.

- **Sucre (saccharose)**

C'est un disaccharide non réducteur d'origine végétale produit par les plantes saccharifères dont la betterave et la canne à sucre. (**Grabkowski ,2006**).

Le saccharose existe dans toutes les plantes contenant de la chlorophylle qu'il soit extrait de la canne ou de la betterave, la fabrication du « Sucre » ne fait appel qu'à des procédés d'extraction et de purification très simple, sans aucune adjonction d'additifs, ni de produits de synthèse. Le saccharose est le sucre utilisé, il est le plus répandu des glucides simples élaborée dans la nature.

Le sucre apporte la saveur sucrée aux boissons gazeuses sucrées. (**Linder et lorient, 1994**)

- **Le concentré d'orange**

Il est préparé à partir du jus naturel qu'on concentre jusqu'à 70% de matière sèche dans des concentrations sous vide.

Composition d'un concentré d'orange:

- ✓ Acide Jus
- ✓ Huile essentielle
- ✓ Pulpe

- **Le Gaz carbonique CO2**

Le CO2 est un gaz incolore, et un élément caractéristique des boissons gazeuses car il attribue à la boisson un gout agréable et rafraichissant et surtout pétillant, aussi inhibe la

croissance microbienne des germes aérobie, et améliore la qualité organoleptique de la boisson. **(Rudi, 2004)**

Le dioxyde de carbone réagit chimiquement avec les molécules d'eau pour former de l'acide carbonique c'est cet acide qui vous stimule la langue lorsque vous buvez une boisson gazeuse. **(Rudi, 2004)**

Le dioxyde carbonique CO₂ est le corps de la boisson gazeuse, il a un rôle important du point de vue bactériologique et organoleptique. **(Vierling, 1998)**

III.2.3. Procède de fabrication boisson gazeuse Orangina

III.2.3. 1. Traitement de l'eau de boisson

L'eau de procès doit satisfaire les exigences d'une eau potable, possédant de bonnes qualités chimiques, microbiologiques et organoleptiques qui la rendent apte à la consommation humaine pour égaler ces qualités, l'eau souterraine ou de surface doit subir un traitement.

A. La Chloration

La désinfection est un traitement visant l'élimination des microorganismes pathogènes, c'est un moyen de fournir une eau bactériologiquement potable.

Ce traitement s'effectue par l'ajout d'un volume bien déterminé de l'hypochlorite de sodium (NaOCl).

Une bonne désinfection nécessite un temps de 20 min à 1 heure de contact entre l'eau et le chlore.

B. Filtre à sable

La filtration est un procédé à clarifier un liquide qui contient des matières en suspensions en les faisant passer à travers un milieu poreux d'un matériau granulaire.

Le filtre à sable est constitué par des couches de sables de qualité et de granulométrie adéquates, à travers les quelles circule l'eau à une vitesse relativement faible.

C. Filtre à charbon actif ou décoloration:

Le filtre à charbon actif a une forme similaire à celle des filtres à sable.

Le charbon actif présente un grand rôle pour cette opération et nécessaire pour éliminer la couleur, l'odeur indésirable, les micropolluants organiques et aussi l'élimination de chlore

.C'est aussi un traitement particulièrement efficace pour enlever la matière organique particulièrement quand la charge moléculaire est importante et la polarité est faible.

D. Adoucissement:

L'adoucissement est un procédé de traitement consiste à réduire la dureté de l'eau (due à la présence des sels alcalino-terreux, carbonates, sulfate, chlorure de calcium et de magnésium). par ailleurs (puisque on parle de l'eau de boisson) L'eau adoucie n'est pas incrustante et mousse facilement avec le savon.

L'adoucissement est effectué par passage de l'eau à travers un échangeur de cations (permutation des ions calcium avec les ions de sodium) régénérés avec des chlorures de sodium. Cette opération limite aussi le risque de colmatage des installations par accumulation de calcaire.

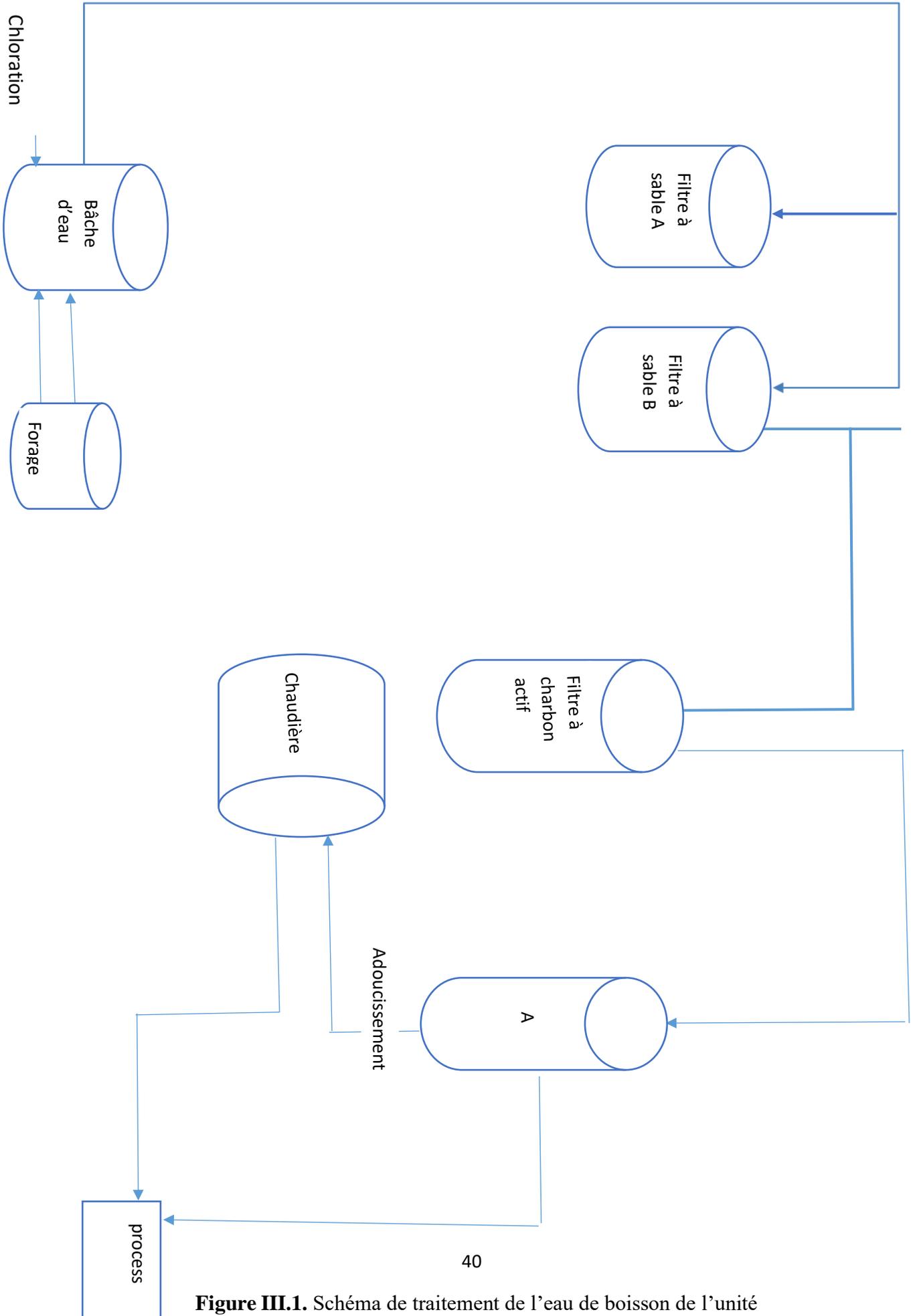


Figure III.1. Schéma de traitement de l'eau de boisson de l'unité Orangina

Dans l'unité Orangina, la chaîne de fabrication de la boisson est une chaîne renouvelée composée de six étapes de production :

- ✓ Préparation de la boisson
- ✓ Lavage des bouteilles
- ✓ Remplissage
- ✓ Capsulage et datage
- ✓ Pasteurisation
- ✓ Étiquetage et Stockage

III.2.3.2. Préparation de la boisson gazeuse Orangina

Cette étape se déroule en trois phases:

A. Préparation de sirop blanc:

Cette étape consiste à mélanger le sucre et l'eau traitée à des quantités définies.

On remplit la cuve par la quantité d'eau froide nécessaire, puis on met en marche l'agitateur et on introduit le sucre (Saccharose).

Pour la préparation du sirop, il faut ouvrir avec précaution le sac à sucre et les verser dans la cuve de préparation de manière progressive pour faciliter la dissolution. et on mélange à l'aide d'un agitateur pendant 10min au minimum.

N.B:

Cette opération ainsi que les opérations suivantes se réalisent au froid.

B. Préparation du sirop composé

La boisson Orangina se prépare à partir d'un mélange du concentré d'orange avec le sirop blanc. (L'opération s'effectue dans la même cuve).

C. Obtention d'une boisson gazeuse (Produit fini):

Pour obtenir le produit fini (boisson gazeuse) on ajoute l'eau traitée et CO₂, Cette opération se fait automatiquement à l'aide d'une pompe doseuse: **PRIMIX**.

- **Fonction du Primix**

Le **primix** est composé de trois réservoirs, à ce niveau s'effectue le dosage du sirop composé

- ✓ **Le premier réservoir:**

L'eau traitée est refroidir par l'échangeur de chaleur, puis désaérée par l'intermédiaire d'une pompe à vide.

- ✓ **Le deuxième réservoir: (mélange eau+CO₂)**

La carbonations consiste à dissoudre du gaz carbonique dans un liquide afin de donner son caractère gazeux. C'est une carbonations avant dosage (le mélange eau et CO₂)

- ✓ **Le troisième réservoir:**

Ce dernier mélange par la suite passe avec le sirop composé par une pompe doseuse qui est réglée de façon à obtenir une boisson au degré de Brix° spécifique à la boisson Orangina.

L'eau préalablement carbonatée avec la quantité de CO₂ et le sirop sont mélangés dans une cuve tampon, dans des proportions étudiées, de façon à obtenir une valeur de Brix° comprise entre 12° et 13° et de pression de gaz de 14 Bar.

III.2.3.3. Lavage des Bouteilles

La bouteille devra avant tout être lavée avant d'être remplie,

Le lavage des bouteilles a pour but de :

- Provoquer un nettoyage physique par l'élimination de toutes les particules externes, internes et étiquettes.
- Détruire toutes les germes pathogènes et ceux nuisibles à la stabilité du liquide à embouteiller.
- Eliminer toutes les impuretés d'origines organiques.

Après la mise en marche de la chaudière, la convoyeur qui fonctionne en permanence amène des bouteilles en verre (25l ,1l) d'Orangina vide chargées manuellement au convoyeur de la laveuse, là on met en contacte la bouteille avec une solution détergente de soude caustique et l'eau chaude.

III.2.3.4. Remplissage

Une fois l'opération du lavage est terminée, les bouteilles seront transportées vers le monobloc pour l'opération de remplissage et capsulage. La technique utilisée est le remplissage sous pression: le produit est pompé vers le robinet de remplissage qui fait l'étanchéité avec la bouteille. Ce robinet est équipé d'un tube de débordement.

III.2.3.5. Capsulage et datage

Cette opération a pour objectif de rendre la bouteille étanche vis-à-vis de l'extérieur. Le système le plus répandu est la fermeture par capsulage. L'étanchéité est réalisée lorsque le joint situé à l'intérieur du système de fermeture et comprimé entre le bouchon et le goulot de la bouteille. Chaque bouteille remplis et capsulée sera transportée par le convoyeur vers le poste de datage. L'opération de datage se fait par l'appareil qui marque la date de péremption, de fabrication ainsi que l'heure de fabrication et le numéro de lot sur les bouchons des bouteilles par une encre visible lisible et indélébile. Puis les bouteilles sont transportées vers le poste de pasteurisation.

III.2.3.6. Le traitement thermique (Pasteurisation):

La pasteurisation est un traitement thermique relativement modéré dont les effets sont différents. Selon les produits qui y sont soumis.

Au niveau de l'unité d'Orangina, on applique le traitement LTLT « Low temperature Littel Time», C'est le traitement le plus adéquat pour la conservation de la boisson Orangina qui permet d'assurer la stabilité microbiologique, et d'obtenir la stabilité biochimique et physique en inactivant les enzymes, qui pourraient altérer le produit ou le rendre impropre à la consommation. La durée de cette pasteurisation est de 20min à une température de 75°C.

III.2.3.7. Etiquetage et Stockage:

L'étiquetage consiste à mettre les étiquettes en plastique sur les bouteilles qui assure la présentation du produit aux clients.

L'étiquetage contient toutes des informations nécessaires:

- Nom du produit
- Composition, valeur nutritionnelle.

- Durée de conservation
- la quantité nette
- Numéro de téléphone
- Adresse et email de l'unité.



Figure III.2. Etiquette

Les bouteilles sont conditionnées dans des caisses en plastique. Ces dernières sont déposées d'une manière superposable sous forme de lot dans un magasin propre, frais, sec à l'abri de la lumière.

Les bouteilles
magasin à

sont stockées dans un
température ambiante



Figure III.3. Bouteille de produit fini

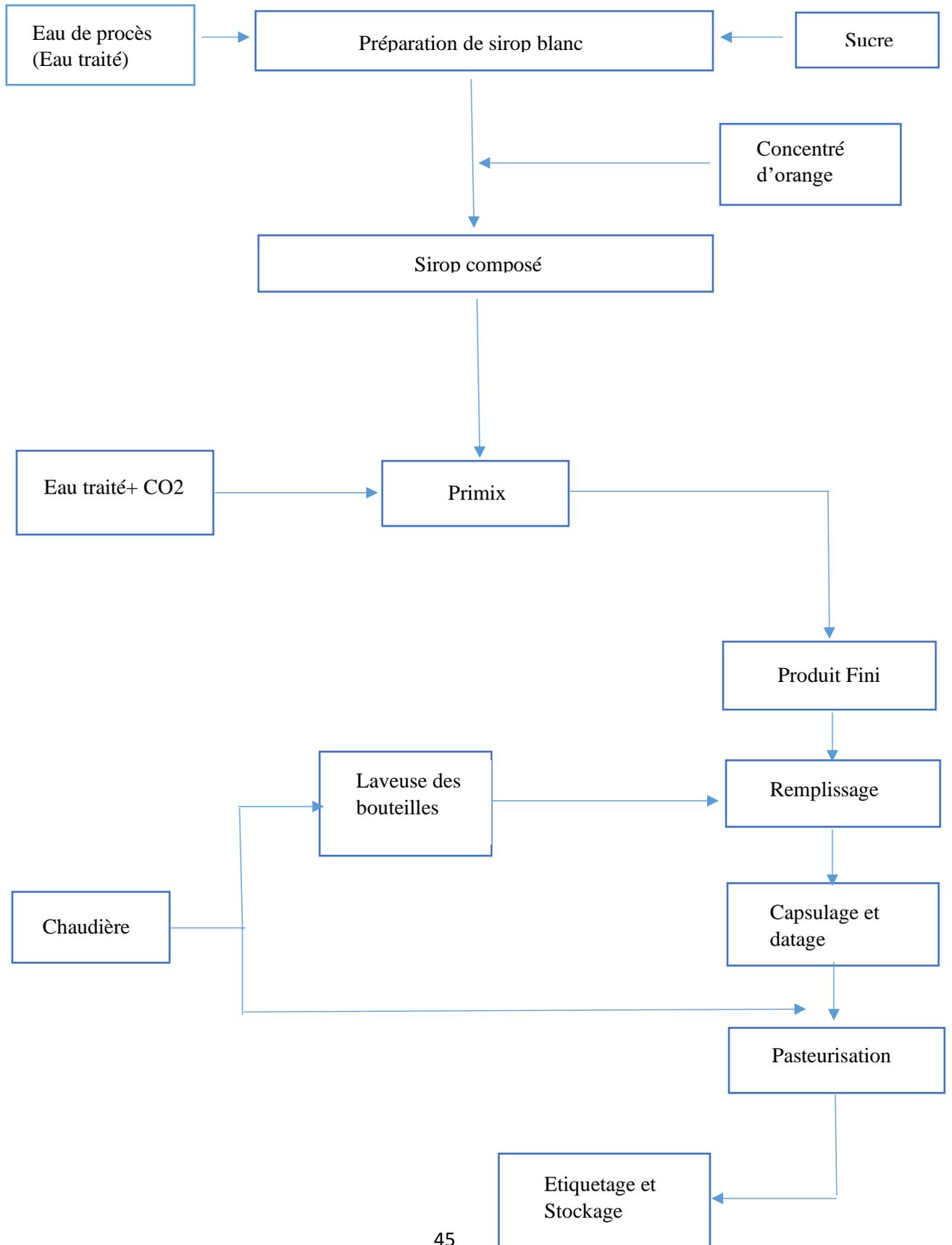


Figure III.4. Diagramme de fabrication de boisson gazeuse Orangina

Notre étude a été réalisée au niveau de laboratoire de contrôle de qualité de entreprise SPA Djgaguen de Blida pendant un mois

Nous avons proposé à l'entreprise de faire un enrichissement en utilisant 3 différentes doses de Graviola et chlorelle dont la composition de chaque échantillon est la suivante :

Tableau III.1. les différentes concentrations de Graviola et chlorelle dans **1l**ite de boisson gazeuse Orangina

Echantillon	01	02	03	04
Compositions	0,5 g Graviola	01g Graviola	1,5 g Graviola	Témoin
	0,5g chlorelle	01g chlorelle	1,5 g chlorelle	0g

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

III.3. Matériels

II. 3.1. Matériel d'étude

II.3.1.1. Matières premières

- L'eau de process
- Les jus à base de pulpe d'orange
- La pulpe d'orange

III.3.1.2. Matériel végétal

La Graviola et la chlorelle (Super Food) : Notre Graviola et chlorelle et sous forme de poudre fabriquée en Algérie (laboratoire de la maison des herbes, EL IBRIK) d'une quantité de 10 grammes, elles sont de haute qualité nutritionnelle, 100% naturelle.



Figure III.5. La Graviola (*Annonamuricata* L) utilisée



Figure III. 6. la chlorelle

III.3.2. Matériel non biologique

III.3.2.1. Verrerie et appareillage : voir annexe I.

III.3.2.2. Milieux de culture : voir annexe II.

III.3.2.3. Réactifs et solutions : voir annexe III.

III.3.3. Echantillonnage

Notre recherche expérimentale est basée sur trois produits différents : l'eau, le produit fini, : Le produit fini enrichie en Graviola et chlorelle

III.3. 3.1. Eau

Avant chaque prélèvement de l'eau à analyser il faut désinfecter les mains et le robinet de réservoir avec de l'alcool 96° puis flamber ce dernier et laisser couler pendant deux minutes pour éliminer d'éventuels contaminants présent dans la conduite, prélever 250 ml d'eau dans des flacons stériles, flamber le col du flacon et fermer, ensuite porter au laboratoire pour analyser.

III.3.3.2. Le produit fini

✓ Prélever 5 bouteilles en fin de chaîne, à la sortie de pasteurisateur .

III.3.3.3. Le produit fini enrichie en Graviola et chlorelle

- **Mode opératoire**

✓ Prendre trois bouteilles d'un litre de boisson gazeuses Orangina.

- ✓ Peser différentes doses de Graviola et chlorelle (0,5g-1g-1,5g) en utilisant une balance à précision électrique.
- ✓ Mélanger la boisson avec les doses de Graviola et chlorelle choisies.
- ✓ Agiter bien à l'aide d'un agitateur pendant quelques minutes.
- ✓ Verser la boisson enrichie dans des flacons stériles.
- ✓ Effectuer un traitement thermique (une Flash pasteurisation) 95°C pendant 30 secondes.
- ✓ Les mettre à une température ambiante.



Figure III.7. Pesage des doses de Graviola et chlorelle



Figure III.8. Le produit fini enrichie en Graviola et chlorelle

III.3.4. Méthodes d'analyses physico-chimiques :

Les analyses physico-chimiques à pour but de conserver ses caractéristique nutritionnelles et organoleptiques.

Les analyses physicochimiques effectuées selon les méthodes officielles normalisées par JORA (1989) et appliquées au niveau du laboratoire physicochimique de l'entreprise SPA Djaguen.

III.3.4.1. Analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau

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

III.3.4.1.1. Détermination de titre alcalimétrique (TA): NF T91-036

Le titre alcalimétrique ou TA permet de connaître la teneur de l'eau à analyser en hydroxydes et seulement la moitié de la teneur en carbonates et un tiers des phosphates présents.

- **Définition :**

Le titre alcalimétrique TA mesure la teneur de l'eau en hydroxyde et carbonates selon la formule suivante :

$$TA = [OH] + \frac{1}{2} [CO_3^{2-}]$$

- **Principe:**

Cette technique est basée sur la neutralisation d'un volume d'eau par un acide sulfurique ou Hcl 0.1N dilué en présence d'un indicateur coloré.

- **Mode opératoire:**

Dans un bécher de 200 ml, on met 100 ml d'eau à analyser, on ajoute une a deux phénolphtaléine comme indicateur coloré, une coloration rose doit se développer si la réaction est positive.

Dans le cas contraire ou la solution est incolore le TA est nul.

Dans le cas où la réaction est positive on verse doucement l'acide sulfurique (H₂SO₄ de 0,02N) dans un bécher à l'aide d'une burette, en agitant constamment, et ceci jusqu'à décoloration complète de la solution.

- **Expression des résultats :**

$$TA = V$$

TA : Titre alcalimétrique en °F.

V : Volume d'acide sulfurique en ml pour obtenir le virage.

III.3.4.1.2.Détermination de titre alcalimétrique complet (TAC):NFT90-036

Le titre alcalimétrique complet (TAC) permet de connaître la teneur totale de l'eau en hydroxydes, carbonates, hydrogénocarbonates alcalino-terreux ; selon la formule suivante :

$$\text{TAC}=(\text{OH}) + \frac{1}{2}(\text{CO}_3) + (\text{HCO}^{-3})$$

- **Mode opératoire:**

On Utilise l'échantillon traité précédemment ou le prélèvement primitif s'il n'y pas eu de coloration auquel on ajoute deux gouttes de solution de méthyle d'orange et on titre à nouveau avec la même solution acide sulfurique, jusqu'au virage du jaune au jaune orange.

- **Expression des résultats :**

$$\text{TAC} = \text{V} - 0.5$$

TAC : titre alcalimétrique complet en °F.

V : Volume d'acide sulfurique en ml verse depuis le début de dosage.

III.3.4.1.3.Détermination de titre hydrotimétrique TH de l'eau :(AFNOR ,1986)

Cette méthode permet de doser rapidement les deux ions de calcium et de magnésium.

Le titre TH représente la dureté totale de l'eau exprimée par la présence de sels de calcium et de magnésium.

- **Principe:**

C'est une méthode qui consiste à doser un volume d'eau avec le sel disosique de l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA), en présence d'indicateur coloré : Le noir Erichrome T (NET), a 0,5 % de la solution tampon ammoniacal

- **Mode opératoire:**

On prend 50 ml d'eau auxquels on ajoute 5 ml de solution tampon ammoniacal et quelques gouttes de l'indicateur coloré NET ; le mélange est titré par la solution éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) (0,01N) jusqu'à virage de la couleur du violet au bleu.

- **Expression des résultats:**

$$TH = V * 2$$

TH : titre hydrométrique en °F.

V : volume de la solution EDTA utilisé pour titrage en ml.

III.3.4.1.4.Determination des chlorures (Cl⁻) :(NF T90-014)

Méthode de Mhor

Doser les chlorures qui sont l'ensemble de chlore sous forme Cl⁻ ou NaCl en solution.

- **Principe:**

Les chlorures sont dosés en milieu neutre, par solution de nitrate d'argent, Ce titrage est fait en présence de Bichromate de potassium comme indicateur coloré, La fin de la réaction est indiquée de la teinte rouge caractéristique d'argent.

- **Mode Opératoire:**

On introduit 100 ml d'eau à analyser dans une fiole conique de 250ml.On ajoute 10 gouttes de bichromate de potassium (K₂CrO₄) a 10 % .On titre avec la solution de nitrate d'argent (AgNO₃)

a (0,1N) jusqu'au virage du jaune au rouge brique.

- **Expression des résultats:**

$$Cl = V * 35.5$$

Cl : le volume de nitrate d'argent utilisé pour titrage en ml.

35.5 : la masse moléculaire de chlorure.

Les chlorures sont exprimés en mg de Cl⁻ par titre d'eau.

III.3.4.1.5.Détermination du chlorure libre «méthode par comparateur palintest » (NF T90-37)

La détermination du chlorure libre (Cl₂) qui représente association de deux molécules de chlore (Cl⁻) pour donner une substance active de chlore.

- **Principe :**

Le comparateur palintest fonctionne avec des disques colorées interchangeables, il sert à comparer la couleur obtenue dans le test avec de cellules (couleurs a du disque coloré)

- **Mode Opérateur :**

On remplit le tube avec l'échantillon jusqu'à la marque adéquate (10 ml), on ajoute après la pastille de diethylparaphenylene diamine (DPD)

On place le tube traité au compartiment dans le comparateur afin de tenir compte de la couleur éventuelle de l'échantillon.

On se positionne face à une source lumière blanche et on fait tourner le disque jusqu'à l'obtention de deux couleurs identiques.

- **Expression des résultats:**

La présence du chlore libre se traduit par une coloration rosâtre le résultat apparait directement dans le trou, sur le devant du boitier.

III.3.4.1.6.Mesure du pH

La mesure de pH s'effectue en prolongeant l'électrode en verre dans un bécher contenant une quantité d'eau, et la lecture se fait directement sur le pH mètre.

III.3.4.2.Analyses physico-chimiques effectuées sur le produit fini et le Le produit fini enrichie en Graviola et chlorelle

L'analyse de la boisson, pour la mesure des paramètres ; degré Brix, pH, acidité titrable.

- **Objectif :**

La détermination de la qualité finale de boisson, et pour s'assurer que ce produit conforme aux normes de JORA.

III.3.4.2.1.L'extrait soluble totale (Degrè Brix)

Le Brix est la teneur en matière sèche soluble dans 100g du produit exprimé en équivalent de saccharose. Cette concentration est exprimé en pourcentage de masse (g/100g) ou en degré Brix.

- **Principe:**

Il est convenu d'appeler indice réfractométrique (IR) ou degré Brix, le pourcentage de matière solubles contenues dans le concentré d'orange qui est mesurée par un réfractomètre.

Un degré Brix correspond à une concentration en sucre de 1g pour 100g de solution.

- **Mode opératoire :**

- ❖ Nettoyer et sécher le prisme par l'eau.
- ❖ Etalonner le réfractomètre avec l'eau distillée
- ❖ Adapter l'échantillon à T=20°C.
- ❖ Déposer quelques gouttes d'échantillon
- ❖ Rabattre le volet sur le prisme, en exerçant une petite pression de façon que le produit soit étalé de manière uniforme et sans bulles d'air.
- ❖ Attendre quelques secondes que le produit soit à la même température que le prisme.
- ❖ Exposer le réfractomètre à la lumière puis regarder à travers l'optique.
- ❖ Noter l'indice de réfraction, su celui-ci n'est pas identique à l'indice d'étalonnage fourni dans la documentation ajuster avec la vis de réglage.

- **Expression des résultats :**

° Brix d'un semi-produit (sirop composé) est de : 45°

°Brix d'un produit fini est de 12 à 12,1°4



Figure III.9.le réfractomètre

III.3.4.2.2.Le pH

- **Principe :**

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

- **Mode opératoire :**

- ❖ Mettre le pH-mètre sous tension
- ❖ Mettre l'appareil sur pH
- ❖ Introduire l'électrode dans l'échantillon
- ❖ Laisser la valeur indiquée se stabilisée
- ❖ Faire la lecture du pH directement sur l'écran
- ❖ Rincer l'électrode par l'eau distillée après chaque utilisation

- **Expression des Résultat :**

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

III.3.4.2.3.L'acidité titrable :

- **Principe :**

L'analyse de l'acidité correspond aux sommes des acides organiques par la méthode de titrage l'aide d'une base de NaOH en présence de phénolphtaléine (indicateur coloré)

- **Mode opératoire :**

Prélever 10 ml de solution (produit fini) dans un bécher, ajouter ensuite 1ml de phénolphtaléine toute en agitant verser a laide d'une burette la solution NaOH jusqu'à l'obtention d'une couleur rose.

- **Expression d Résultat :**

Acidité est exprimé en gramme par litre selon la formule suivante :

$$\text{Acidité} = V * 0,64$$

Avec :

V : volume de NaOH

0.64 : Coefficient d'acidité

Le résultat obtenu est exprimé en (g/l)

III.3.4.2.4. Détermination de la teneur en protéines (Méthode de Kjeldahl)

Nous avons effectué cette méthode au niveau de laboratoire d'Institut des sciences et techniques appliquée.

- **La minéralisation :**

- **Mode opératoire**

Pour doser les protéines contenues dans l'échantillon par la méthode de Kjeldahl, on procède d'abord à la minéralisation. Pour cela, on introduit dans un matras (fiolle) :

- 2g du catalyseur c'est un mélange entre le sulfate de potassium (1g) et le sulfate de cuivre pentahydraté (10g) (soit sous la forme de cristaux, soit sous la forme de pastille)



Figure III.10. Pesage de catalyseur

- 5ml de l'échantillon. (le témoin , Boisson Orangina et le le produit fini enrichi en Graviola et chlorelle)
- 20 ml d'acide sulfurique
- On remarque le changement de couleur vers le noir.
- Puis on ajoute la pierre ponce pour éviter l'ébullition lors de la minéralisation.

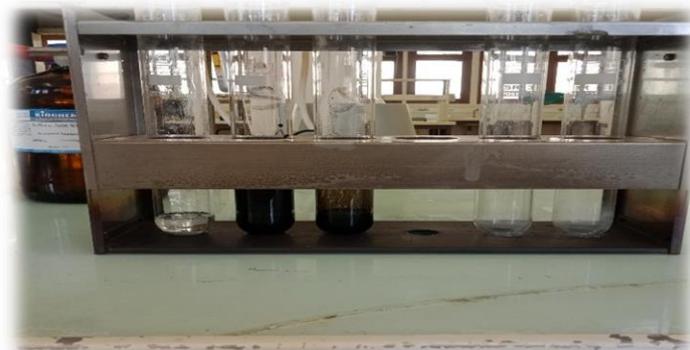


Figure III.11. les matras

La minéralisation se fait dans un minéralisateur pendant 30 min à 60 % d'énergie ensuite 30 min à 70 % puis 30 min a 80%, et enfin 1h à 85 %

On obtient un minéralisant jaune.



Figure III.12.Le minéralisateur



Figure III.13.Le minéralisant

• **La distillation :**

On introduit dans chaque erlenmeyer (3) :

- 20 ml d'acide borique
- 0,5 ml d'indicateur coloré Tachiro (rouge de méthyle et bleu de bromothymol)
- On verse le minéralisant dans des fioles jaugé et on accomplit le volume avec eau distillée jusqu'à le tri de jauge (100 ml)



Figure III.14. Acide borique et indicateur de Tachiro



Figure III.15. le minéralisant et eau distillée

- Ensuite, on verse 20 ml du minéralisant et eau distillée dans les matras.
- On place les matras dans un distillateur à gauche, l'erenmeyer contenant l'acide borique est placé à droite.
- On presse le bouton "REGEANT"
- la libération de la soude (NAOH)
- Après 10 min on remarque le changement de couleur de minéralisant au bleu ciel, et le changement de la couleur de la solution d'acide borique du violet vers le vert.



Figure III.16.Le distillateur



Figure III.17. changement de couleur

- **Le titrage :**

La solution contenant dans l'erenmeyer est par la suite titrée par HCl à l'aide d'un agitateur jusqu'à le virage de couleur vers le rose.

Avant le titrage on mesure le pH de la solution à l'aide d'un pH mètre.

Quand le virage s'effectue le pH passe de 7 au 4,6.



Figure III.18.Le titrage



Figure III.19. Le pH mètre

Les résultats sont calculés selon les formules (11) et (12) :

$$NT \% = (V1 - V2) \times 0,14 \times 10 \times N / P \quad (11)$$

$$\text{Taux de protéines (g/100ml de jus)} = 5,95 \times NT \quad (12)$$

Avec, V1 : volume d'H₂SO₄ nécessaire au titrage de l'échantillon en ml ; V2 : volume d'H₂SO₄ nécessaire au titrage du blanc en ml ; N : normalité de l'acide sulfurique (0,1N) ; P : masse de l'échantillon de jus en g et 5,95 : facteur protéique de la chlorelle.

III.3.4.2.5. Détermination du Taux de sucres

Nous avons effectué cette méthode au niveau de laboratoire du contrôle de qualité et de conformité "ALTESS LAB " par la méthode de BERTRAND.

III.3.4.2.6. Détermination du Taux de lipides

Nous avons effectué cette méthode au niveau de laboratoire du contrôle de qualité et de conformité "ALTESS LAB " par la méthode d'extraction SORXLET.

III.3.5. Méthodes d'analyses microbiologiques

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

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

- **Préparation de la solution mère et des dilutions décimales :**

- **Cas des produits liquide : (voir Annexe IV)**
 - ❖ **Dilution décimales**
 - Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1ml de la solution mère dans un tube stérile contenant au préalable 9ml du diluant Tryptone Sel Eau (TSE), on obtient donc la dilution 10⁻¹, mélangé soigneusement
 - A l'aide d'une autre pipette stérile introduire 1 ml de la dilution (10⁻¹) obtenue dans un tube stérile contenant au préalable 9 ml du diluant TSE, on obtient la dilution 10⁻² mélange soigneusement ; De la même façon préparer les dilutions (10⁻³).

III.3.5. 1. Analyses microbiologiques effectuées sur l'eau de process

III.3.5.1.1. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) (voir Annexe V)

En milieu solide Un micro-organisme est un organisme vivant qui n'est pas visible à l'œil nu ; il faut un microscope pour l'observer. On parle également de microbe).

Le nombre de microorganisme totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de l'état de décomposition de produit et peut constituer un indicateur de la qualité sanitaire

- **Principe**

Cette méthode est basée sur le fait qu'une cellule, placée sur un milieu solide favorable, donnera naissance à une colonie macroscopiquement visible

- **Mode opératoire**

Mettre 1 ml d'eau dans une boîte de Pétri vide préparées à cet usage et numérotées. Verser ensuite environ 20 ml de gélose PCA, fondue faire des mouvements circulaires et de va-et vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée et laisser refroidir.

- Une série de boîtes sera incubée à 37°C, pendant 24 à 48 h et servira, à la recherche de germes

- l'autre série sera incubée à 22°C pendant 24 à 48 h et servira à la recherche de germes fécaux

- **Lecture**

-Les colonies de GAMT se présentent sous forme lenticulaire en masse.

-La lecture se fait chaque 24h.

- **Dénombrement**

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

III.3.5.1.2. Recherche et Dénombrement des coliformes fécaux et totaux (voir Annexe VI)

- **Mode opératoire**

En microbiologie alimentaire, on appelle « coliformes » les entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz à 30°C au bout de 24h de culture . Les coliformes indiquent le plus souvent une contamination d'origine fécale et permettent d'apprécier le risque d'une présence de germes pathogènes

- **Principe**

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

Les coliformes totaux sont recherchés à +30°C ou +37°C, tandis que les coliformes fécaux sont recherchés à +44°C.

- **Mode opératoire**

- **Test de présomption**

- ✓ Porter 3 fois 10ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche du Durham ;
- ✓ Porter 3 fois 1ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham ;

- ✓ Porter 3 fois 0.1ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham
- ✓ Chasser l'air présent dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- ✓ L'incubation se fait à +37°C pendant 24 à 48 heures
 - **Lecture**

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

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

a) Noter le nombre de tubes positifs dans chaque série et se rapporter à la table de nombre le plus probable. pour obtenir le nombre de coliformes totaux dans 100ml d'eau à analyser.

➤ **Test de confirmation**

Les tubes BCPL trouvés positifs lors du Test de Présomption feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une pipette Pasteur dans un tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche ;

Chasser le gaz présent éventuellement dans les cloches

Bien mélanger le milieu et l'inoculum ;

L'incubation se fait cette fois-ci à +44°C pendant 24heures

- **Lecture**

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

III.3.5.1.3. Recherche et dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réducteurs (voir AnnexeVII)

- **Mode opératoire**

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

- **Lecture**

Dénombrer les colonies caractéristiques dans le ou les deux tubes contenant moins de 30 colonies caractéristiques. Il faut qu'un tube renferme au moins 15 colonies caractéristiques

III.3.5.1.4. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (voir Annexe VIII)

- **Principe**

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

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

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

- **Mode opératoire**

- **Test de présomption**

- ✓ Porter 3 fois 10ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu ROTHE D/C;
- ✓ Porter 3 fois 1ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu ROTHE S/C ;

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

- **Lecture**

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

- **Test de confirmation**

- ✓ Le test de confirmation est basé sur la confirmation des streptocoques D fécaux présents dans le test de présomption.
- ✓ Les tubes positifs feront l'objet d'un repiquage dans des tubes contenant le milieu EVA-LITSKY.
- ✓ Bien mélanger le milieu et l'inoculum ;
- ✓ Incuber à +37°C pendant 24 heures

- **Lecture**

Les tubes positifs présentent à la fois :

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

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

III.3.5.2. Analyses microbiologiques effectuées sur le produit fini et le produit fini enrichie

III.3.5.2.1. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) (voir Annexe V)

En milieu solide Un micro-organisme est un organisme vivant qui n'est pas visible à l'œil nu ; il faut un microscope pour l'observer. On parle également de microbe).

Le nombre de microorganisme totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de l'état de décomposition de produit et peut constituer un indicateur de la qualité sanitaire

•Principe

Cette méthode est basée sur le fait qu'une cellule, placée sur un milieu solide favorable, donnera naissance à une colonie macroscopiquement visible

• Mode opératoire

Mettre 1 ml d'échantillon dans une boîte de Pétri vide préparées à cet usage et numérotées. Verser ensuite environ 20 ml de gélose PCA, fondue faire des mouvements circulaires et de va-et vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée et laisser refroidir.

- Une série de boîtes sera incubée à 37°C, pendant 24 à 48 h et servira, à la recherche de germes

- l'autre série sera incubée à 22°C pendant 24 à 48 h et servira à la recherche de germes fécaux

• Lecture

-Les colonies de GAMT se présentent sous forme lenticulaire en masse.

-La lecture se fait chaque 24h.

• Dénombrement

✓ Le dénombrement est effectué pour les boîtes dont le nombre de colonies varie entre 15 et 300 colonies.

✓ Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

✓ Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre la différente dilution



Figure III.20.Autoclave



Figure III.21. Incubation des boites pétries (GAMT)

III.5.3.2.2. Recherche et dénombrement des levures et moisissures (voir Annexe IX)

- **Mode opératoire**

Les levures et moisissures sont recherchées et dénombrées dans les boissons gazeuses selon le protocole suivant :

- ✓ A partir des dilutions décimales, 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 0,1 ml dans une boîte de Pétri contenant de la gélose Sabouraud au Chloramphénicol préalablement fondue, coulée en boîtes de pétrie puis séchées.
- ✓ Etaler les gouttes à l'aide d'un râtelier stérile, puis incuber à 22°C pendant 5 jours, couvercle en haut

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

- **Remarque importante**

On doit mettre une boîte de pétri contenant la gélose Sabouraud au Chloramphénicol comme témoin dans les mêmes conditions que les boîtes serviront au dénombrement.

- **Lecture et Dénombrement**

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

facteurs suivants :

- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.



Figure III.22. Incubation des boîtes pétries (levures et moisissures)

III.3.6.L'analyse sensorielle de la boisson

Le choix de la meilleure formulation est basé non seulement sur les qualités nutritionnelles mais nécessite aussi les qualités organoleptiques ce qui nous a amené à réaliser l'analyse sensorielle qui permet d'appréhender les différentes propriétés organoleptiques (gustatives, olfactives, visuelles et, parfois, auditives) d'un produit.

L'analyse sensorielle de boisson obtenue a été réalisée par un panel de dégustateurs composé d'experts du laboratoire de l'entreprise SPA Djgaguen (5 dégustateurs), Aussi, nous avons fait appel à 25 autres personnes qui sont des étudiants de l'institut des sciences et techniques appliquées Blida 1. Les observations des dégustateurs sont prises en compte.



Résultats et discussion

IV .1.Résultats des analyses physicochimiques

IV .1.1.Résultats des analyses physicochimiques de l'eau

IV .1.1.1.Résultats des analyses physicochimiques de l'eau de chaudière

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de chaudière sont portés dans le tableau

Tableau IV .1. Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de chaudière

Paramètres	Résultats	Normes internes
pH	7±0,03	6,8-7
TA (F°)	0	0
TAC (F°)	6,3 ±0,04	0-40
TH (F°)	0	0

A partir des résultats du tableau ci-dessus, nous avons noté que tous les paramètres physico-chimiques (pH ;TH;TA et TAC) sont conformes aux normes imposées par l'entreprise SPA Djaguen. Le pH d'une eau naturelle dépend de l'origine de celle-ci et de la nature des terrains traversés

Concernant les boissons le pH doit être maîtrisé car un pH supérieur aux normes favorise le développement des micro-organismes et par conséquent l'altération du produit fini.

D'une manière générale, on peut dire que l'eau de chaudière est de bonne qualité de point de vue physicochimique

IV .1.1.2.Résultats des analyses physicochimiques de l'eau de bêche

Les résultats des analyses physicochimiques de l'eau de bêche sont résumés dans le tableau

Tableau IV .2.Résultats des analyses physicochimiques de l'eau de bêche

	Résultats	Normes internes
Ph	7±0,02	6,8-8
TA (F°)	0	0

TAC (F°)	5,5±0,01	0-40
TH (F°)	/	<50
Cl- (mg/l)	/	10-35
CL2 (mg/l)	0,4±0,03	0,1-0,6

A partir des résultats du tableau ci-dessus, nous observons que le pH est 7 ce qui est en conformité avec la norme imposée par l'entreprise SPA Djgaguen . Cependant le (TH, TA ,TAC, Cl- CL2)sont conformes aussi à la norme

D'une manière générale, on peut dire que l'eau de bêche est de bonne qualité de point de vue physicochimique

IV .1.1.2.Résultats des analyses physicochimiques de l'eau de process

L'eau de process est le constituant principal d'une boisson, sa qualité physicochimique est très importante car elle intervient directement sur la qualité du produit fini.

Les résultats des analyses physicochimiques de l'eau de process sont résumés dans le tableau

Tableau IV .3. Résultats des analyses physicochimiques de l'eau de process.

Paramètres	Résultats	Normes internes
pH	7±0,02	6,8-8
TA (°F)	0	0
TAC (°F)	6,1±0.01	0-40
TH (°F)	26±0 ,03	0-28
CL2 (mg/l)	0	0

Les résultats du tableau ci-dessus montrent que :

- Le pH de l'eau de fabrication est légèrement neutre, il représente une valeur de 7±0,02 toute fois il est compris dans l'intervalle établi par la norme de l'entreprise qui est variée entre (6,8_8)

Le titre alcalimétrique (TA) est en accord avec la norme

Le titre hydrométrique (TH) est $26 \pm 0,03^\circ F$, sa teneur en chlorures (CL2) est de 0 mg/l et sa teneur en TAC est $6,1 \pm 0,01^\circ F$ donc nos résultats sont conformes aux normes

Cette conformité est due à l'efficacité des traitements effectués sur l'eau et confirme aussi la bonne qualité physicochimique de l'eau de process destinée à la fabrication de boisson

IV.1.2. Résultats des analyses physicochimiques du produit fini

La vérification de la conformité du produit fini du point de vue physicochimique est obligatoire car il est destiné directement à la consommation.

Les résultats des analyses physicochimiques du produit fini sont résumés dans le tableau

Tableau IV .4. Résultats des analyses physicochimiques du produit fini.

Paramètres	Résultats	Normes internes
pH	$4 \pm 0,01$	4
Acidité (g/l)	$4 \pm 0,02$	2-4
Degré Brix (°brix)	$12 \pm 0,20$	12 à 12,1
Taux de protéines (g/l)	0,011	/
Taux de lipides (g/l)	0,010	/
Taux de sucres (g/l)	114	/

Les résultats des paramètres physicochimiques du produit fini montrent que Le pH est $4 \pm 0,01$ Cette valeur est conforme à la norme exigée par l'entreprise SPA Djgaguen qui est 4.

L'acidité est $4 \pm 0,02$ cette valeur est conforme à la norme exigée par l'entreprise SPA Djgaguen qui varie entre 2 et 4.

Le degré Brix obtenue est $12 \pm 0,20$ cette valeur est conforme à la norme exigée par l'entreprise SPA Djgaguen varie entre 12 et 12,1

IV .1.3.Résultats des analyses physicochimiques du produit fini enrichie en Graviola et chlorelle :

Les résultats des analyses physicochimiques du produit fini enrichi en Graviola et chlorelle sont résumés dans le tableau

Tableau IV .5. Résultats des analyses physicochimiques du produit fini enrichie en Graviola et chlorelle

Paramètres	Résultats	Normes internes
pH	4±0,00	4
Acidité titrable (g/l)	2,07±0,15	2-4
Degré brix (°brix)	11,9±0,00	12-12,1
Taux de protéines (g/l)	0,18	/
Taux de lipides (g/l)	0,014	/
Taux de sucres (g/l)	124	/

- Les résultats des paramètres physicochimiques du produit fini enrichie en Graviola et chlorelle montrent que Le pH est 4 Cette valeur est conforme à la norme exigée par l'entreprise SPA Djgaguen qui est 4, donc il n'y a pas de différence par rapport à la boisson témoin qui a aussi une valeur de pH qui est 4.
- Selon **(Guenoun et Medjbar 2018)** la valeur du pH augmente avec l'augmentation des quantités de chlorelle ajoutées
- Un effet similaire confirme également ces résultats : d'après **(Guenoun et Medjbar 2018)** rapporte que la valeur de pH de (2,536-3,274) à 4 cette augmentation s'explique par l'effet de l'ajoute des types de chlorelle qui sont déférents et aussi l'ajoute de la poudre de Graviola dans notre produit qui a une influence sur le pH finale de boisson enrichie.

- Et d'après les résultats obtenues ($2,07 \pm 0,15$) nous remarquons une diminution de l'acidité titrable par rapport la boisson Orangina, mais cette variation est négligeable puisque le résultat obtenu est conforme aux normes établies par l'entreprise SPA Djgaguen qui varie entre 2 et 4.

Cette diminution est expliquée par :

- l'incorporation de la poudre de Graviola et la chlorelle
- D'autre part, selon (**Guegnoun et Medjbar**) l'acidité titrable de leurs produits augmente de(2,88 à 12,672g/l) cette augmentation s'explique par la diminution du pH et l'effet de la teneur en acides organiques et minéraux contenus dans le jus de fruits, alors que notre boisson a une valeur de $2,07 \pm 0,15$ cette diminution due à l'acidité de fruits utilisée car les agrumes sont généralement plus acides et aussi l'effet de Chlorelle et Graviola sur l'acidité du boisson formulée
- Le caractère acide des jus contribue dans sa saveur et il est pris en considération pour estimer la valeur d'un jus (**Ashurst, 2005**).
- Le degré Brix, obtenu est 11,9 cette valeur est proche à la norme exigée par qui l'entreprise SPA Djgaguen qui est entre 12-12,1
- Les valeurs expérimentales obtenues dans le **Tableau** montrent une différence en teneurs de protéines entre la boisson enrichie par la chlorelle et Graviola (0,18 g/l) et l'échantillon témoin (0,011 g/l).

Cette augmentation est due à :

- ✓ La teneur en protéines de la chlorelle présente une large gamme parmi les espèces des micro-algues ; à partir de seulement 6,87% pour l'espèce *Chlorella sp.* (Slocumbe et al., 2013) jusqu'à 58% pour *Chlorella vulgaris* (**Becker, 2007** ; **Barka et Blecker, 2016**).
- ✓ Dans leur étude, **Liu et al., (2013)** rapportent que la chlorelle est l'une des rares micro-algues largement utilisées pour la consommation humaine. Elle l'augmentation de la teneur en protéines et une composition en acides aminés équilibrée.
- ✓ D'autre part, (**Guegnoun et Medjbar**) ont observé une teneur en protéines augmente de (0,11662 à 0,30821g/l) selon la teneur de chlorelle ajoutée et une

quantité de 0,18g/l pour notre boisson , ces résultats confirment l'existence d'un rapport élevé en protéines et des acides aminés essentiels dans la poudre de chlorelle et la poudre de Graviola à cause de différence d'espèce de la chlorelle et le type de fruit utilisé peut se différencier la valeur de protéine du produit fini

- ✓ D'après les résultats obtenues nous remarquons une augmentation de la valeur du taux de lipides du produit fini enrichi en Graviola et chlorelle par rapport le produit fini Orangina de 0,010 g /l au 0,014 g/l.

Cette augmentation est expliquée par :

- la Chlorelle est séchée et réduite en poudre, elle renferme près de 20 % de lipides (dont des acides gras essentiels et polyinsaturés).
- La poudre de Graviola renferme des huiles essentielles dont Trente-sept composés volatils ont été identifiés dans la pulpe du fruit, La majorité de ces composés sont des esters aliphatiques et aromatiques. De plus, l'analyse de l'huile essentielle extraite de la feuille, a permis la détection de 80 composés, principalement des dérivés de sesquiterpènes.
- Nous remarquons aussi une augmentation de la valeur de taux de sucres du produit fini enrichie en Graviola et chlorelle par rapport le produit fini Orangina de 114 g/l au 124g/l.

Cette augmentation est expliquée par :

- la Chlorelle est séchée et réduite en poudre, 20 % de glucides (dont du glucose, fructose et saccharose)
- La chair du Graviola se compose de 18 % glucides, et notamment en fructose et leur feuilles sont riches en glucose et glucosides.
- En revanche selon (**Guenoun et Medjber**) les teneurs en sucres totaux des boissons formulées varient de 40,265- 50,38 g/l Ceci est dû à la haute teneur en sucres totaux de *Chlorella vulgaris* qui est de 11,86% , en comparaison avec notre produit avec une teneur de 124g/l cette augmentation s'explique par l'incorporation de la poudre de Graviola
- D'après les résultats des analyses physico chimiques effectué nous constatons que notre boisson enrichi est de la bonne qualité physico chimiques par rapport à la

boisson « Orangina » grâce à l'incorporation et l'amélioration par la poudre de chlorelle et Graviola .

IV .2.Résultats des analyses microbiologiques

IV .2.1. Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process

Tableau IV .6. Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process

Analyses	Coliformes Totaux	Coliformes Fécaux	ASR	GAMT		Streptocoques
				37°C	22°C	
Echantillon	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Limites microbiologiques (UCF/ml) JORA 1998	<10	Absence	Absence	20	<10²	Absence

Abs : Absence

Les résultats microbiologiques de l'eau de process montrent une absence totale des germes pathogènes et non pathogènes ce qui résulte une conformité aux normes de JORA (1998).

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

- Une bonne maîtrise du déroulement des étapes de traitement des eaux.

Une bonne fiabilité des traitements des eaux, des traitements de désinfection et celui de chloration sur la qualité des eaux de procès.

IV .2.2.Résultats des analyses microbiologiques de produit fini

Ces analyses sont exécutées sur le produit destiné à la consommation. Les résultats des analyses microbiologiques de produit fini sont résumés dans le tableau

Tableau IV .7. Résultats des analyses microbiologiques du produit fini

Germes Echantillon	GAMT		Levures	Moisissures
	22°C	37°C		
Echantillon	Abs	Abs	Abs	Abs
Normes(JORA 1998)	Abs	Abs	<20/litres	10/100ml

Ces résultats indiquent une absence totale de toute catégories de germes ce qui est en concordance avec les normes de JORA, et qui confirment l'efficacité du traitement thermique et la maîtrise des risques microbiologiques de la matière première jusqu'au produit fini (**Bourgeois et Larpent, 1996**). (**Voir Annexe X**)

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

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

IV .2.3.Résultats des analyses microbiologiques du produit fini enrichie en Graviola et chlorelle :

Tableau IV.8. Résultats des analyses microbiologiques du produit fini enrichie en Graviola et chlorelle

Germes Echantillons	GAMT		Levures	Moisissures
	22°C	37°C		
Echantillon	Abs		Abs	Abs
Normes(JORA 1998)	Abs	Abs	<20/100ml	10/100ml

L'analyse des résultats microbiologiques du produit fini enrichi dans le tableau indique une absence totale des germes ce qui affirme que ce boisson enrichie en Graviola et chlorelle est de bonne qualité microbiologique et que ces deux composants n'ont pas contaminé ce dernier

IV .3.Résultats des analyses sensorielles

L'analyse sensorielle est l'examen des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes des sens, appliqué sur un ensemble d'individus (AFNOR, 1988). Elle prend en compte l'évaluation de la saveur (saveur et arôme), de l'aspect et de la texture.

Ainsi dans notre étude, pour déterminer la formule de boisson la plus acceptée par les consommateurs, une analyse sensorielle a été effectuée. Cette dernière se base sur 8 caractéristiques, à savoir : le goût, l'odeur, l'arôme, la couleur, limpidité, la consistance, l'acidité et l'équilibre (Voir fiche de dégustation en annexe).

Chaque individu a tout d'abord dégusté les échantillons de boissons (codées 1 boisson Orangina et de notre boisson enrichie « 0,5g /l »

Ensuite chacun d'eux a exprimé son degré d'appréciation pour chaque caractère.

Afin de réaliser les analyses statistiques, nous avons attribué pour chaque boisson Cinq mentions : (1 :très mauvais, 2 :mauvais,3 :moyenne,4 :Bon,5 :très bon)

IV .3.1.Résultat statistique du caractère goût

Les résultats de pourcentage de classement des 02 boissons relatifs au critère goût sont portés dans la figure IV .1

Selon la figure, nous constatons que presque 55% des dégustateurs ont apprécié la boisson enrichie du point de vue du goût

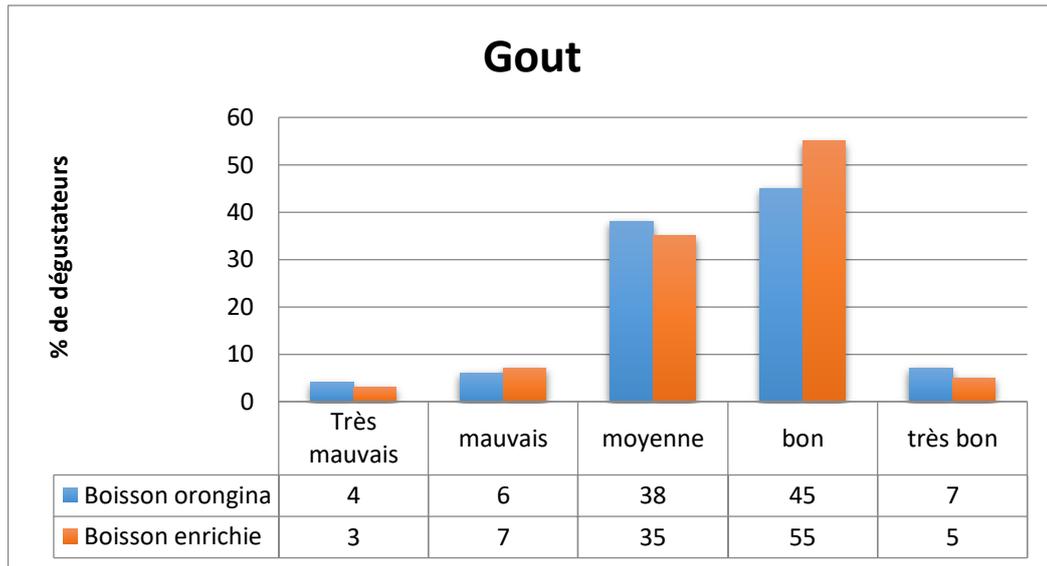


Figure IV .1. Comparaison du caractère goût de boisson Orangina et boisson enrichie en Graviola et chlorelle

IV .3.2.Résultat statistique du caractère odeur

Presque 55% des dégustateurs du panel de dégustation retiennent la boisson n°2(boisson enrichie) pour le caractère odeur

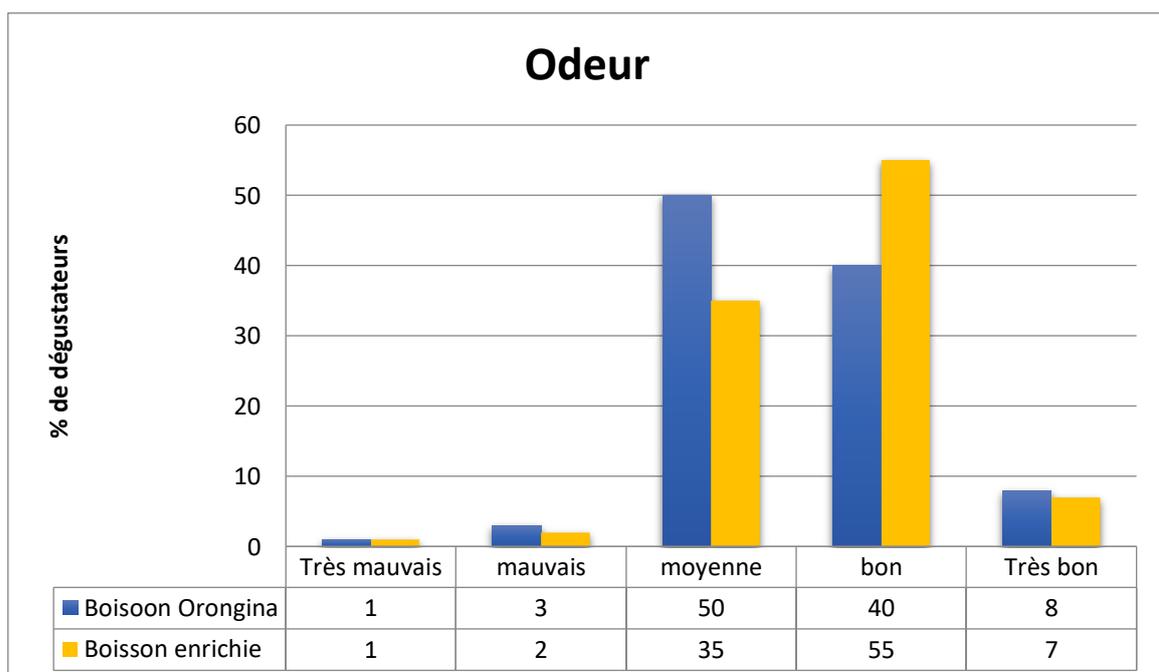


Figure IV .2. Comparaison du caractère odeur de boisson Orangina et boisson enrichie en Graviola et chlorelle

IV .3.3.Résultat statistique du caractère couleur-intensité

Les résultats de dégustation montrent que les 02 boissons présentent une bonne couleur, mais la majorité des dégustateurs (64%) ont préféré la boisson 1 que l'autre

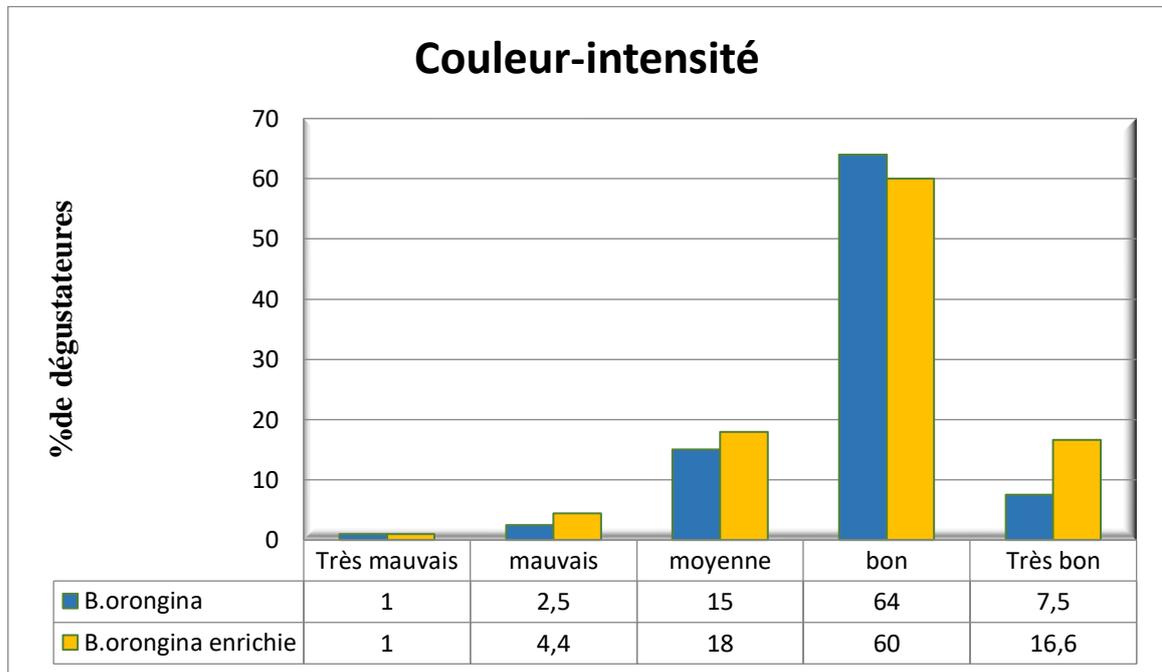


Figure IV .3. Comparaison du caractère couleur-intensité de boisson Orangina et boisson enrichie en Graviola et chlorelle

IV .3.4.Évaluation sensorielle

Tableau IV.9. les différents caractères de l'analyse sensorielle de boisson Orangina (témoin)

Caractères	Notes %
Analyse visuelle	
Limpidité	58 % (4)
Couleur-intensité	64% (4)
Analyse olfactive	
Odeur	50% (3)
Analyse gustative	
Gout	45% (4)
Consistance	40% (3)

Acidité	50% (3)
Equilibre	56% (3)

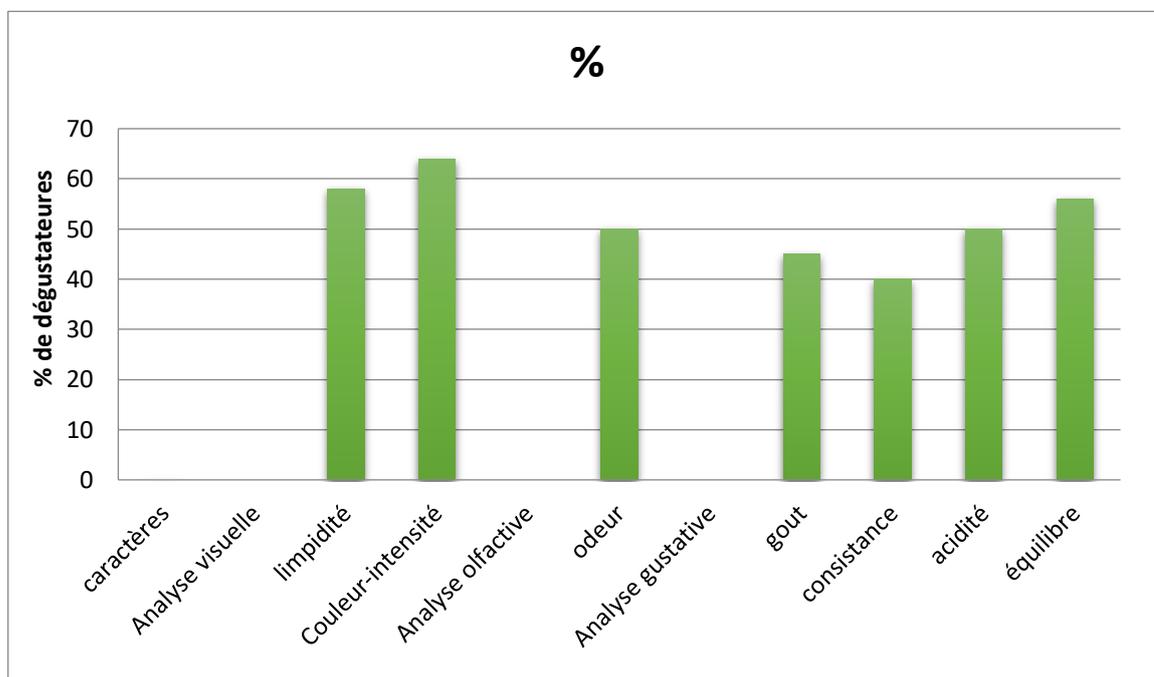


Figure IV .4. Histogramme représente les résultats de dégustation de boisson Orangina

Commentaires :

- ✓ 64% de dégustateurs ont donné la note 4/5 pour la couleur d'Orangina
- ✓ 58% de dégustateurs ont choisi l'état « moyenne » pour limpidité de ce produit
- ✓ Selon 64% de dégustateurs ; l'intensité de notre produit est 'moyenne'
- ✓ 50% de dégustateurs ont voté sur la note de 3 /5 pour l'odeur de produit
- ✓ Le gout 'acide' est marqué par 50% de dégustateurs
- ✓ Pour la consistance ; le plus grand pourcentage (40%) a été marqué pour la note 3/5
- ✓ 56% de dégustateurs ont donné la note 3/5 pour l'équilibre de la boisson Orangina

Tableau IV . 10. les différents caractères de l’analyse sensorielle de la boisson Orangina enrichie en Graviola et chlorelle

Caractères	Notes%
Analyse visuelle	
Limpidité	40% (3)
Couleur- intensité	60 % (4)
Analyse olfactive	
Odeur	56% (4)
Analyse gustative	
Gout	55% (4)
Consistance	34 % (4)
Acidité	50 % (4)
Equilibre	53% (3)

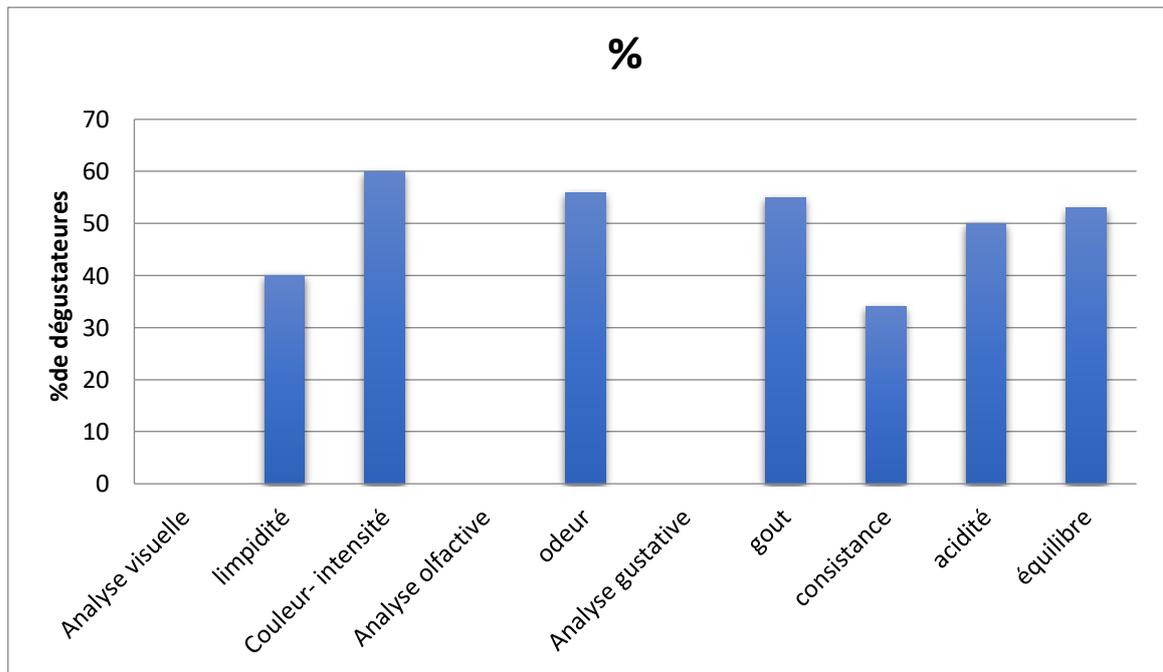


Figure IV .5. Histogramme représente les résultats de dégustation de boisson Orangina enrichie en Graviola et chlorelle

Commentaires :

- ✓ 60% de dégustateurs ont donné la note 3/5 pour la couleur de notre produit

- ✓ 40% de dégustateurs ont choisi l'état 'trouble' pour l'opacité de notre produit
- ✓ 55% de dégustateurs ont voté sur la note de 4/5 pour l'odeur de notre produit
- ✓ Le goût 'acide' est marqué par 50% de dégustateurs
- ✓ 34% de dégustateurs ont donné la note 4/5 pour la consistance de notre boisson
- ✓ 53% de dégustateurs ont donné la note 3/5 pour l'équilibre de la boisson Orangina enrichie

La note finale de la boisson enrichie :

La moyenne finale des notes est de **16,28/20**

- ❖ Les résultats obtenus pour l'ensemble des analyses sensorielles montrent que la première formule 0,5g/l de la chlorelle et Graviola est la meilleure formule d'après les dégustateurs par rapport à la boisson Orangina

Conclusion

Le consommateur préfère se désaltérer au cours de la journée avec des boissons aromatisées, et plus spécialement avec des jus de fruits. Or ces boissons présentent souvent un mauvais équilibre nutritionnel lié à une charge glucidique importante et à un manque en protéines ; on conçoit donc l'intérêt de disposer d'une boisson, possédant les qualités nutritionnelles élevées de la Chlorelle et la Graviola, tout en satisfaisant le goût du consommateur pour les boissons à base de jus de fruits.

L'objectif principal de cette étude a été d'analyser les effets de l'incorporation de la Chlorelle et Graviola en poudre, cultivée dans des conditions contrôlées, à l'échelle de laboratoire, dans les jus de fruits sur les différents paramètres physico-chimiques, microbiologiques, sensoriels et nutritionnels pour l'obtention de boisson enrichie et la comparer avec la boisson Orangina.

D'après les résultats obtenus dans notre étude, on peut souligner les principales conclusions suivantes :

Les analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau tel que le (pH, TA, TH et TAC) et les résultats de (extrait soluble totale, acidité, pH) de produit fini et le produit fini enrichi en Chlorelle et Graviola sont conformes aux normes exigées par l'unité SPA Djgaguen .

A noter aussi que les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les matières premières (l'eau de process), le produit fini et produit fini enrichi en Chlorelle et Graviola montrent que ces derniers présentent une bonne qualité microbiologique marquée par une absence totale des germes recherchés, ce qui est en conformité avec les normes de JORA (1998) et que la Chlorelle et le Graviola n'a pas contaminé notre produit.

D'après les résultats de test de dégustations de ces deux produit (Orangina et le produit enrichi en Chlorelle et Graviola) on peut conclure que la formule 1 de notre produit (0,5 g/l) est la plus acceptable par rapport à la boisson Orangina.

Il serait donc souhaitable de poursuivre les recherches dans ce domaine et réaliser entre autres perspectives :

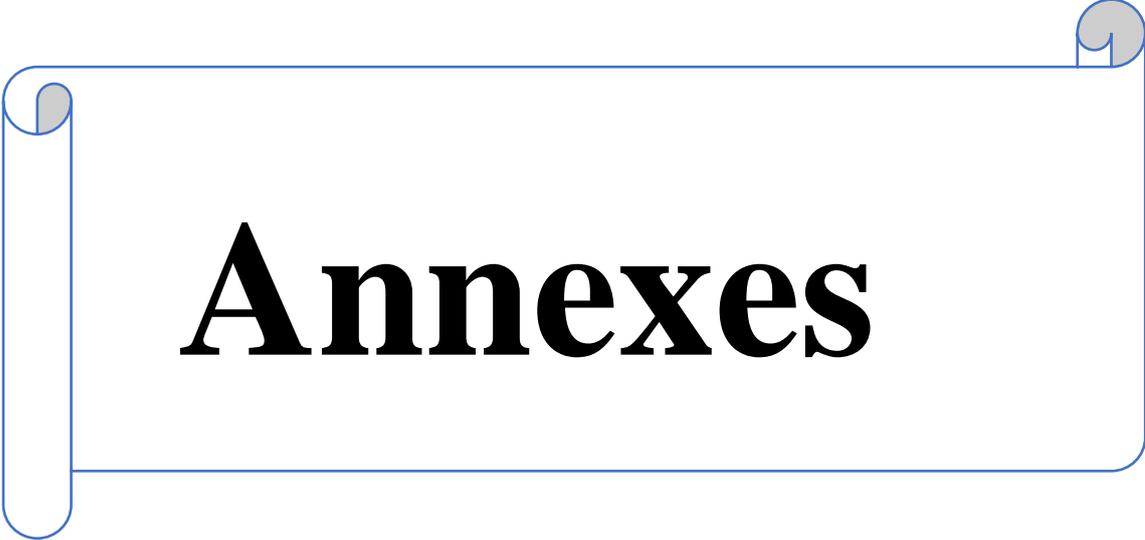
- L'élargissement du champ de production et promouvoir l'utilisation de la Chlorelle et la Graviola en Algérie par son incorporation dans d'autres produits alimentaires, tels que les produits céréaliers(les biscuits et les pates...) et les produits laitiers (fromages, yaourt.....)
- Envisager la création de fermes de production utilisant d'autres micro-algues à haute valeur nutritionnelle dans le but de lutter contre la malnutrition dans le monde.
- Sensibiliser et encourager les agriculteurs à cultiver la Chlorelle et le Graviola..

Références Bibliographiques

- **Ashurst, 2005** . Chimie et technologie des boissons gazeuses et des jus de fruits, deuxième édition
- **Baudat, (2008)**, petit précis de nutrition .édition Lamarre, France. p307.
- **Bourgeois, C.M et al, (1996)**. Microbiologie alimentaire aspect microbiologique de la qualité des aliments Ed tec. Lavoisier. 1, 416-418p.
- **Celis, 2010**. Challenges and Opportunities in Oncoproteomics
- **Greque de Morais et al., 2015**. Biologically active metabolites synthesized by microalgae. Universidad Politècnica de Catalunya
- **Bourgeois C.M., Larpent J.P. (1996)**. Microbiologie alimentaire. volII Aliments fermentés et fermentation alimentaire. (Ed).Lavoisier. Paris, pp 523.
- **Braesco, V. ; Gauthier, T. and Bellisle, F. (2013)**. Jus de fruits et nectars. Cahiers de nutrition et de diététique ,48 : 248-256.
- **Becker, 2007 ; Barka et Blecker, 2016)**. Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review
- **Cassuto,(2013)**. Qu'est ce qu' on mange ? :L'alimentation des ados A a Z édition :Odile,Jacob,20 juin 2013.Paris,9 :363.
- **Codex Alimentarius (2005)**. Codex STAN 247-2005 - Codex General Standard for Fruit juices and Nectar. 19 p.
- **Camerlingo, C., Zenone, F., Delfino, I., Diano, N., Mita, D. G., et Lepore, M. (2007)**. Investigation on Clarified Fruit Juice Composition by Using Visible Light Micro-Raman Spectroscopy. Sensors, 7(10), 2049-2061.
- **Dellaras, C. (2007)** : Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire : Aliments - Produits cosmétiques – Eaux – Produits pharmaceutiques. TEC & DO
- **Dellaras, C. (2014)** : pratique en microbiologie de laboratoire : Recherche de bactéries et de levures – moisissures. TEC & DOC-Edition -Lavoisier-Paris-France. p 772C-1^{ère} édition- Lavoisier-Paris-France. p 476.

- **Francis Lightfoot N., Maier E.A., (2002).** Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau : Guide pour l'assurance qualité. Editions Contemporary Publishing International-GB ,Science Publisher, pp186.
- **Grabkowski ,2006 :** produit de confiserie .Ed ; technique de l'ingénieur, f8080-4.
- **Guegnoun et Medjbar, 2018:** Contribution a l'élaboration de boissons fonctionnels à base de chlorelle,Thèse de Master ,Université des Sciences et la technologie Houari Boumedienne
- **Guiraud J-P et Galzy P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition : de l'Usine nouvelle, Paris. pp 2
- **Guirand J –P. (2003).** Microbiologie alimentaire. Edition : Dunod Paris. PP: 652
- **ISO 4832 (2006) :** Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux, Technique du nombre le plus probable. 3^{ème} édition Monolingue. p 6.
- **Joffin, C et Joffin, J. N. (1999) :** microbiologie alimentaire. 5^{ème} édition.Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine. p212.
- **JORA. (1998) :** Le journal officiel de la république algérienne N°35, Mai, p 17-22.
- **JORA (1998) :** journal officiel de la république algérienne. Norme Algérienne 1207, Recherche et Dénombrement des Germes Aérobie Mésophiles Totaux à 30°C.
- **JORA (1998) :** journal officiel de la république algérienne. Norme Algérienne 765. Recherche et Dénombrement de Streptocoques Fécaux.
- **JORA (1998) :** journal officiel de la république algérienne. Norme Algérienne 15176. Recherche et Dénombrement de Clostridium Sulfito-Réducteurs à 46°C.
- **JORA (1998) :** journal officiel de la république algérienne. Norme Algérienne 1210. Recherche et Dénombrement de Levures et des Moisissures.
- **Linder et lorient, 1994 :** www.Finleyfinesbulles.Fr/boisson
- **Liu et al 2013** Sequential Reassortments Underlie Diverse Influenza H7N9 Genotypes in China
- **Marez. (2003).** Étude d'une filière du secteur des boissons : les sodas. Université Paris XII- Val de Marne. Créteil, France.
- **Mayo et al.,(1997)**Clinical Features of 5,628 Primary Lung Cancer Patients: Experience at Mayo Clinic From 1997 to 2003
- **Moghadamtousi S et al,2015 ,** Annona muricata(Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities.

- **Int. J. Mol. Sci. 2015 ;16:15625-58.**
- **Naessens, 2013.**Correction : Characterization of Anamnestic T-cell Responses Induced by Conventional Vaccines against Contagious Bovine Pleuropneumonia
- **Rudi, 2004.** agence Francaise de securitè sanitaire de aliments .Glucides et santè;ètat des lieux,èvaluation et reommandations,octobre 2004.
- **Zine,S.2018 .**Le corossol (AnnonamuricataL.) Et ses propriétés thérapeutiques:ètatdeslieux, Thèse de doctorat, Université Grenoble Alpes.12p
- **Safi et al. 2014.**Morphology, composition, production, processing and applications of Chlorella vulgaris
- **Slocombe et al., 2013** Effects of temperature and nutrient regimes on biomass and lipid production by six oleaginous microalgae in batch culture employing a two-phase cultivation strategy
- **Vierling.E. (1998).** Aliment et boissons, technologie et aspect réglementaire. Centre
- régionale et documentation pédagogique d'aquitaine, 900p.



Annexes

Annexe I

1. Matériel utilisé dans les analyses physico-chimiques :

➤ Appareillages et verreries :

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

2. Matériel utilisé dans les analyses microbiologiques :

➤ Appareillages et verreries :

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

Annexe II

➤ **Composition des milieux de culture**

➤ **Bouillon Tryptone Sel Eau (TSE) :**

Composition (g/l)

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

➤ **Plate count Agar(PCA) :**

Composition (g/l) :

- Tryptone.....5
- Extrait de levure.....2.5
- Glucose.....4
- Agar.....9

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

Composition (g/l)

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

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

Composition (g/l)

- Base viande –foie.....10g
- Glucose.....5g
- Gélose
- Extrait de levure.....10g

- Peptone.....20g
- Eau distillée.....1000ml
- pH final.....7.6±0.2

➤ **Milieu Sabouraud au chloramphénicol**

Composition (g/l)

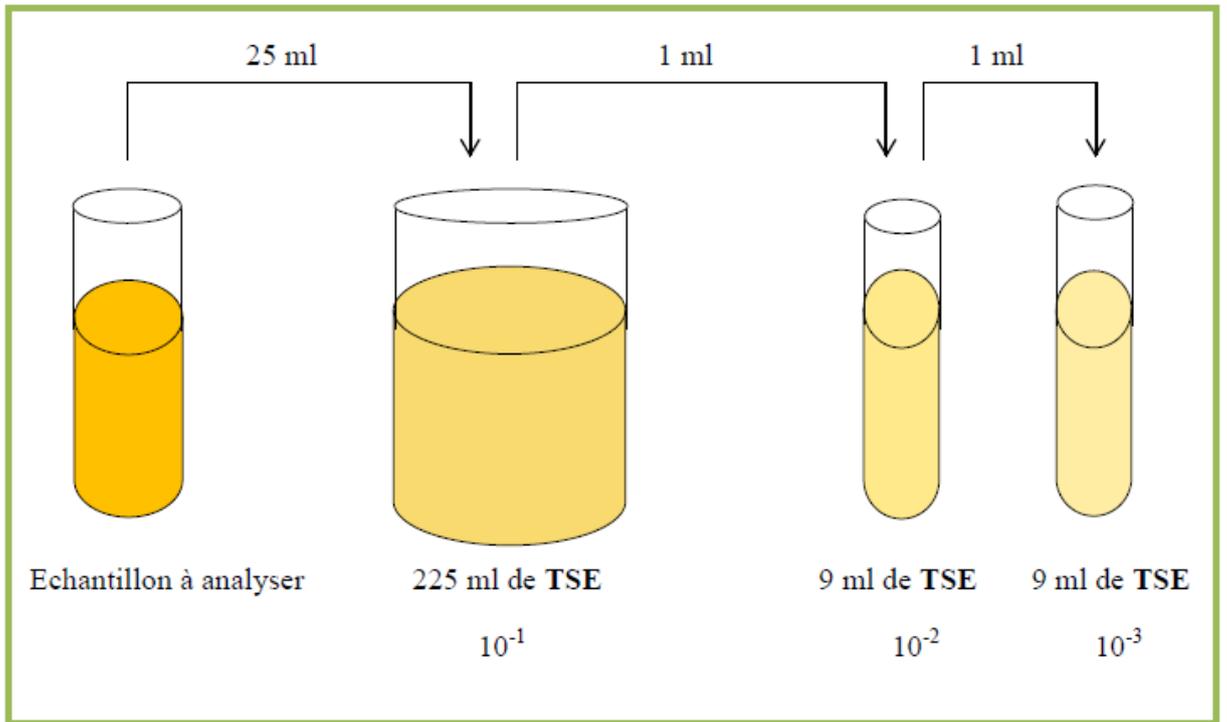
- Peptone.....10g
- Glucose massé.....20g
- Chloramphénicol.....0.5g
- Agar agar.....20g
- pH.....6

Annexe III

➤ **Réactifs et solutions :**

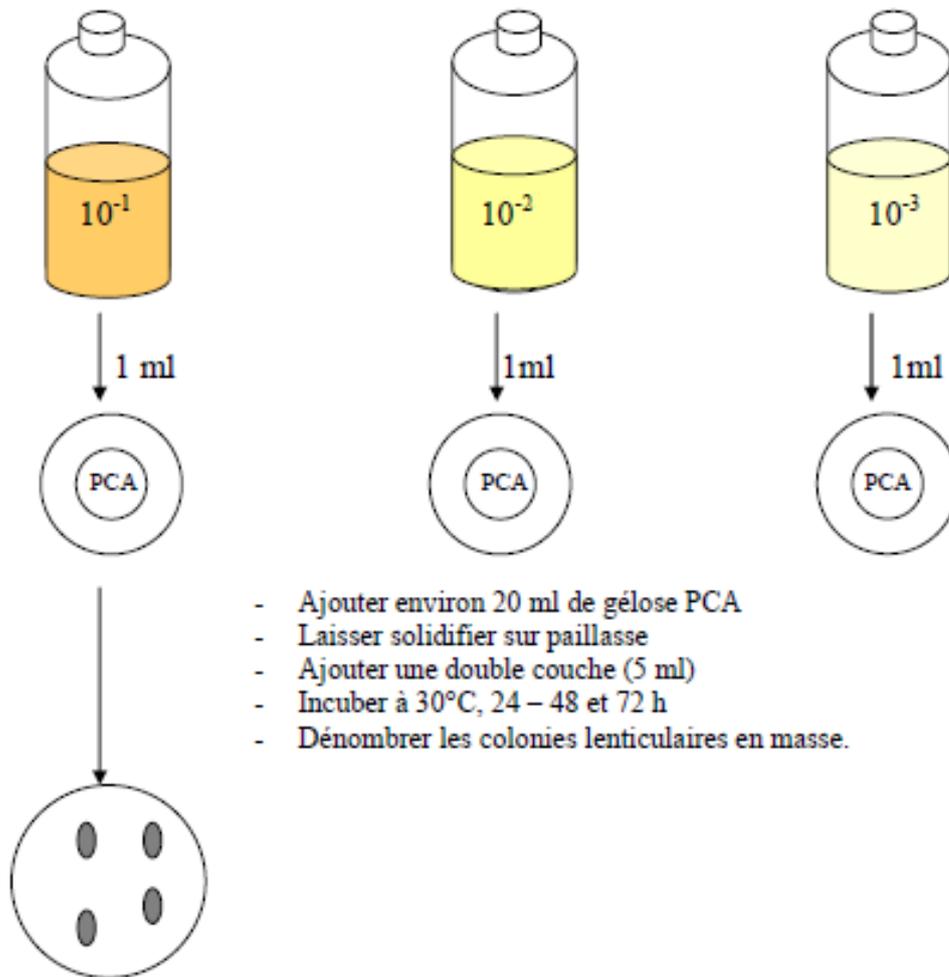
- Eau distillée.
- Diéthyl Phénylène Diamine (DPD).
- Ethyle Diamine Tétra Acétique (EDTA).
- Phénolphtaléine.
- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Iode (I₂).
- Tampon pH7.
- Tampon pH4.
- Hardness Buffer.
- almagite indicator.
- Empois d'amidon

Annexe IV



Annexe V

A partir des dilutions décimales :

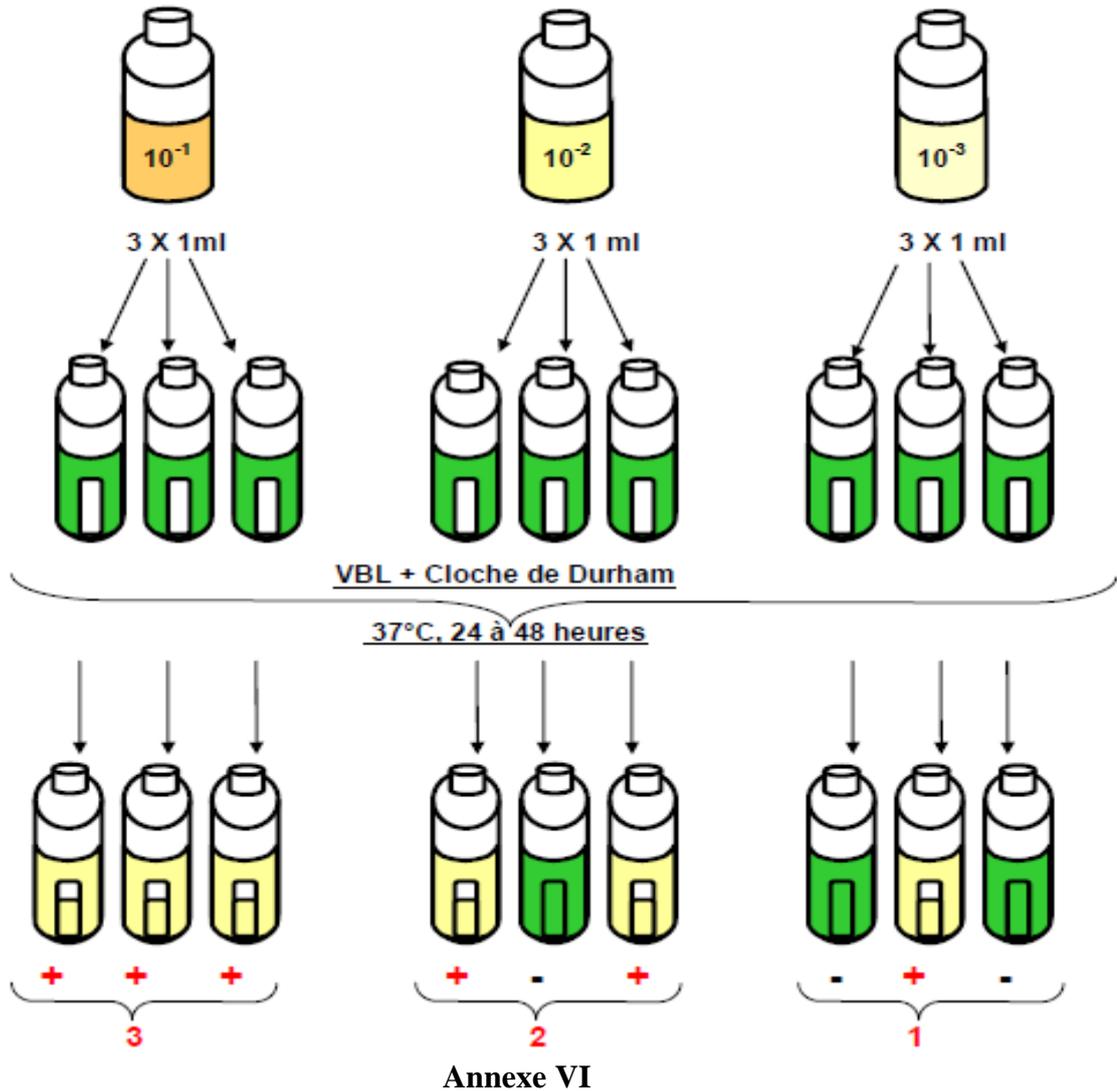


- Ajouter environ 20 ml de gélose PCA
- Laisser solidifier sur pailleasse
- Ajouter une double couche (5 ml)
- Incuber à 30°C, 24 – 48 et 72 h
- Dénombrer les colonies lenticulaires en masse.

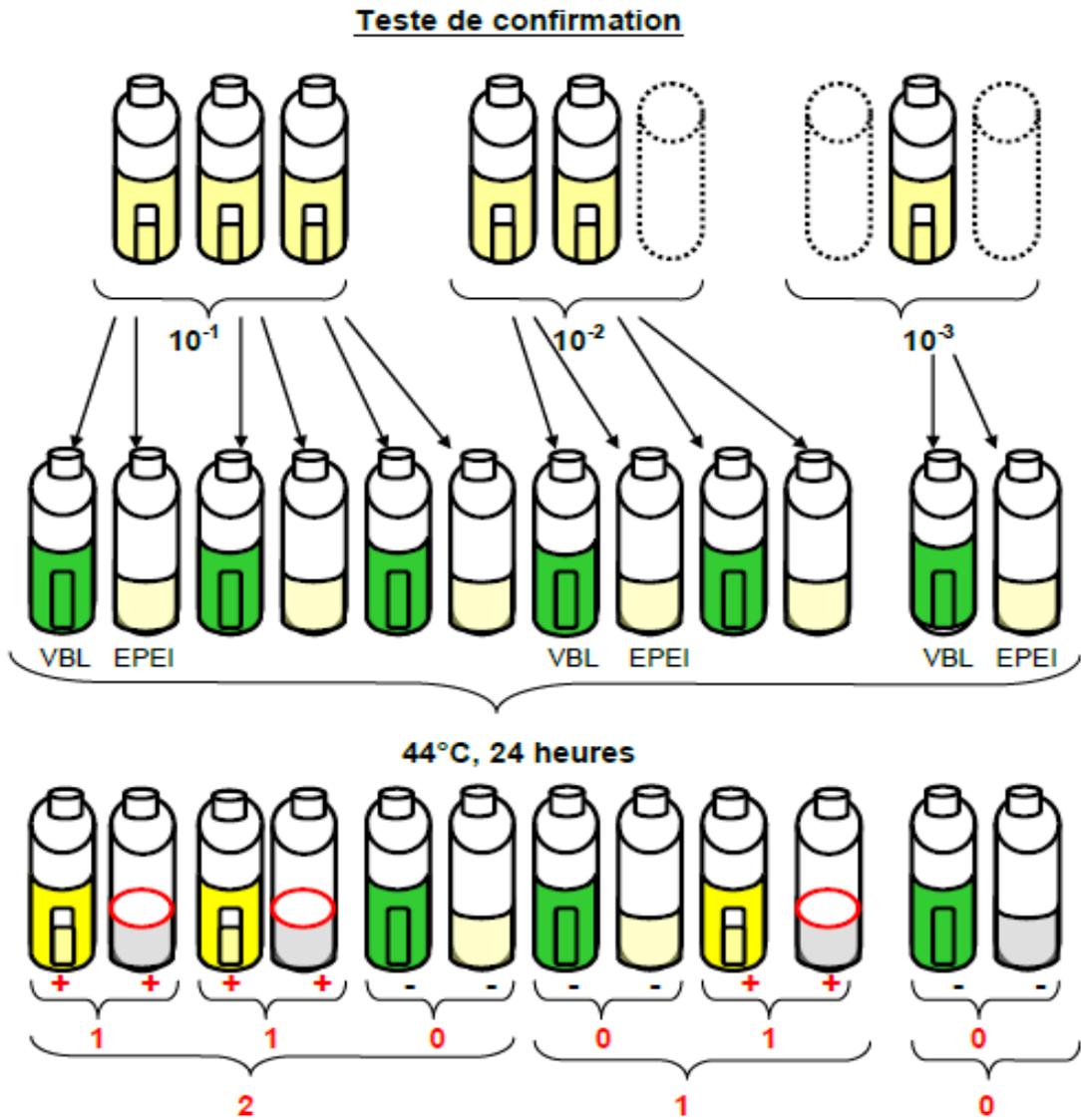
Recherche et dénombrement des Germes aérobies mésophiles totaux dans l'eau de process et le produit fini et le produit fini enrichi

Test de Présomption

A partir des dilutions décimales



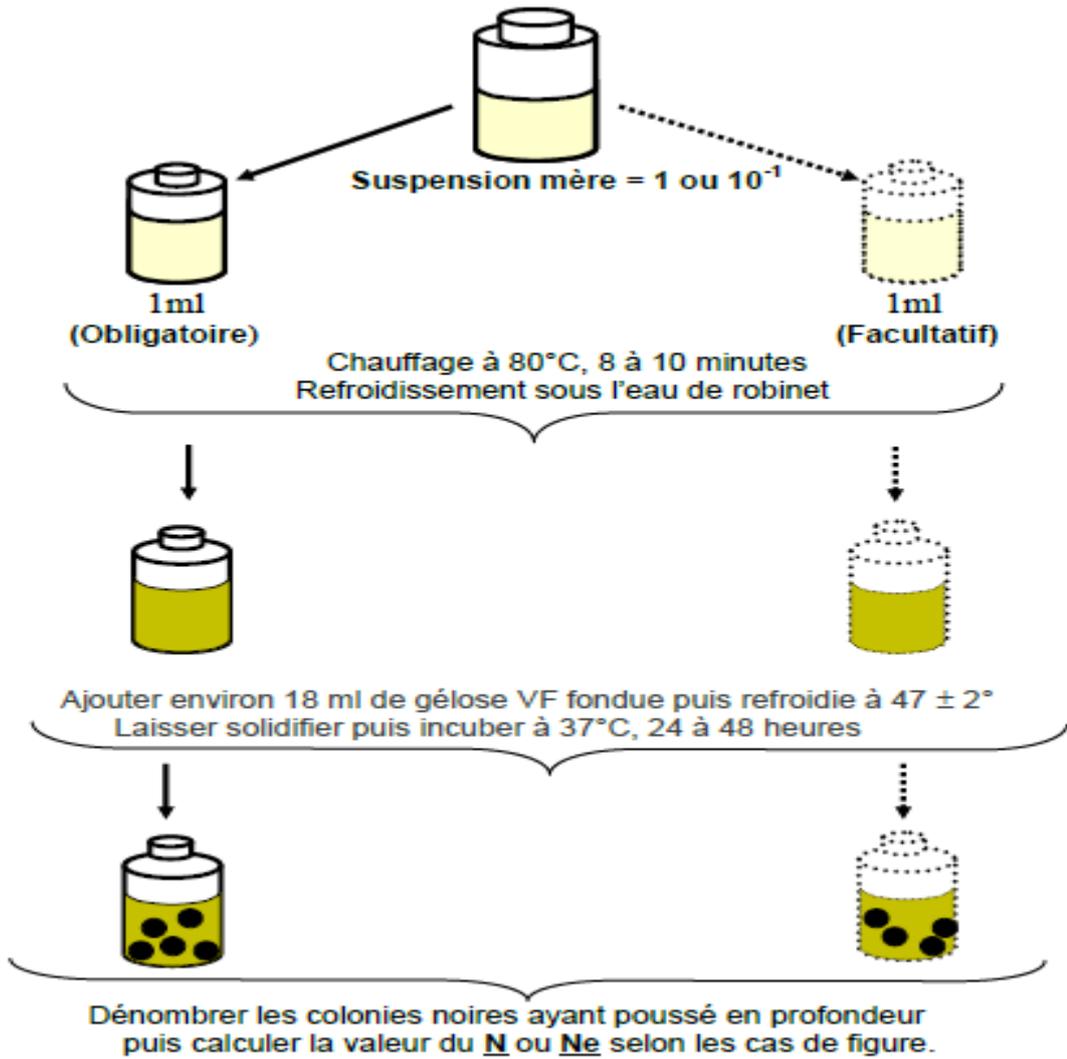
Recherche et Dénombrement des coliformes fécaux et totaux dans l'eau de process
(test de présomption)



Recherche et Dénombrement des coliformes fécaux et totaux dans l'eau de process (test de confirmation)

Annexe VII

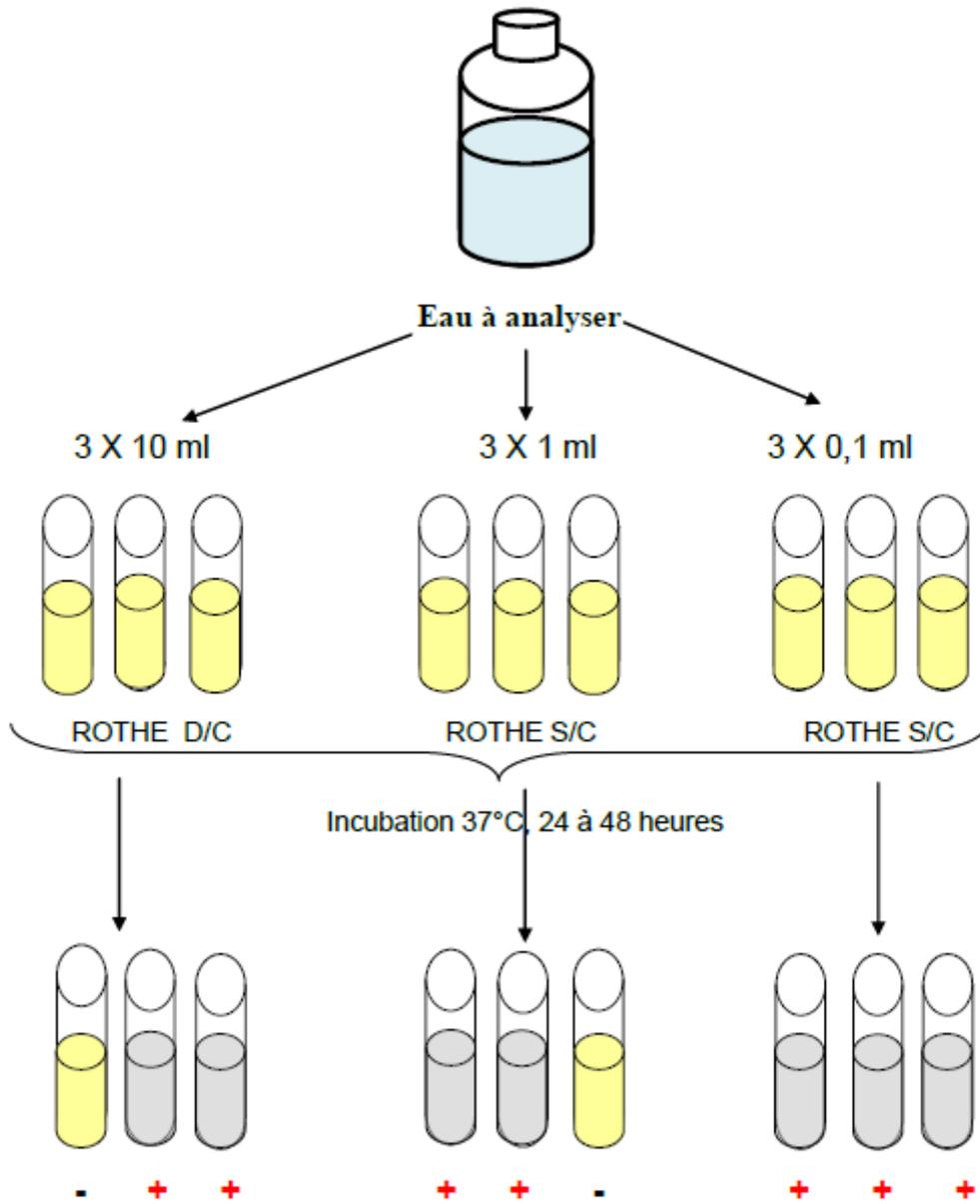
A partir de la suspension mère



Recherche et dénombrement des anaérobies sulfite-réducteurs dans l'eau de process

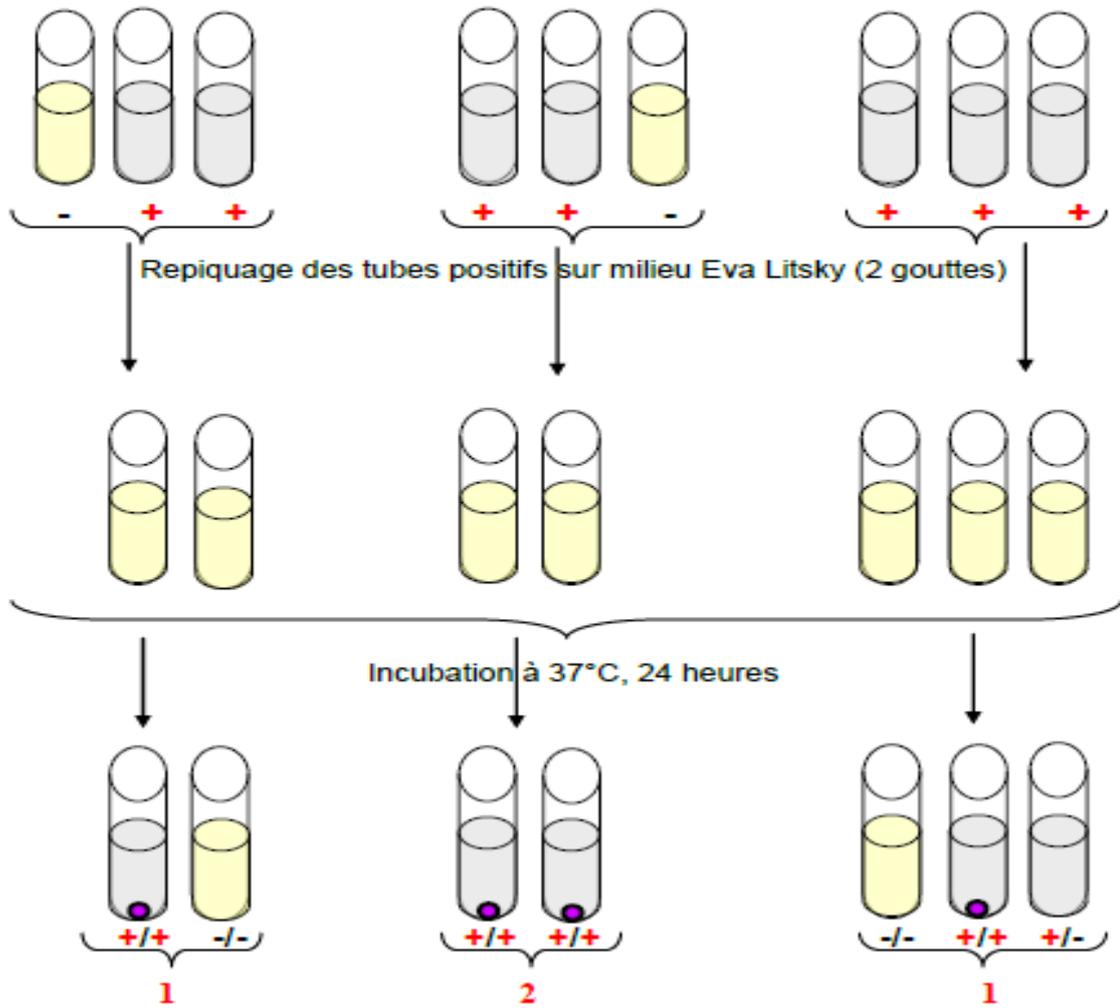
Annexe VIII

Test de présomption



Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau de process (test de présomption)

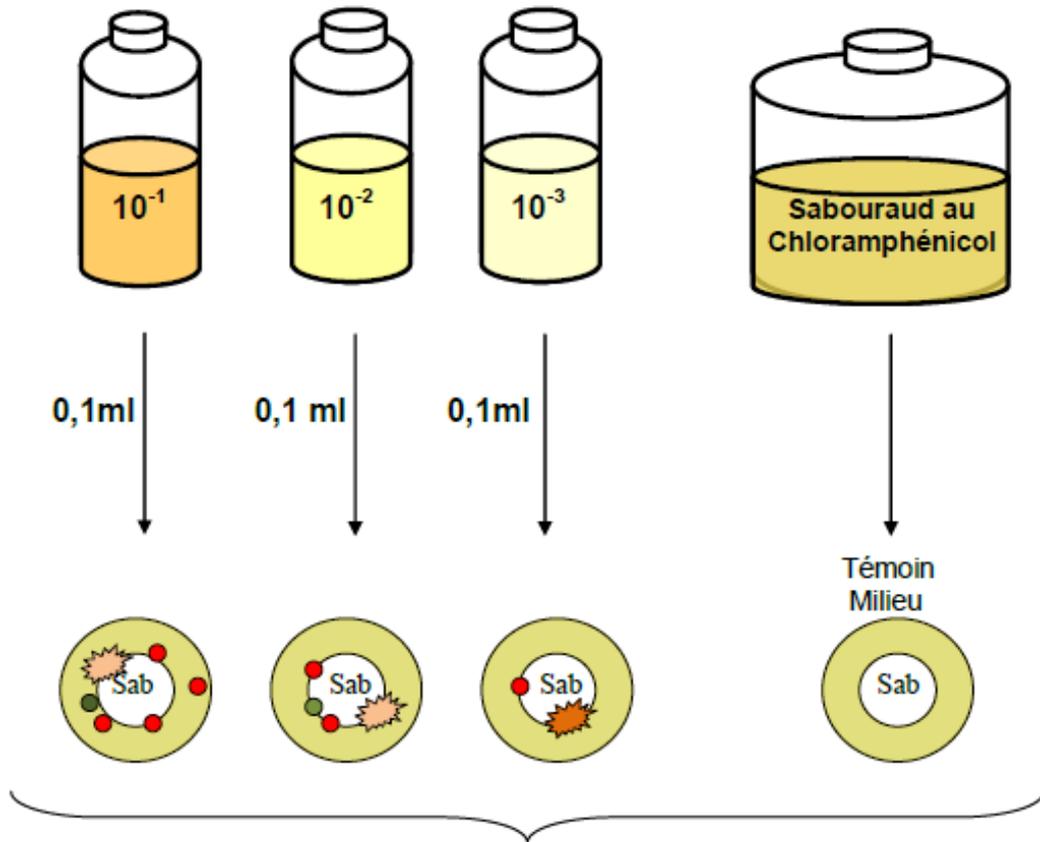
Test de confirmation



Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau de process (test de confirmation)

Annexe IX

A partir des dilutions décimales :



22°C, 5 jours, avec lecture tous les jours.
Lecture préalable des boîtes témoins puis lecture des autres boîtes
Calculer la valeur **N** pour Levures à part et Moisissures à part.

Recherche et dénombrement des levures et moisissures dans le produit fini et le produit fini enrichi

Annexe X

Fiche de dégustation

Produit: boisson Orangina enrichi en Graviola et Chlorelle

Age:

Sexe:

1. Analyse visuelle	Couleur- Intensité
	Explication
	Limpidité
2. Analyse olfactive	Odeur/ Senteur
	Explication
	Arome
	Explication
3. Analyse gustative	Gout
	Consistance
	Acidité
	Equilibre
Note générale: /20	

N.B. L'échelle d'appréciation est de 1 à 5 (1: très mauvais, 2:mauvais, 3:moyen, 4:Bon, 5: Très bon)

Annexe X

8 Chaoual 1438 2 juillet 2017		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39				25
11- Eaux, boissons et jus de fruits et de légumes						
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)		
		n	c	m	M	
Eaux minérales naturelles et eaux de source	<i>Escherichia coli</i>	5	0	Absence dans 250 ml		
	Entérocoques	5	0	Absence dans 250 ml		
	Spores anaérobies sulfito-réductrices	5	0	Absence dans 50 ml		
	Coliformes totaux	5	0	Absence dans 250 ml		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	0	Absence dans 250 ml		
Boissons gazeuses	Germes aérobies à 30 °C	5	3	10	10 ²	
	Levures et moisissures	5	2	10	10 ²	
Boissons non gazeuses traitées thermiquement	Coliformes totaux	5	0	10		
	Coliformes thermotolérants	5	0	Absence		
	Entérocoques	5	0	Absence		
	Anaérobies sulfito-réducteurs	5	0	Absence dans 20 ml		
	Levures et moisissures	5	2	10	10 ²	
Boissons à base de jus de fruit et de lait	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ²	10 ³	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	1	10	
	Enterobacteriaceae	5	2	1	10	
	Levures et moisissures	5	2	10	10 ²	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml		
Jus de fruits et de légumes non pasteurisés	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³	
	Levures et moisissures	5	2	10 ⁴	10 ⁵	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml		
Jus de fruits et de légumes, nectars et boissons fruitées pasteurisées	Levures et moisissures	5	2	10	10 ²	