

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



370 181

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

AA/370

Thème

Etude de L'effet des Rayons Solaires sur la Qualité Organoleptique
et Bactériologique des Jus de Fruits

Présenté par :

- BOUREGBi Ouafa
- MAKHELOUFI Souhila
- SABEUR Fatma



Devant le jury composé de :

- Président : M. GHRIB Lasaade (M.A)
- Examineur : M. ROUIBI Abd Elhakim (M.A.)
- Encadreur : M.MERZOUG Abd Elghani(M.A)
- CO- Encadreur : Meille Rouaiguia Meriem (D)

Juin 2011

Remerciements

Nous remercions le Dieu tout puissant de nous avoir donné le savoir et la faculté de pouvoir poursuivre ce modeste travail.

Nous remercions, en premier lieu, Mr Merzoug. A. Professeur de département de biologie à l'université de Guelma pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger ainsi que pour ses conseils et orientations.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à notre Co-encadreur, Melle Rouaiguia. M. doctorante en biologie, pour ses conseils, ses discussions enrichissantes, ses orientations et ses encouragements.

Nous exprimons nos profonds remerciements à Monsieur GHRIB L, Maître assistant au département de biologie, d'avoir bien accepté présider ce jury.

Nous tenons à remercier Monsieur aussi Rouibi A, maître assistant au département de biologie pour avoir exprimé son entière disponibilité à participer à ce jury et examiner ce mémoire.

Nous tenons tout spécialement à remercier Melle HOURIA responsable de laboratoire de département pour l'aide qu'elle nous a apporté dans la réalisation du stage pratique, durant le déroulement de toutes les étapes de notre travail.

Enfin, tout les étudiants de 2^{ème} année Master Qualité de produit et Sécurité Alimentaire (2010/2011) et tout ceux qui de près ou de loin qui ont participé à l'élaboration directe ou indirecte de ce modeste travail.

Chapitre VI : Résultats et discussion

1. Contrôle organoleptique.....	52
2. Contrôle bactériologique.....	52
2.1. Germes totaux	52
2.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale	53
2.2.1. Coliformes totaux.....	53
2.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux.....	54
2.2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	55
2.2.4. Recherche et dénombrement des anaérobies sulfite réducteurs (ASR)	55
3. Recherche des germes pathogènes	56
3.2.1. Résultats du profil biochimique de <i>Staphylococcus</i>	58
3.2.2. Recherche des levures.....	58
3.3. L'identification biochimique.....	58
Conclusion	60

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
01	Les types de jus de fruits	05
02	Composition de quelques jus de fruits	07
03	Modification enzymatique des parois cellulaires	13
04	Exemple de barème de pasteurisation	17
05	Caractéristique de Conditionnement à froid	23
06	Caractéristique de Conditionnement à chaud	25
07	Caractéristique de conditionnement aseptique	27
08	Exemples de réactions indésirables catalysées par la présence d'enzymes microbiennes dans les boissons riches en sucres et en acides aminés	31
09	Conditions d'échantillonnage	34
10	Résultats du contrôle organoleptique	52
11	Recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables	53
12	Evaluation du nombre de coliformes totaux	53
13	Evolution du nombre d'E.coli	54
14	Recherche et dénombrement des ASR	55
15	Résultats de l'ensemencement sur les milieux solides.	56
16	Observation macroscopique et microscopique des colonies.	57
17	Résultats du profil biochimique de <i>S.épidermidis</i>	58
18	Résultat et identification biochimique par la galerie API 20 E	59

Liste des figures

N° de Figure	Titre	N° de Page
01	Digramme de fabrication de jus de fruits.	10
02	Le thermoplongeur.	18
03	Recherche et dénombrement des germes revivifiables.	36
04	Recherche et dénombrement des coliformes, coliformes Thermotolérants.	40
05	Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux	43
06	Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfatoréducteurs.	45
07	Recherche des coliformes totaux dans l'échantillon I.	53
08	Evolution du nombre de coliformes totaux.	54
09	Evolution du nombre de coliformes fécaux	55
10	Absence de colonies noires des ASR après incubation.	56
11	Aspect des colonies sur GN	57
12	Aspect des bacilles Gram (-)	57
13	Aspect des colonies blanches sur gélose Chapman	57
14	Aspect des cocci en amas Gram (+)	57
15	Aspect des colonies sur gélose Sabouraud	57
16	Aspect des levures Gram (+)	57
17	Catalase Positif	58
18	Mannitol négatif	58
19	Cogulase Négatif	58
20	Profil biochimique de la souche l' <i>Aeromonas hydrophila</i>	59

Liste des abréviations

AFNOR: Association Française de Normalisation.

ALU : Aluminium

ASR : Anaérobies sulfatoréducteurs.

BCPL : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol.

BGN : Bacilles Gram négatifs.

B9 : acide folique.

°C : Degré Celsius.

CF : Coliformes fécaux.

CT : Coliformes totaux.

D/C : Double concentration.

DLC : Date limite de consommation.

DLUO : Date limite d'utilisation optimale.

EVOH : Copolymère d'éthylène et vinyl alcool.

Fig. : Figure.

g/l : Gramme par litre.

GN: Gélose nutritive.

h: Heure.

mm Hg : milligramme hecto gram

NaCl : chlorure de sodium

NPP : Nombre le plus probable.

Na₂SO₃: sulfite de sodium

PE : Pectine Estérases.

PE : polyéthylène.

PEHD : polyéthylène haute densité.

PEN : polyéthylène naphthalate.

PET : polyéthylène théréphtalate.
PG : Polygalacturonase.
pH : Potentielle Hydrogène.
PL : Pectine Lyases.
PME : Pectine Méthyle-Estérase.
PNNS: Plan National Nutritionnel Santé
PP : polypropylène.
S/C : Simple concentration.
SS : Salmonella-Shigella.
T : Température.
TGEA : Gélose numération : Gélostryptone-glucose-Extrait de levure.
UHT : Ultra haute température.
Vit A : Rétinol
Vit C : Acide ascorbique
Vit E : Tocophérols
VF : Viande Foie.
% : Pourcentage.

Produced with ScanTOPDF

Introduction

Produced with ScantPDF

La faible consommation de fruits est associée à l'augmentation des risques de cancers ou autres maladies chroniques. Pour pallier cette sous-consommation de fruits et légumes, due entre autres à une faible durée de conservation, aux saisons courtes de consommation, aux prix élevés, le jus de fruit apparaît être une bonne alternative. D'ailleurs les recommandations nutritionnelles mondiales intègrent clairement le jus de fruits comme une portion de la consommation quotidienne en fruits et légumes (Cendres, 2011).

Les jus de fruits constituent une part essentielle du régime alimentaire humain. Au cours des vingt dernières années la recherche en nutrition humaine a prouvé qu'un régime équilibré, riche en jus de fruits, garantit une bonne santé et peut réduire les risques de certaines maladies. Fortement consommé partout dans le monde, le jus de fruits est une boisson essentielle à l'apport des vitamines quotidiennement nécessaires à l'organisme. Selon la région du monde où l'on se trouve les jus de fruits peuvent considérablement varier, mais ils sont obtenus de la même manière partout, par le pressage de fruits à jus comme les agrumes (orange, pamplemousse, citron, citron vert, mandarine), les raisins, les pommes, l'ananas et bien d'autres fruits encore. En jus ou en nectar, les jus de fruits simples ou multivitaminés sont une source d'énergie indéniable pour l'organisme (1).

La présence de plusieurs marques de jus de fruits naturels sur le marché Algérienne nous a encouragés à faire une étude approfondie pour analyser les conditions de conservations de ce produit issu du pressage des fruits. Pour disposer le jus tout au long de l'année, les hommes ont développé certaines méthodes permettant de prolonger la durée de stockage et de conservation des jus (Gebran et Hachem, 2001).

Malgré les avantages liés à la consommation et la demande mondiale de jus de fruits qui sont en constante augmentation par rapport aux autres boissons, celle-ci pose un problème de sécurité alimentaire dans la mesure où ces aliments consommés frais sont depuis longtemps reconnus comme sources de transmission de maladies infectieuses. Même si la majorité des intoxications alimentaires sont dues à la consommation d'aliments d'origine animale, le nombre de cas associés aux jus de fruits a progressé au cours des dix dernières années. Ainsi une large gamme de jus fruits contaminés a récemment causé d'importantes épidémies d'infections microbiennes. Celles-ci peuvent s'expliquer par différents facteurs : des changements dans les pratiques agricoles, un défaut de fabrication, une mal conservation (l'exposition des jus au soleil). Bien que la microflore de ce boisson soit dominée par des bactéries d'altération, des levures et des moisissures susceptibles de nuire aux qualités

organoleptiques et commerciales de ces jus , de nombreuses bactéries pathogènes, ont également été isolés à partir de jus fruits (2).

Cette synthèse bibliographique a pour objectif, dans un premier temps, de dresser un portrait de la microbiologie des jus de fruits, peu ou pas transformés, et de facteur des rayons solaires qui influencent la croissance et la survie des microorganismes à l'intérieur des produits. Dans un deuxième temps, elle passe en revue les traitements envisagés pour contrôler la qualité organoleptique et bactériologique de ces boissons.

Notre manuscrit est structuré en quatre chapitres interdépendants :

Le premier chapitre de ce travail est consacré à une étude bibliographique, dont on a abordé deux principaux sujets, des généralités sur le jus de fruit: définition, valeur nutritionnelles et consommation et la deuxième fabrication, conservation et altération du jus, dans la partie expérimentales on a explique les différents méthodes utilisée pour l'analyse microbiologie du jus, suivi d'une présentation des résultats avec leur interprétation.

La transformation des fruits en jus a toujours à pour objectif de prolonger la durée de consommation d'un fruit au-delà de sa saison et de profiter ainsi toute l'année de ses qualités nutritionnelles. Avant toute chose, les jus de fruits permettant de profiter de tous les bienfaits des fruits (3).

1. Définitions:

Le marché des jus de fruits comporte une grande variété de jus de fruits. Tous ces produits sont élaborés à partir de fruits et possède des caractéristiques différentes (Tableau 01).

On distingue les jus de fruits, les purs jus de fruits, les jus de fruits à base de jus concentré et les nectars de fruits :

1.1. Jus de fruits:

Jus obtenu à partir de fruits par des procédés mécaniques, fermentescible, mais non fermenté, possédant la couleur, l'arôme et le goût caractéristiques des jus de fruits dont il provient. Dans le cas des agrumes, le jus de fruits provient de l'endocarpe ; toutefois le jus de limette peut être obtenu à partir du fruit entier (Veiriling, 2007).

1.2. Les purs jus de fruits:

Il est réservé aux jus de fruits ou purées de fruits qui n'ont été obtenus ni avec concentration, ni à partir de matières premières concentrées et qui n'ont subi l'addition d'aucun produit, même de sucre.

On trouve des purs jus pasteurisés qui se conservent à température ambiante, des purs jus surgelés dont la conservation jusqu'à la DLUO doit être réalisée à -18 C° (un traitement thermique n'est pas nécessaire à leur conservation). certaines purs jus, portent aussi le qualificatif de Frais réservée aux jus de fruits purs, ou purée de fruits pures n'ayant subi aucun traitement après leur extraction ou leur broyage initial ; ils doivent être réfrigérés leur DLC est très limitée (Veiriling, 2007).

1.3. Jus de fruits à base de concentré:

Produit obtenu, à partir de jus de fruits concentré, après restitution de la proportion d'eau extraire du jus lors de la concentration, l'eau ajoutée présentant des caractéristiques appropriées, notamment des points de vue chimique, microbiologique et organoleptique de

façon à garantir les qualités essentielles du jus. La restitution de son arôme se fait au moyen des substances aromatisants récupérées lors de la concentration du jus de fruits dont il s'agit ou de jus de fruits de la même espèce et qui présente des caractéristiques organoleptiques et analytiques équivalentes.

L'addition de sucre est autorisée, la mention à base de concentré doit être inscrite à proximité de la dénomination. Des spécifications sont précisées par les normes AFNOR (Veirling, 2007)

1.4. Nectar de fruits:

Produit, non fermenté mais fermentescible, obtenu par addition d'eau et souvent de sucres ou de miel au jus de fruits, au jus de fruits concentré, à la purée de fruits, à la purée de fruits concentrée ou à un mélange de ces produits.

Le qualificatif pulpeux sous-entend nectar obtenu à partir de purée de fruits. La réglementation précise l'acidité minimale en jus :

- 26% pour les groseilles et goyaves, cassis, fruits de la passion.
- 30% pour les prunes.
- 40% pour les abricots, fraises, framboises, mûres et myrtilles.
- 45% pour les pêches.
- 50% pour les agrumes, poires et pommes.

La teneur minimale de chaque jus est fixée pour les nectars employant divers fruits exotiques (Veirling, 2007).

Tableau 01 : Les types de jus de fruits. (3)

Dénomination	Conservation	Teneur en fruits	Sucre ajouté	Pasteurisation	Durée de vie
Pur Jus 100 %	Frais	100 %	Non	Non	1 semaine
	Réfrigéré	100 %	Non	Oui	3 à 4 semaines
	Ambiant	100 %	Non	Oui	12 mois
Jus de fruit à base de jus concentré	Réfrigéré	100 %	Autorisé avec mention obligatoire	Oui	3 à 4 semaines
	Ambiant	100 %	Autorisé avec mention obligatoire	Oui	12 mois
Nectar	Réfrigéré	25 à 50 % minimum	Autorisé avec mention obligatoire	Oui	3 à 4 semaines
	Ambiant	25 à 50 % minimum	Autorisé avec mention obligatoire	Oui	12 mois

2. Les constituants des jus de fruits:

2.1. Les fruits:

La qualité d'un jus dépend de sa matière première : les fruits doivent être frais, sains, et murs. Pour la production des jus on utilise divers fruits. Les fruits destinés pour la transformation industrielle sont classés en groupes suivantes:

- Fruits à pépins (pompes, poires, coings).
- Fruits à noyaux (cerises, prunes, abricots, pêches, etc....).
- Fruits à baies (raisins, cassis etc....).
- Fruits tropicaux et subtropicaux (oranges, citrons, mandarines...) (Agongou et Benamara, 2003).

2.2. L'eau:

L'eau doit satisfaire les exigences d'une eau potable. Elle ne doit pas contenir des substances toxiques pour l'organisme, y compris l'ammoniac et l'hydrogène sulfuré.

La dureté totale ne doit pas être supérieure à 7 mg. éq/l.)(Agougou et Benamara, 2003).

2.3. Le sucre:

Le sucre doit être propre, sec, mouvant, sans grumeaux, sans gout ni odeur étrangers, de couleur blanche. la teneur en humidité doivent être inférieure à 0.15% (Agougou et Benamara, 2003).

2.4. Les acides alimentaires:

Les Acides Citrique et Tartrique doivent contenir pas moins de 99.5% d'acide et pas de plus de 0.1 à 0.35% de cendres. L'arsenic et les sels des métaux lourds ne sont pas admis (Agougou et Benamara, 2003).

3. Valeur alimentaire des jus de fruits:

Les fruits ont une place importante dans notre alimentation. Ils nous apportent de nombreux éléments indispensables au bon fonctionnement de notre organisme. Les jus de fruits conservent une majeure partie de ces éléments : sucre, minéraux et vitamines. Ce sont donc, non seulement des boissons saines, mais ayant une réelle valeur alimentaire (Tableau 02).

Les jus d'agrumes et tomates sont plus riches en vitamine C que les jus de pommes et de raisin à cause de la teneur initial des fruits (Dupin et Serville, 1990).

De façon générale la valeur alimentaire des jus de fruits est celle de leurs composantes :

3.1. L'eau:

Les jus de fruits sont composés en moyenne de 90% d'eau. Ils contribuent donc à hydrater l'organisme en couvrant les besoins en eau, en complément des autres boissons quotidiennes (4).

3.2. Les fibres:

Ils sont une source de fibres. Si lors de la fabrication, le pressage élimine une partie des fibres, elles se retrouvent sous forme de fibres douces (pectines) dans la pulpe des jus de fruits. Ils sont peu caloriques (4).

3.3. Les vitamines:

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

- Vitamine C, anti oxydantes et essentielle dans la résistance aux infections,
- Provitamine A, indispensable à la croissance et à la vision nocturne,
- Vitamine B9 (acide folique), nécessaire à la formation des globules rouges (4).

3.4. Les minéraux:

Ils sont source de minéraux variés et notamment :

- En potassium qui évite la rétention d'eau,
- En magnésium, relaxant musculaire,
- En nombreux oligoéléments, nécessaires à l'équilibre nutritionnel(4).

3.5. Les antioxydants:

Ils sont source d'antioxydants protecteurs, les antioxydants ont pour rôle de bloquer l'effet néfaste des radicaux libres sur les cellules. Ils sont présents dans les jus de fruits sous forme de polyphénols, caroténoïdes, vitamines C et E, et aident à la protection des maladies cardio-vasculaires et du cancer (4).

Tableau 02 : Composition de quelques jus de fruits (pour 100g). (Veirring, 2007)

Jus de	Extrait sec (g)	Protides (g)	Lipides (g)	Glucides (g)	Valeur énergétique (kcal)	Minéraux (mg)	Vitamines C (mg)	Carotène (µg)	Acide folique (mg)	Vitamine E (µg)	Pectines (mg)
Ananas	14	0,4	0.12	13	80	200	10	-	0.002	-	-
orange	13	0.2	0.2	10	40	380	45	0,074	0.035	0.13	54
pomme	12	0,01	-	12	50	270	1.4	1.4	0.003	0.45	32
Pamplemousse	11.5	0.53	-	11.3	50	370	36	36	0.002	-	-
raisin	15	0.15	0.04	16.5	70	200	1.5	1.5	-	-	200
citron	8.5	0.4		7.7	34	340	53	0.046	0.001	-	-

4. La consommation:

Si l'eau reste la meilleure des boissons pour notre organisme, les jus de fruits permettent de varier les goûts et peuvent remplacer un fruit lors d'une collation ou d'un repas.

Les jus de fruits est très digestes, et ils sont appréciés et recommandés à tout âge:

- Pour le nourrisson: dilué avec de l'eau dès l'âge de 4 mois.
- Pour les enfants: une manière différente de consommer un fruit.
- Pour les personnes âgées: un apport hydrique et vitaminique intéressant.

- Pour les sportifs: une boisson pour l'effort et la récupération.
- Et pour chacun, le plaisir d'une boisson délicieuse et désaltérante.

La consommation quotidienne des jus de fruits est recommandée dans le PNNS pour aider à parvenir aux objectifs de cinq fruits et légumes par jour.

Les plus grands consommateurs de jus de fruits sont les Allemands avec 39,61% (consommation annuelle en litres par personne) suivis par les Américains avec 33,1% (5).

Produced with ScanTOPDF

1.1.5. Triage et lavage des fruits:

Les fruits devraient être inspectés dans un milieu propre, sec et bien éclairé. Seuls les fruits sains devraient être utilisés. Les fruits pourris, piqués, endommagés (dont la chair est exposée) et souillés (excréments) devraient être éliminés pour prévenir la contamination du jus. Puis les fruits devraient être soumis à un lavage, à un brossage et à un rinçage efficaces pour éliminer les produits phytosanitaires, la terre éventuelle (Anonyme, 2000).

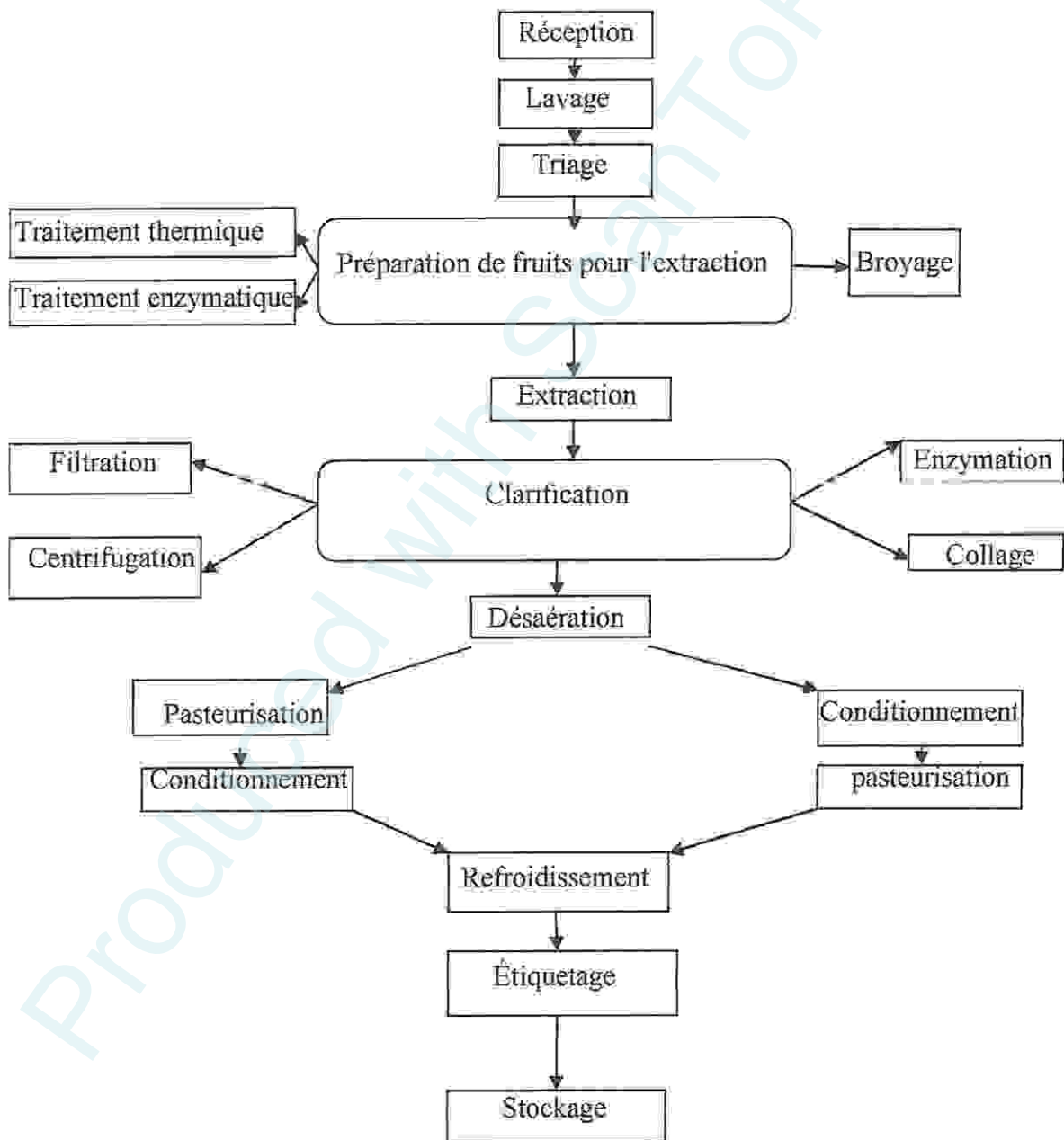


Figure 01: Digramme de fabrication de jus de fruits

1.2. Extraction des jus:

C'est la méthode fondamentale la plus répandue dans l'industrie des jus, à pour but d'extraire le jus de fruits. Différentes conceptions de pressoirs existent sur le marché. Elles entraînent des résultats variables au niveau du rendement en jus et de la rapidité du pressurage. Chaque installation nécessite, pour un bon fonctionnement, une quantité minimale de fruits. Les principaux types de pressoirs sont les suivants :

- Pressoir hydraulique à paquets.
- Pressoir hydraulique ou manuel à cage.
- Pressoir à tambour.
- Pressoir à bandes (Pache, 2000).

Avant l'extraction des jus, il est nécessaire d'agir en amont du pressurage par des actions physiques et/ou enzymatiques (broyage, chauffage, traitement enzymatique), afin d'augmenter le rendement en facilitant l'extraction par une destruction augmentée du fruit (Cendres, 2011).

1.2.1. Broyage:

Le processus mécanique d'action sur les tissus végétaux est le concassage. Les fruits sont coupés en petits morceaux, en conséquence de quoi le jus s'écoule de tissu végétal.

Il est important de prendre en considération le type matière première à concasser. Les fruits à pépins et les tomates sont broyées ensemble avec les graines, les abricots et quelques types de prunes sont morcelés et pressurés sans noyaux. Certaines baies (framboise par exemple) sont pressurées sans broyage préalable.

Bien que le procédé de concassage et de pressurage se modernisent en permanence, il en demeure pas moins que détruire complètement mes cellules n'aboutit pas par conséquent, le broyage et pressurage ne sont pas suffisants pour extraire tout le jus des tissus végétaux. (Agougou et Benamara 2003).

1.2.2. Traitement thermique:

Dans le processus de chauffage, les pectines se coagulent et se déshydratent, les cellules perdent leur élasticité et la libération du jus devient facile.

Le chauffage diminue le mucilage et la viscosité caractéristique au jus de baies crues. Il favorise aussi le transfert dans le jus des substances colorantes et aromatiques de la pelure et de la pulpe.

Tableau 03 : Modification enzymatique des parois cellulaires. (Cendres, 2011).

Traitement	Enzymes utilisées	Action
Macération	PG	Hydrolyser partiellement les pectines de la lamelle moyenne afin de dissocier les cellules tout en conservant les parois intactes. Le jus obtenu est visqueux et contient une suspension de cellules.
Liquéfaction	PME-PG-Cellulase	hydrolyser de la paroi pour permettre l'éclatement des cellules et la libération des sucres vacuolaires et cytoplasmiques. Dans ce procédé, Tous les niveaux de la paroi sont attaqués, la paroi disparaît physiquement.

1.3. Stabilisation du trouble

Dans les jus troubles, il est nécessaire que le trouble ou l'opalescence reste homogène pour préserver les qualités organoleptiques de ce type de jus, comme la couleur et la sensation du jus en bouche. Le trouble est attribué à une suspension de particules composée de pectines, protéines, lipides, hémicellulose, cellulose et d'autres composants mineurs.

Le risque majeur de déstabilisation du trouble est la clarification spontanée du jus au cours du stockage. En effet, si les enzymes endogènes ne sont pas inactivées, sous l'action de la PME endogène, les pectines solubles gélifient sous forme de pectinate de calcium emprisonnant les particules en suspension. La rétraction du gel par synérèse expulse un sérum limpide donnant un aspect bi-phasique au jus.

Des actions peuvent être menées à plusieurs niveaux afin de prévenir la déstabilisation des jus. L'addition de chélateurs de calcium serait un moyen de stabiliser le trouble en évitant la formation de pectinate de calcium, mais ceux-ci sont interdits dans les jus. Il est donc nécessaire d'agir au cours du procédé de transformation en inactivant la PME ou en dégradant les pectines solubles. Dans le jus de carottes, l'inactivation totale de la PME nécessite un traitement thermique de 10 minutes à 70°C ou 5 minutes à 80°C. L'utilisation des champs électriques pulsés à haute intensité permet une inactivation de la PME et une diminution de la viscosité comparable à un traitement thermique (90°C, 30 s) dans le jus de pastèque.

L'utilisation des ultra-sons dans le jus d'orange permet l'inactivation totale de la PME et une stabilité du jus augmentée (Cendres, 2011).

1.4. Clarification:

La clarification d'un jus de fruit consiste à le rendre plus clair par différents procédés :

- Filtration.
- Centrifugation.
- Clarification enzymatique.
- Collage.

Ces procédés permettent la séparation de la phase liquide et des éléments solides (restes cellulaires, protéines, pectines, tannins...) qui en général troublent la boisson (Agougou et Benamara 2003).

1.4.1. Filtration:

On sert la filtration pour la séparation des grands fragments des tissus fruitiers par le passage du jus à travers un tamis en acier inoxydable avec des orifices de dimension 0.75 mm. Le jus après une filtration devienne clair et ne donnant pas de dépôt lors de la conservation (Agougou et Benamara 2003).

1.4.2. Centrifugation:

La centrifugation permet de séparer de grosses particules en suspension contenus dans le jus à l'aide d'une centrifugeuse, destiné à imprimer une accélération, grâce à un mouvement de rotation, à un mélange liquide-solide (le jus). Le plus souvent, le mélange est déposé dans un récipient perforé de multiples orifices, la taille de ceux-ci étant suffisamment grande pour laisser passer le liquide et assez petite pour empêcher le passage du solide. Le jus pressuré et après centrifugation ne contient pas de grosses particules en suspension mais il se présente pas comme solution trouble, opalescente (Agougou et Benamara 2003).

1.4.3. Clarification enzymatique:

Il s'agit d'introduire une enzyme clarifiant issue d'une culture de champignons. Le rôle de l'enzyme est d'hydrolyser la pectine. Par cette opération, la pectine qui stabilise le trouble des jus est transformée en une substance chimiquement plus simple, qui permettra le collage par la gélatine.

L'enzyme est diluée à la dose prescrite par le fabricant dans du jus froid, puis introduite ainsi dans le jus fraîchement pressé. La préparation doit être très bien mélangée à l'ensemble du jus. Laisser agir au moins 30 minutes. Le jus doit rester dans la même cuve jusqu'à la fin de la clarification. Il convient de choisir une cuve ayant une surface petite par rapport à sa hauteur. Elle sera préalablement placée en position surélevée, de façon à pouvoir prélever le jus en le siphonnant, sans provoquer de remous à la fin de la clarification (Pache, 2000).

1.4.4. Collage :

Le collage consiste en une addition au jus des solutions colloïdales qui, neutralisant les colloïdes naturelles du jus provoque la sédimentation. Ce processus peut être parfois activé par l'addition de substances qui forment avec les colloïdes des combinaisons insolubles, ou transforment les colloïdes hydrophiles du jus en colloïdes hydrophobes.

Pour les jus de fruits, le plus étudié est le collage par la gélatine. Choisir de la gélatine alimentaire (liquide, en feuilles ou en poudre); cette gélatine se combine avec l'albumine et le tanin contenus dans le jus, formant un corps floconneux: le tanate de gélatine et d'albumine.

Les particules de ce corps floconneux s'agglutinent en un réseau serré, entraînant tel un filet, les particules en suspension vers le fond du récipient. La présence de poires dans le mélange favorise la clarification, parce que plus riches en tannins.

La gélatine est diluée selon le dosage du fabricant (15 g / 100 litres) dans un litre de jus chaud, puis elle est incorporée au jus se trouvant dans la cuve. Il est important de très bien dissoudre la gélatine puis de brasser soigneusement. Laisser ensuite reposer le jus durant une nuit sans déplacement ni provocation de remous dans la cuve(Pache, 2000).

1.5. Désaération:

La désaération a pour but d'éliminer l'oxygène dissous dans le jus dans le but de préserver la vitamine C et la flaveur. Les jus d'agrumes sont particulièrement sensibles aux changements de goûts dus à l'oxygène et la désaération est surtout pratiquée pour le jus d'orange.

Dans l'industrie alimentaire sont utilisés quelques types de désaérateurs. les plus perfectionnés sont les désaérateurs de type à pulvérisation et à pellicule.

En vue de l'élimination de l'air à partir du jus on peut utiliser un quelconque réservoir relié à une pompe à vide. Le jus chauffé à 40-45°C est introduit et on crée une

raréfaction de 600-650 mm Hg, la température à laquelle est chauffée le jus doit être inférieure au point d'ébullition de l'eau au vide donné afin que le jus ne s'évapore pas. Le produit est maintenant sous le vide pendant 10-12 minutes.

En plus de la désaération du jus on utilise quelque fois l'élimination de l'air de l'espace supérieur de la boîte avant le sertissage. Le jus désaéré devient plus stable durant la conservation (Serville et Dupin, 1980).

2. Conservation :

La détérioration des jus peut être provoquée par différents facteurs : les microorganismes, les enzymes et l'action réciproque entre les éléments du jus.

Lors du choix du procédé de conservation il importe de considérer non seulement l'efficacité de prémunir le jus d'une quelconque altération mais aussi l'action de ce processus sur la qualité du produit (Agougou et Benamara, 2003).

Selon l'objectif recherché, on distingue plusieurs techniques de conservation des jus de fruits comme la pasteurisation(7) ; Le jus de fruit fait maison doit être consommé sitôt pressé, sinon il perd son intérêt. Pour les jus de fruits du commerce, les techniques de pasteurisation très rapides et parfaitement maîtrisées respectent la saveur et la qualité nutritionnelle des fruits. Les jus de fruits frais (avec une pasteurisation légère « flash pasteurisation ») doivent se conserver au réfrigérateur. Les purs jus pasteurisés peuvent se conserver à température ambiante pendant plusieurs mois sans se dégrader (8).

En dehors de la réfrigération, d'autres moyens de conservation peuvent être utilisés parallèlement pour contraindre le développement des microorganismes survivants, comme la congélation, la concentration, l'ajout d'agents chimiques de conservation, etc (7).

2.1. Pasteurisation :

◆ Définition :

La pasteurisation est un traitement thermique modéré et suffisant permettant la destruction des microorganismes pathogènes et d'un grand nombre de microorganismes d'altération (7).

gaz, une chaudière de chauffage central ou encore une chaudière à vapeur. Avec ce système, le débit de jus chaud est continu (Agougon et Benamara, 2003).

b. Le chauffage au moyen d'un appareil à électrodes (thermoplongeur) :

C'est le système le mieux adapté pour la pasteurisation des jus dans le cadre familial. En effet, ce système demande peu de matériel et reste simple d'emploi:

Un thermoplongeur comprenant trois électrodes (charbons) est alimenté par du courant électrique 380 volts. Il est plongé dans le jus à chauffer. Le jus contenant des substances dissoutes (sucres) jouera le rôle de résistance au passage du courant électrique; il s'en suivra une élévation de la température du jus. Plusieurs longueurs d'électrodes sont disponibles sur le marché. Leur choix sera effectué en fonction de la richesse du jus en substances dissoutes. Plus il est riche, plus les électrodes seront courtes. Les électrodes sont choisies de façon à obtenir un débit électrique pour l'installation de 10 à 12 ampères. Si l'on utilise un courant trop fort (électrodes trop longues), le jus peut prendre un goût de cuit. La consommation d'électricité va diminuer au fur et à mesure que le jus s'échauffe puisque la résistance électrique du jus diminue lorsque sa température s'élève. Une consommation électrique trop forte ou une installation électrique trop faible feront fondre les fusibles et obligeront l'utilisation de charbons plus courts. Le branchement de l'appareil se fait sur une prise alimentée en courant triphasé, l'appareil lui-même répondra aux normes de sécurité en vigueur et sera donc équipé d'un disjoncteur pour courant de défaut(9).



Figure 02: Le thermoplongeur(9).

2.2. Congélation :

Une congélation rapide à -18°C est une des méthodes de conservation de jus les plus perfectionnées. A l'état congelé, la majorité des jus conservent bien leur goût et arôme naturels. Pour les jus d'agrumes, particulièrement le citron, la congélation est le procédé unique permettant d'éviter une forte altération de la qualité au moment de la conservation. A la différence des autres procédés, la congélation n'engendre pas la stérilisation du produit. Elle crée les conditions non favorables pour le développement des microorganismes et freine les processus chimiques et enzymatiques.

D'autres données montrent que non seulement la quantité des micro-organismes reste invariable lors de la congélation mais en plus elle diminue même jusqu'à 5-10% par rapport au produit initiale.

La congélation peut être conduite rapidement à moins de 45°C dans des congélateurs spéciaux ou lentement (à -18°C) dans des chambres froides. une congélation rapide est préférable car elle permet la formation de plus petits cristaux de glace et les substances colloïdes coagulent à un degré moindre (Agougou et Benamara, 2003).

2.3. Concentration :

La concentration consiste à éliminer environ 80% de l'eau contenue dans le jus, en altérant le moins possible les substances solides et sans éliminer les arômes, elle se fait dans des évaporeurs vide, «à triple effet » : trois concentrations successives précédées de la récupération de constituant aromatiques des jus (constituants volatiles et huiles essentielles).

Leur réincorporation se fait au moment le plus proche possible de la consommation. les arômes des jus stockés à 4°C peuvent aussi être utilisée dans les boissons ou d'autres produits alimentaire (vierling, 2007).

2.4. Conservation chimiques :

Comme substances chimiques essentielles utilisées pour la conservation des jus on trouve l'anhydride sulfureux, l'acide benzoïque, l'acide sorbique ainsi que les selles de ces substances et quelque nouveau types de produits chimiques conservateurs. On exige que ces substances soient aptes à exercer une action antiseptique sur tous les microorganismes nuisibles des jus et inoffensives pour l'organisme humain. il importe de respecter les exigences

suivantes : les jus de fruits doivent être parfaitement frais sans aucun signe de fermentation alcoolique. La quantité de microorganismes ne doit pas être grande.

Les conservateurs chimiques anéantissent l'activité vitale des microorganismes mais n'inhibent pas les enzymes.

Les jus de fruits renferment un certain antibiotique qui s'explique par la présence des organismes (citrique, malique et tartrique) (Agougou et Benamara, 2003).

a. L'anhydride sulfureux :

Pour la conservation des jus on se sert de l'anhydride sulfureux liquide transporté dans des ballons en acier. Il recèle une forte action antiseptique. Avec des doses de 0.10-0.12% il provoque l'anéantissement de tous les microorganismes du jus.

La teneur en anhydride sulfureux doit être de 0.12% dans les jus de fraises, de framboises, de cassis et de 0.15% dans tous les autres. Le jus sulfité est conservé dans les réservoirs jusqu'à la clarification. Avant l'utilisation du jus, l'anhydride sulfureux est éliminé au moyen d'un traitement thermique ou par une dissulfitation chimique (Agougou et Benamara, 2003).

b. L'acide benzoïque :

Ce conservateur se présente une substance cristalline ayant une température de fusion de 122.5°C difficilement soluble dans l'eau. Les sels métaux alcalins de l'acide benzoïque se dissolvent facilement dans l'eau. C'est pourquoi on n'utilise pas l'acide lui-même pour la conservation mais son sel, souvent le benzoate de sodium.

Pour l'obtention du benzoate de sodium on mélange 100 parties d'acide benzoïque avec 69 parties de soude. Le tout est dissout dans l'eau chaude. Ainsi se forme le benzoate de sodium. On obtient 118 parties de ce sel à partir de 100 parties d'acide. L'utilisation de l'acide benzoïque et de benzoate de sodium est possible pour les jus ayant une acidité d'au moins 0.4 %.

La teneur en benzoate de sodium dans le jus de fraise, de framboises, de cassis est de 0.10 % au maximum pour tous les autres -0.12 % au maximum. Il agit efficacement aussi bien sur les levures que sur les spores de moisissures (Agougou et Benamara, 2003).

Parmi l'altération du jus de fruits aux différentes conditions de conservations, et facteurs d'environnements, nous avons précisées d'avoir l'effet du soleil sur la qualité microbiologique, et organoleptique des jus de fruits emballées en plastiques et briques cartons (de plus clairement et confirmé ces effets dans les deux chapitres 3 et 4).

5.1. Altération de la qualité organoleptique :

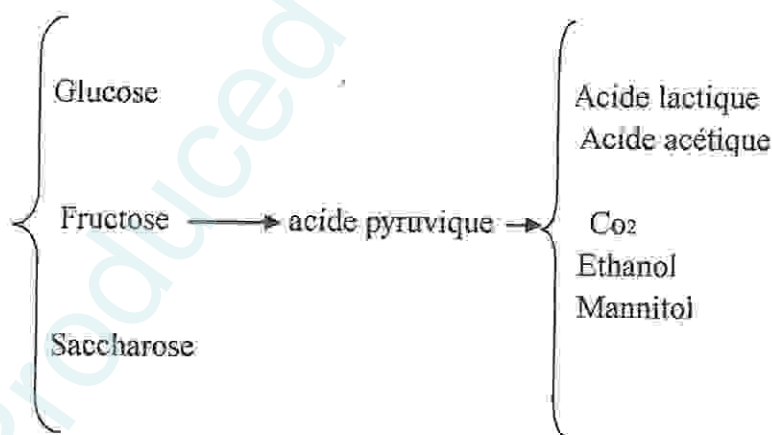
En principe, tous les plastiques laissent passer un certain spectre rayons solaires. Dès lors, les jus contenus dans des bouteilles en plastique ne se conservent pas indéfiniment. Les rayons UV génèrent également des changements de couleur, de goût et d'odeur. Ainsi les briques cartons peuvent être sensibles à ce type de rayonnement (gonflement de l'emballage par exemple) ou peuvent altérer les propriétés organoleptiques du jus en lui conférant un goût ou une odeur inacceptable (goût de moisi et odeur indésirable) (11).

5.2. Altération de la qualité microbiologique :

◆ Par les bactéries :

Les bactéries sont moins bien adaptées à la vie dans le jus de fruit, seules les lactobacilles (acidophiles) sont associées aux jus de fruits, elles produisent de l'acide lactique et autres acides.

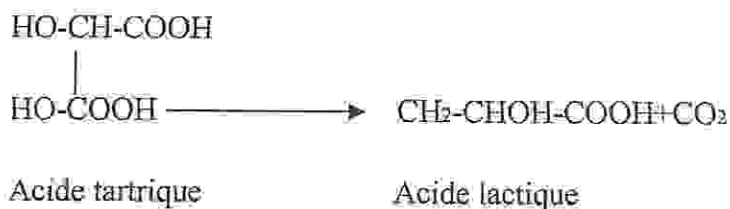
• Sucre simple :



• Exemple:

-Lactobacillus pentoaceticus → mannitol + éthanol

-Lactobacillus plantarum → Ac. Lactique + Ac. Acétique



Cette transformation est assurée par *Clostridium pasteurianum* qui peut se développer dans le jus d'ananas dont le pH=4 (Ait abdelouahab, 2007).

♦ Par les levures :

Parmi les organismes altérant les jus, les plus importants sont les levures (90%). Lorsque les teneurs en sucre sont comprises entre 10 et 30, les levures peuvent se développer. *Saccharomyces millis* et *Saccharomyces rouxi* fermentent les sucres pour donner l'éthanol. *Candida pulcherina*, *Candida malicola* et *Stryptococcus albidus* donnent des dextranses (Ait abdelouahab, 2007).

Tableau 08: Exemples de réactions indésirables catalysées par la présence d'enzymes microbiennes dans les boissons riches en sucres et en acides aminés. (Ait abdelouahab, 2007)

Substrats	Organismes responsables	Produis de la réaction
Glucose, Fructose, Saccharose	<i>Lactobacillus</i> spp	Acide lactique + Acide acétique + CO ₂
Glucose	<i>Acétobacter</i> spp	Acide gluconique
Fructose	<i>Lactobacillus brevis</i>	Mannitol + Ac.lac + Ac. acétique + CO ₂
Maltose, Saccharose	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Escherichia coli</i>	Amylose + Glucose Fructose
Saccharose	<i>L. mesenteroides</i> , Bac. <i>Subtilis</i> , <i>Str. viscosum</i>	Dextrane + Fructose Levane + Glucose
Ethanol	<i>Acétobacter</i> spp	Acide acétique + H ⁺
Acide citrique	<i>Acétobacter</i> spp	Acide lactique + Acide acétique + CO ₂
Acide citrique	<i>Bacterium. Succinum</i>	Ac. Succinique + CO ₂
Acide malique	<i>Lactobacillus</i> spp <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Acide acétique + CO ₂
Acide tartrique	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Acide acétique + CO ₂

Matériels et Méthodes

Produced with ScanTOPDF

1. Matériels :

L'analyse bactériologique est pratiquée dans un laboratoire de microbiologie (université 08 Mai Guelma). Le laboratoire est muni d'une paillasse avec un évier, dont le matériel disponible est :

◆ Appareils :

- Bec bunsen: pour assurer une stérilisation instantanée.
- Bain marie : pour la transfusion des milieux de culture.
- Four Pasteur : stérilisation de la verrerie du laboratoire à sec.
- Autoclave : stérilisation à la vapeur.
- Incubateur : pour la culture des bactéries.
- Réfrigérateur : conservation des souches et des réactifs.
- Microscope optique : permet l'observation (état frais, coloration de Gram).

◆ Verrerie :

- Tout genre de pipettes (20cc, 10cc, 5cc, 2cc, 1cc) utilisées pour l'inoculation.
- Pipettes Pasteur pour l'inoculation et l'ensemencement.
- Micropipettes pour une prise très précise.
- Becher à différents volumes.
- Lames et lamelles utilisées pour l'observation microscopique.
- Tubes à essai.

◆ Autres matériels :

- Boîtes de Pétri pour les cultures bactériennes.
- Tubes à hémolyse.
- Anse de platine utilisée en ensemencement.
- Portoirs.

◆ Milieux de culture solides et liquides ainsi que plusieurs réactifs.

2. Méthodes d'analyses :

Le contrôle organoleptiques de jus de fruits est vérifié sur trois caractéristiques (gout, couleur et l'odeur).

L'analyse microbiologique de jus de fruit consisterait logiquement à rechercher les microorganismes pathogènes qu'elle peut contenir à savoir :

- Les germes totaux (germes revivifiables).
- Les germes indicateurs de contaminations fécales : les coliformes totaux, coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les spores des anaérobies sulfatoréducteurs.
- L'identification d'éventuel germes pathogènes.

2.1. Technique d'échantillonnage :

Cette étude a été effectuée sur quatre échantillons de jus de fruits conditionné dans deux types d'emballages (plastique et brique) conservés durant une période de quinze jours dans deux milieux extérieurs différents, les deux premiers (échantillon 1 et 2) ont été exposés au rayonnement solaire, les deux autres (échantillon 3 et 4) ont été mis à l'abri du soleil (Tableau 09).

Tableau 09: Conditions d'échantillonnage.

Echantillon	Date d'achat	N° de Lot	Conditions d'échantillonnage
1	23/03/2011	088	Emballée en plastique, exposée au soleil
2	23/03/2011	30	Emballée en brique, exposée au soleil.
3	23/03/2011	088	Emballée en plastique, à l'abri du soleil.
4	23/03/2011	30	Emballée en brique, à l'abri du soleil.

2.2. Contrôle de la qualité organoleptique :

Avant de procéder à l'étude bactériologique du jus de fruit, il faut d'abord contrôler les qualités organoleptiques des différents échantillons à étudier à savoir, le goût, la couleur et l'odeur en observant tous les changements apparus.

2.3. Contrôle bactériologique :

2.3.1. Recherche et dénombrement des germes totaux :

La recherche et le dénombrement des germes revivifiables (totaux) se réalise à deux températures différentes afin de cibler à la fois les micro-organismes à tendance psychrophiles soit à 22°C et ceux franchement mésophiles soit 37°C (Lebres, 2006).

- A partir de jus à analyser, porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées comme l'indique (la figure 03),
- Compléter ensuite chacune des boîtes avec environ 20 ml de gélose TGEA (Annexe 1) fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.
- Laisser solidifier sur paillasse, puis incuber.

◆ Incubation :

- La première boîte sera incubée, couvercle en bas à 22°C.
- La seconde sera incubée couvercle en bas à 37°C.

◆ Lecture :

Les germes revivifiables se présentent dans les deux cas sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse :

- Première lecture à 24 heures.
- Deuxième lecture à 48 heures.
- Troisième lecture à 72 heures.

2.3.2. Recherche et le dénombrement des germes indicateurs de contaminations fécales :

2.3.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux avec l'identification d'*Escherichia coli* :

Les coliformes se présentent sous forme de Bacilles Gram négatifs (BGN), non sporogènes, oxydase négative, aéroanaérobies facultatifs, capables de croître en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acides et de gaz, en 24 à 48 heures à 37°C. Les coliformes sont considérés comme indices de contamination fécale (Lebres, 2006).

La recherche et le dénombrement des bactéries coliformes, coliformesthermotolérants et des *Escherichia coli* dans les jus, en milieu liquide par la technique NPP, se fait en deux étapes consécutives :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des coliformes.
- Le test de confirmation : réservé à la recherche des coliforme thermotolérants (*Escherichia coli*).

a. Test de présomption :

◆ Mode opératoire :

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène des microorganismes, nous avons réalisé cinq dilutions décimales successives (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) avec trois répétitions par dilution. Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques (Rejsek, 2002).

- Nous prenons les tubes de BCPL (Annexe 1) munis d'une cloche de Durham.
- Prélever 1ml du jus à analyser à l'aide d'une pipette pasteur stérile et la porte dans le premier tube de la série contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-1} .
- Nous prélevons 1ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajouter à un tube contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-2} .
- Transférer 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-3} .

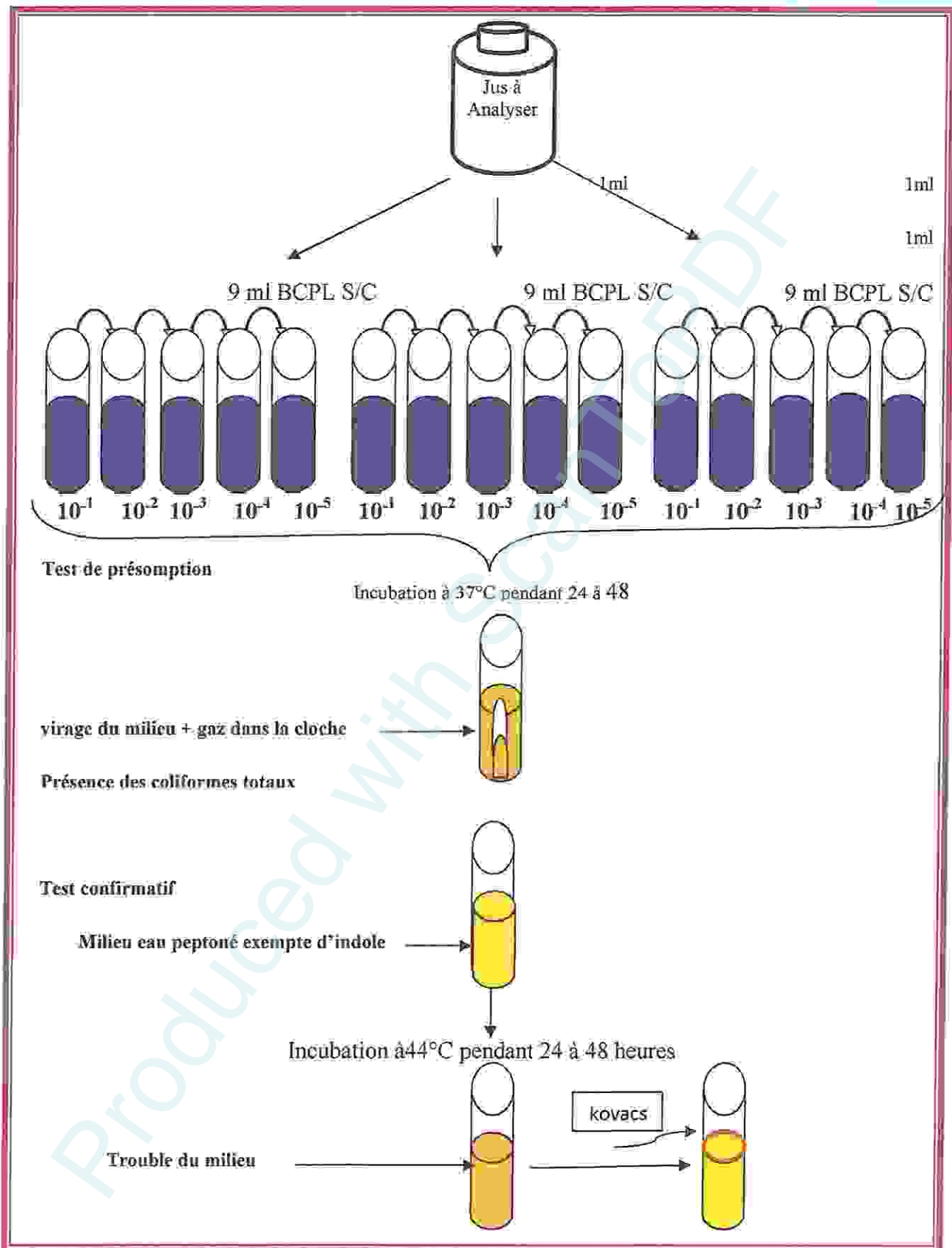


Fig.04: Recherche et dénombrement des coliformes, coliformes Thermotolérants.

2.3.2.2. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux :

Les Streptocoques fécaux ou du groupe D se présentent sous forme de cocci à Gram (+), formant des chaînettes, ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène du groupe D (Lebreset *al.* 2008).

La recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Le test de présomption
- Le test de confirmation : réservé à la confirmation réelle des Streptocoques fécaux.

a. Test de présomption :

◆ Mode opératoire :

- A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement 1ml dans un tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C pour obtenir la dilution 10^{-1} .
- Prélevé 1ml de tube précédent 10^{-1} et mettre dans le seconde tube Rothe pour avoir la dilution 10^{-2} .
- Transférer 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube contenant 9ml de milieu Rothe S/C, pour obtenir la dilution 10^{-3} .
- Refaire la technique 5 fois pour avoir 5 tubes de Rothe, et refaire 2 autres séries.

◆ Incubation :

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

◆ Lecture :

Seront considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien (Rejsek, 2002 ; Délarras, 2008).

b. Test de confirmation :◆ **Mode opératoire :**

Le milieu d'EvaLitsky est confirmatif de la présence des streptocoques D dans le jus.

- agiter les tubes de Rothe positifs.
- repiquer à l'aide d'une anse de platine de chacun de ces tubes dans un milieu Eva Litsky (Lebreset al. 2008).

◆ **Incubation :**

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

◆ **Lecture :**

Seront considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond de tube. La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP (Lebres, 2006).

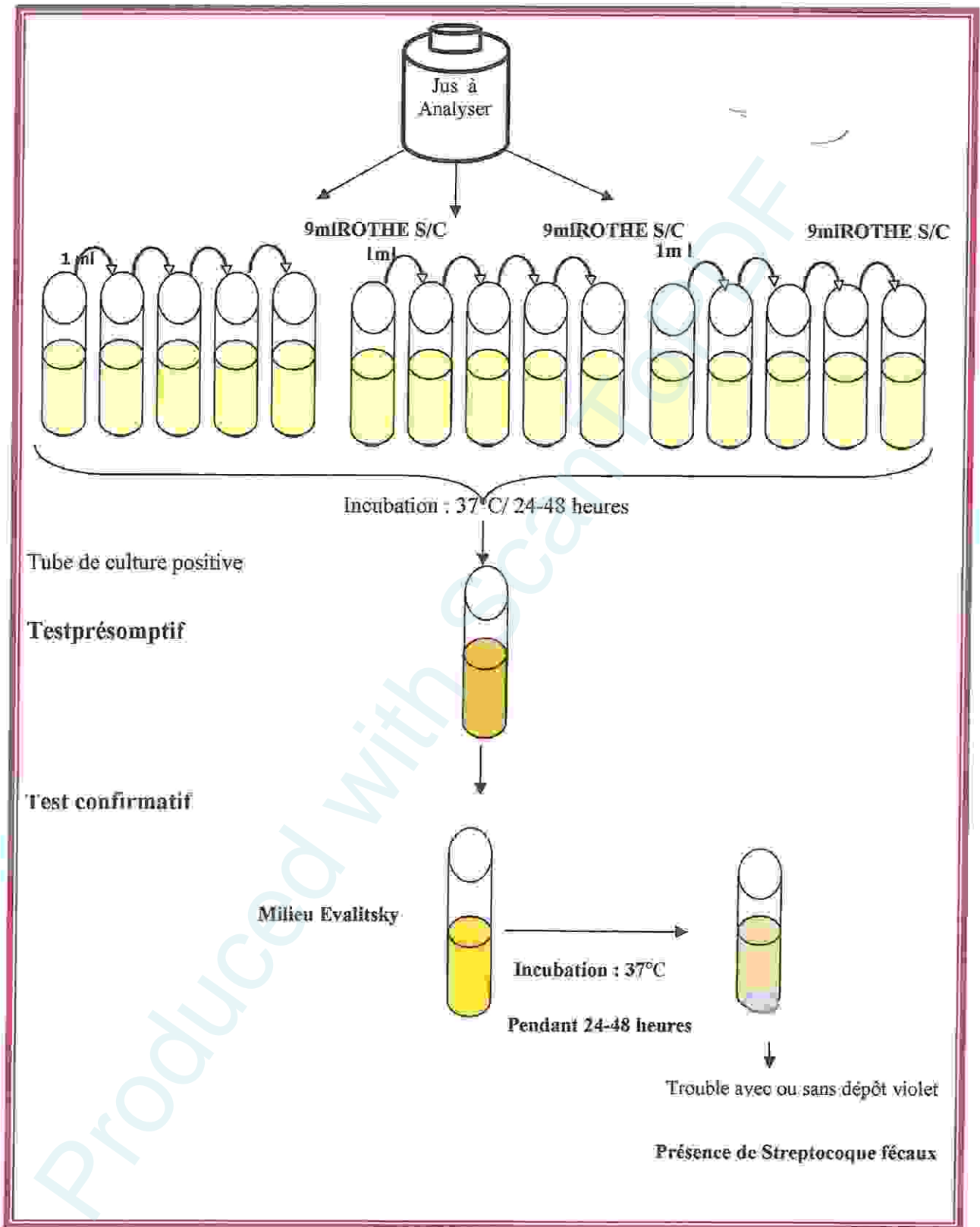


Fig.05 : Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux

2.3.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfatoréducteurs (ASR) :

♦ Mode opératoire :

Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram +, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire. Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne (Labres *et al.*, 2008; Pechère, 1982).

A partir de jus à analyser :

- Prendre environ 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet.
- Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose Viande Foie, fondue puis refroidie à 45 ± 1°C, additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes (Rodier, 1996).

♦ Incubation :

Incuber à 37°C, pendant 24 à 48 heures.

♦ Lecture :

La première lecture doit absolument être faite à 16 heures et la deuxième lecture se fera à 24 heures et la troisième et dernière à 48 heures (Labres, 2006).

Il est donc impératif de repérer et de dénombrer toutes les colonies noires poussant en masse et de rapporter le total des colonies à 20 ml d'eau à analyser.

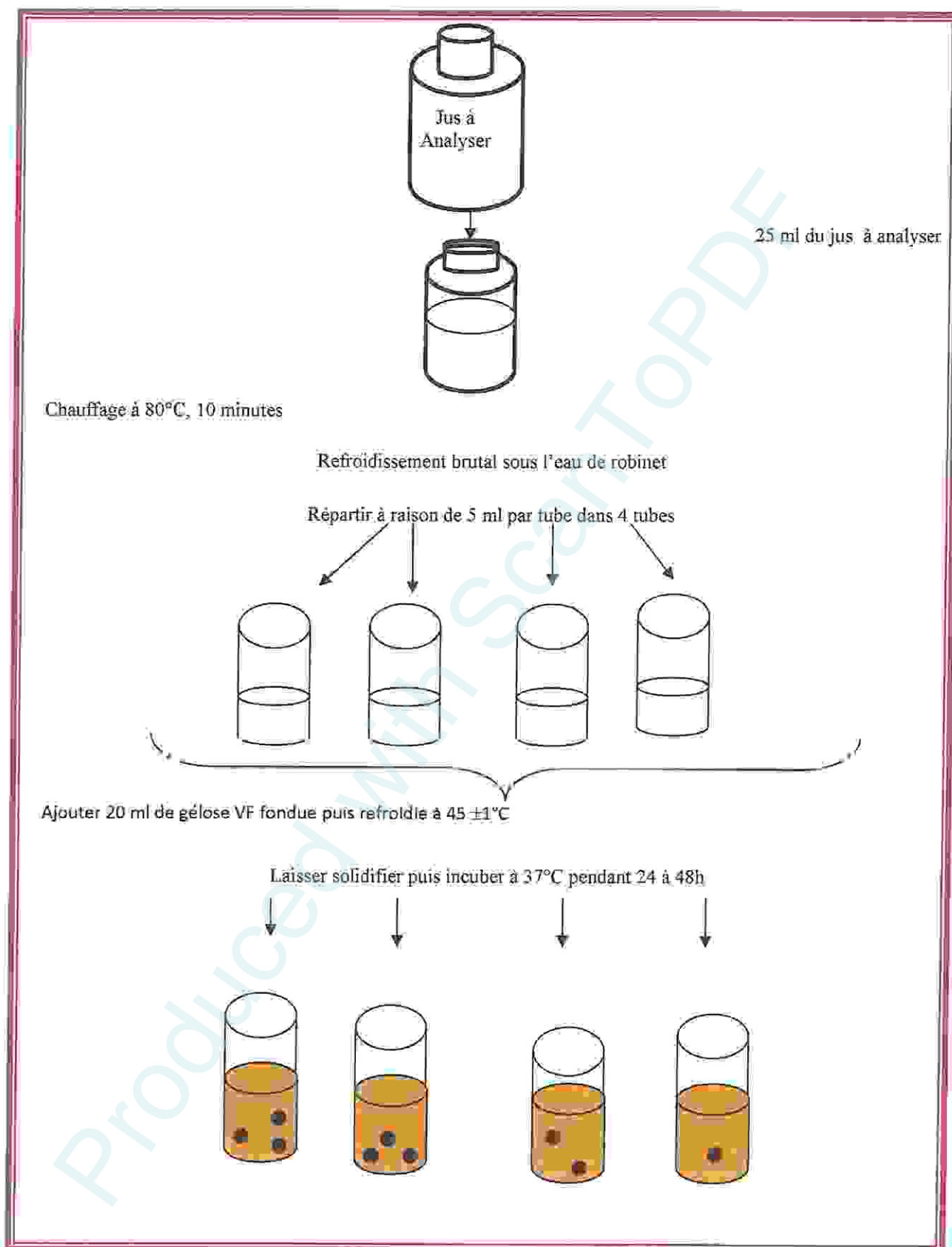


Fig.06 : Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite réducteurs (ASR).

- Remplir tubes et cupules des tests : CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37°C pendant 18-24 heures.

- **Lecture :**

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées. Si le glucose est positif et/ou si 3 tests ou plus sont positifs : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

- Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kovacs. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20E.

- **Test d'oxydase :**

- **Mode opératoire :**

Déposer sur une lame porte-objet propre un disque oxydases et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile, prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque,

- **Lecture**

-Une coloration violet, apparaît immédiatement ou en quelques secondes ; test oxydase positif.

-Pas de modification de la couleur du disque : les bactéries sont oxydase négatives (Délarras, 2008)

◆ Coloration de Gram :

- Préparer un frottis bactériens.
- Colorer violet de gentiane et laisser agir 1 minute, jeter l'excès de colorant.
- Ajouter le Lugol et laisser agir pendant 1 minute.
- Recolorer avec la Fuchsine, laissé agir pendant 30 secondes.
- Laver à l'eau puis à l'alcool pendant 1 minute.

◆ Lecture :

Observer au microscope :

- Les bactéries qui ont gardé leur première coloration violette dites Gram positif.
- Les bactéries colorée en rose, dite Gram négatif (Guezlane et al, 2008).

3.3. Identification biochimique :

◆ La Galerie API 20E :

La galerie API 20 E est un système pour l'identification des Entérobactéries et autre bacilles Gram négatif, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

• Principe :

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

• Mode opératoire :

L'opération s'effectuée selon les étapes suivantes :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

lamelle sur les cultures en milieu solide, ayant permis d'observer les caractères cultureux, la forme (sphérique, ovoïde, allongée) et la taille des colonies. (Joffin *et al*, 2001).

3. L'identification :

3.1. Examen macroscopique des caractères cultureux :

L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées. Les caractères utilisés pour la description macroscopique sont :

- La taille
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à bords surélevé.
- L'aspect de la surface: lisse, rugueux, brillant.
- L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- La couleur : blanc porcelaine, jaune, vert, orangé, rose, saumon, noire.
- Le pigment : peut être soluble ou insoluble dans le milieu.
- L'odeur : présente ou absente (Guezlane., Kahlouche *et al*, 2008).

3.2. Examen microscopique :

◆ Coloration simple :

- Préparer un frottis bactériens.
- Fixer le frottis en passant rapidement la lame 2 à 3 fois dans la flamme.
- Recouvrir le frottis de bleu de méthylène et laisser agir pendant 10 minutes.
- Jetez l'excès de la solution colorante et rincez abondamment à l'eau distillée avec un jet doux.
- Sécher la lame à la flamme et passer à l'observation microscopique en commençant par les objectifs les plus faibles jusqu'aux plus forts en utilisant l'huile de cèdre.
- observer les formes et les regroupements bactériens (Guezlane *et al*, 2008).

Résultats et Discussion

Produced with ScanTOPDF

Les résultats du contrôle organoleptique et bactériologiques des échantillons du jus de fruits sont présentés sous forme des tableaux et des diagrammes exprimant les différentes variations de tous les paramètres étudiés.

1. Contrôle organoleptique:

Les rayons solaires génèrent des changements et des altérations sur la couleur, le goût et l'odeur des jus (Tableau 10).

Tableau 10 : Résultats du contrôle organoleptique.

Echantillon \ Caractéristique	1	2	3	4
Couleur	Virage du foncé au claire	Virage du foncé au claire	R.A.S.	R.A.S.
Odeur	Indésirable	Indésirable	R.A.S.	R.A.S.
Gout	Mauvais	Mauvais	R.A.S.	R.A.S.

Les changements observés sur les deux échantillons (1 et 2), reflètent un métabolisme excessif des microorganismes (bactéries, levures et moisissures), qui ont mené au virage du goût et de la couleur des jus caractéristiques vers un goût désagréable et une couleur claire, et à la formation des odeurs indésirable, ainsi à un gonflement de l'emballage provoqué par la production de dioxyde de carbone et de l'hydrogène.

Ces observations ont été confirmées par les résultats obtenus des analyses microbiologiques suivantes :

2. Contrôle bactériologique :

2.1. Germes totaux :

Les résultats de la recherche et le dénombrement des germes totaux (revivifiables) du jus de fruits sont présentées dans le (tableau 11).

Tableau 11 : Recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables.

Echantillon / Température	1	2	3	4
22°C	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
37°C	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

Tous les échantillons analysés pour la recherche des germes revivifiables ont montré une absence totale de ces microorganismes à cause des conditions défavorables du milieu, vu que les jus sont des produits à pH acide (Tableau 11).

2.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale :

2.2.1. Coliformes totaux:

La variation du nombre des coliformes totaux dans les différents échantillons du jus sont illustrés dans le (tableau 12) et (figure 08).

Tableau 12 : Evaluation du nombre de coliformes totaux.

Echantillon	Nombre de coliformes totaux (CT/ml)
1	$1,1 \times 10^4$
2	$1,5 \times 10^4$
3	0
4	0

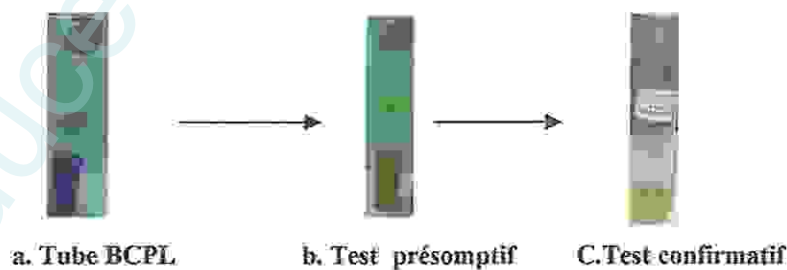


Figure 07 : Recherche des coliformes totaux dans l'échantillon 1
 a : tube BCPL ensemencé. b : test présumptif. c : test confirmatif

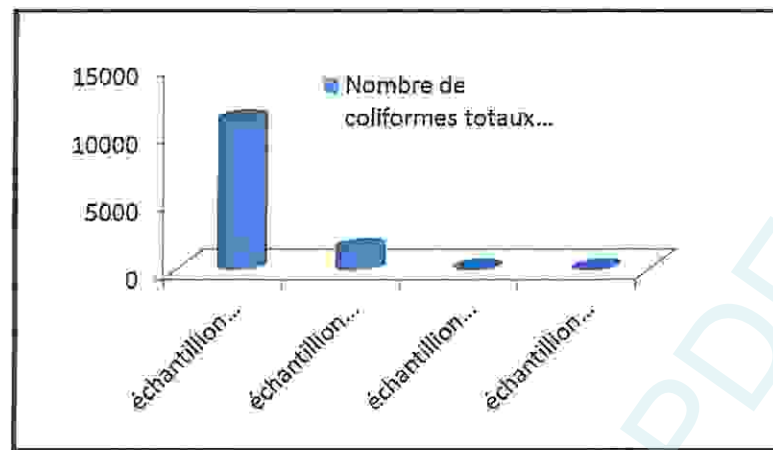


Figure 08 : Evolution du nombre de coliformes totaux.

Toujours les conditions jouent un rôle important dans la conservation des produits alimentaires, mais ici se sont les conditions du milieu extérieur qui ont intervenues pour altérer notre produit à cause de l'exposition de ce dernier au rayon solaire, du fait, on a dénombré $1,1 \times 10^4$ coliformes par millilitre du jus conditionné dans les bouteilles plastique (échantillon 1) et $1,5 \times 10^3$ CT/ml du jus conditionné dans les briques (échantillon 2), par contre ceux qui ont été mis à l'abri du soleil (témoins) ont resté sans altération microbienne (Figure 8).

2.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux :

L'évolution du nombre de coliformes fécaux dans le jus de fruits est présentée dans le (Tableau 13) et (Figure 09).

Tableau 13 : Evolution du nombre d'E.coli.

Echantillon	Nombre de coliformes fécaux(CF/ml)
1	$0,6 \times 10^4$
2	$0,3 \times 10^3$
3	0
4	0

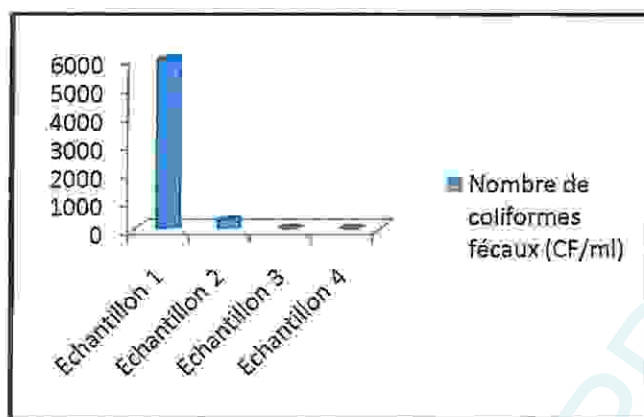


Figure 09 : Evolution du nombre de coliformes fécaux.

Même chose est observée dans le tableau N° 13, l'échantillon 1 est plus altéré par rapport aux autres échantillons avec un nombre de germes arrivé à $0,6 \times 10^4$ CF/ml, à cause de l'emballage transparent et exposé au soleil. L'échantillon 2 qui est conditionné en brique et exposé au soleil a atteint une valeur moindre, $0,3 \times 10^3$. Par contre les deux autres échantillons, n'ont montrés aucun résultat (Figure 09).

2.2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

Aucun résultat positif n'est obtenus dans tous les échantillons pour la recherche des Streptocoque fécaux ce qui signifie une absence totale d'une contamination récente.

2.2.4. Recherche et dénombrement des anaérobies sulfatoréducteurs (ASR) :

Tableau 14 : Recherche et dénombrement des ASR

Echantillon	1	2	3	4
Température				
22°C	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

Pour la recherche des ASR (*Clostridium SP*), responsable des maladies graves telles le botulisme et le tétanos, même chose n'est observée, aucune contamination ancienne (absence de spores).

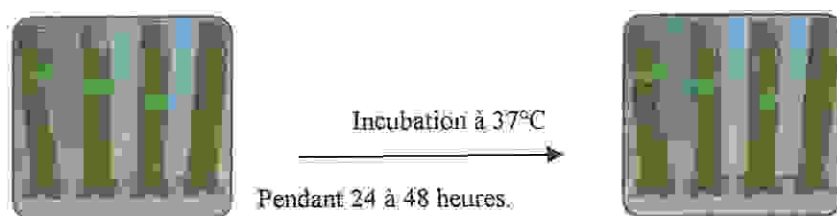


Figure 10 : Absence de colonies noires des ASR après incubation

3.2 Recherche des germes pathogènes :


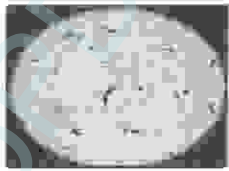
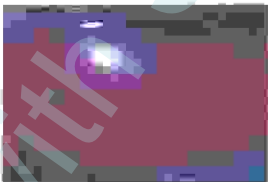
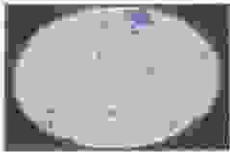

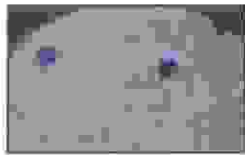
On a utilisé plusieurs milieux de cultures pour la recherche des germes pathogènes (Les staphylocoques, les entérobactéries, les clostridium, les moisissures, les levures et autres). Seul l'échantillon emballés en plastique et exposée au soleil a présenté des résultats positifs (Tab. 15).

Tableau 15: Résultats de l'ensemencement sur milieux solide

Milieu de culture Echantillon	Mac Conkey	GN	Hektoen	SS	Chapman	Sabouraud
1	-	+	-	-	+	+
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-

Les aspects macroscopique et microscopique des colonies observés sur les géloses GN, Chapman et Sabouraud sont présentées dans le tableau suivant :




Tableau 16: l'observation macroscopique et microscopique des colonies.

Milieu de culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
GN	<p>-Circulaire, lisse, plate, brillante transparente, 1 mm de diamètre.</p> <p>-Bambée, lisse, brillante, à contour régulier, de couleur jaune.</p>  <p>Figure11 : Aspect des colonies sur GN.</p>	<p>- Bacilles isolés, Gram négatif</p>  <p>Figure12 : Aspect des bacilles gram (-)</p>
Chapman	<p>-petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, de couleur blanche</p>  <p>Figure13 : Aspect des colonies blanches sur gélose Chapman.</p>	<p>-Cocci groupées en amas, Gram positif.</p>  <p>Figure14 : Aspect des cocci en amas Gram (+)</p>
Sabouraud	<p>-colonie blanchâtre et bombée</p>  <p>Figure15 : Aspect des colonies sur gélose sabouraud</p>	<p>- ovoïde</p> <p>- Levures filamenteuse Gram positif.</p>  <p>Figure16 : Aspect des levures Gram (+)</p>

3.2.1. Résultats du profil biochimique de *Staphylococcus* :

Les tests d'identification pour les *Staphylococcus* donnent les résultats motionné dans le (tableau 18). Ces résultats correspondent au *Staphylococcus épidermidis*.

Tableau 17 : Résultats du profil biochimique de *S.épidermidis*

Caractères	Colonies
Aspect et couleur	Rondes blanches
Aspect microscopique	Cocci regroupées en amas
Gram	+
Catalase	 Figure17 : catalase positif
Mannitol/mobilité(en aérobiose)	 Figure18 :Mannitol négatif
Coagulase	 Figure19 :cogulase négatif

3.2.2. Recherche des levures :

Malgré ces observations mais nous avons pas confirmés que ces colonies sont des levures à cause de l'absence des milieux pour leur identification et à des conditions défavorables dans le laboratoire sont perdurées.

3.3. L'identification Biochimique:

L'étude biochimique d'un germe cultivé sur la GN en utilisant la galerie API20E, nous a permis a identifier une bactérie appelé *Aeromonas hydrophila* qui est un bacille anaérobie facultatif, en forme de bâtonnet, non sporulé et Gram négatif, appartient à la famille des *Aéromonadacées*.

Les résultats sont présentés dans le tableau 18 et la figure 20.

Aux termes de notre travail, nous pouvons conclure que les conditions extérieures jouent un rôle important dans la conservation de jus de fruits. Nous avons observée durant l'analyse bactériologique de nos échantillons surtout qui ont été exposées au soleil, qu'un gonflement typique des emballages, bouteille plastique ou en brique, suite à une prolifération et multiplication des microorganismes pour la bouteille plastique, qui ont altérées les caractéristiques organoleptiques et microbiologique de jus de fruits.

Malgré que le jus de fruit ou un ph bas, ne constante qu'il existe des germes acidophiles qui peuvent croissant dans tel milieu, en tout si les conditions sont favorables (la température). Donc pour mieux garder la qualité organoleptique, nutritionnelle et bactériologique : il faut mieux conserver ce produit à l'abri du soleil ou la température inférieur à 5°C.

- Anonyme, 2000., *Recommandations pour la production et la distribution de jus au Canada*.54-57P
- Agougou A.et Benamara S., (2003). *Production des jus alimentaires*.OPU. 26, 132, 149,138 -145 p.
- Ait Abdelouahab N., (2007). «*Microbiologie alimentaire*».OPU.58-60p.
- Bourgois C.M. et Leveau J.Y., (1980). *Technique D'analyse Et De Contrôle Dans Les Industries Agro-alimentaire*. T3. Apria 331p.
- Cendres A., (2011). «*Procédé novateur d'extraction de jus de fruits par micro-onde : viabilité de fabrication et qualité nutritionnelle des jus*».Thèse en biochimie, Université d'Avignon,32, 46-52 p.
- Délarras C., (2008). «*Surveillance sanitaire et Microbiologie des eaux*». TEC, DOC, Paris, 137,156 et 157 p.
- Dupin J.et Serville T., (1980).*Manuel d'alimentation humaine*. Ed.1169ED971.France. 84,87 p.
- Gehran S. et Hachem C., (2001). «*Production de jus de fruits*».ILDES. Liban.2P.
- Guezlane A., Kahlouche N., et Athmani S., (2008). «*Microbiologie : Travaux pratiques*».OPU, 2ième édition. 89,95P.
- Guiraud J.et Rosec J., (2004). «*Pratique des normes en microbiologie alimentaire*». AFNOR, France ,134 p.
- Joffin J. et Leyrol G., (2001). «*Microbiologie technique I : dictionnaire des techniques*». 3^{ème} édition. CRDP .320 p.
- Lebres E., (2005). Manuel des travaux pratique : *Analyse des eaux*, Institut Pasteur d'Algérie.60 p.
- Lebres E. et Mouffok F., (2008). *Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson*. Manuel des travaux pratique des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. 53 p.

- Pache S., (2000). «*Guide pour l'élaboration et la pasteurisation de jus de fruits*». CRP, Fribourg, 13-15 p.
- Pechère J., Acar J., Grenier B., et Nihoul E., (1982). *Reconnaitre, comprendre et traiter les infections*. 4^{ème} édition. Edisem ST-Hyacinthe. Québec. 509 p.
- Rejsek F., (2002). «*Analyse des eaux ; Aspects règlementaires et techniques*». Sceran, Paris. 147, 148 p.
- Rodier J., (1996). *L'analyse de l'eau ; Eaux Naturelles, Eaux Résiduelles, Eaux de Mer*. 8^{ème} édition. Dunod. 1365p.
- Singeton P., (2002). «*Bactériologie*». 4^{ème} éd. Dunod. 392 p.
- Vierling E., (2007). *Aliments et boissons*. 2^{ème} éditions. Auradius. Pays-bas. 232, 234 p.
- Voisein J., (1998). «*Guide pour l'emballage des jus de fruits et des boissons fruitées non gazeuses*». CDI, 1^{ère} éd, Bruxelles, 17-54 p.

Sites web:

1. www.web-libre.org/jus-de-fruit/5301.html. (Consulté le 19/05/2011).
2. <http://www.cioa-algerie.com/cni/gt/methode-fabrication-jus-3857-50009-cat.html> (consulté le 20/05/2011).
3. http://www.doctissimo.fr/html/nutrition/mag_2002/mag0816/nu_5788_jus_fruits.htm. (consulté le 28/01/2011).
4. <http://www.jus-eoah.com/eoah/qualite-fabrication.htm>. (Consulté le 28/01/2011), 5. http://fr.wikipedia.org/wiki/Jus_de_fruit. (Consulté le 27/02/2011.)
6. <http://membres.multimania.fr/snviédess/projetjus.htm>. (Consulté le 08/04/2011).
7. www.azaquar.com/iaa/index.php?Cible. (Consulté le 23/03/2011).
8. www.masantefacile.com » Mag Santé » Nutrition (Consulté le 03/04/2011).
9. http://www.doctissimo.fr/html/nutrition/mag_2002/mag0816/nu_5788_jus_fruits.htm (Consulté le 27/02/2011)
10. www.azaquar.com/iaa/index.php%3Fcible. (Consulté le 25/04/2011).
11. www.preventpack.be/files/pdf/fr/08-09. (Consulté le 25/04/2011).

Thio sulfate de sodium.....	5 g/l
Citrate ferrique ammoniacal	5 g/l
Sels biliaires	9.0 g/l
Bleu de bromothynol.....	0.064 g/l
Fuchsine acide	0.04 g/l

➤ **Préparation :**

Dissoudre 75 g/l, ne pas autoclave. Après refroidissement aux environs de 50°C, 15 mg/l Novobiocine peuvent être mélangés sous forme de solution aqueuse filtrée stérilement. Couler en boîtes pH=7.7±0.1.

◆ **Viande foie (VF):** préparer en deux étapes :

➤ **Milieu de base :**

Base viande foie.....	30g
Glucose	2g
Amidon	2g
Agar	1g
Eau distillée	1000 ml

➤ **Au moment de l'emploi :** Ajouter à 20 ml de base fondé

.....	0.5 ml% Sulfate de sodium a 5
Alun de fer commonacol.....	4 gouttes

- ◆ **Gélose nutritive :** la gélose nutritive est un milieu qui convient à la culture des germes ne présentant pas d'exigences particulières.

➤ **Formule(en grammes par litre d'eau distillée) :**

Peptone	5g/l
Extrait de viande	1g/l
Extrait de levure	2g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Agar	15g

pH =7.4 (environ)

➤ **Préparation :**

Verser 28 g dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

- ◆ **Rothe (bouillon glucose l'acide de sodium) :** il y a deux types:

➤ **Double concentration :**

Tryptone.....	40 g
---------------	------

Glucose.....	10 g
Chlorure de sodium	10 g
Phosphate bi potassique	5.4 g
Acide de sodium	0.4 g
Eau distillée.....	1000ml

pH=6.8 autoclavage=15 mn à 121°C.

➤ **Simple concentration :**

Tryptone	20 g
Glucose.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate bi potassique.....	2.7 g
Acide de sodium	0.2 g
Eau distillée.....	1000ml

pH=6.8 autoclavage=15 mn à 121°C.

◆ **Eva-Litsky :**

Peptone.....	20g/l
Glucose	5g/l
Chlorure de sodium	5g/l
Phosphate bi potassique	2.7 g/l
Azosphate de sodium.....	0.3 g/l
Ethyle- vliote.....	5g/l

pH =7

◆ **TGEA (gélose numération : gélostryptone-glucose-Extrait de levure) :**

Tryptone.....	5g
Glucose	1g
Extrait de levure.....	2.5 g
Gélose	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH =7

2. Réactifs :

◆ **Réactif TDA :** pour la recherche de tryptophane désaminase :

Perchlorure de fer.....	3.4 g
Eau distillée.....	100ml

◆ **Réactif IND :** pour la recherche de l'indole :