

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département des Sciences Agronomiques



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention de diplôme de Master en Sciences Agronomiques
Spécialité : Transformation et Conservation des Produits Agricole

Thème

**Analyses physico-chimiques de trois
marques du jus d'orange et dosage de
l'aspartame et du benzoate de sodium**

Réalisé par :

- **M^{elle} CHABANE Nora**
- **M^{elle} AZEM Samia**

Président : M^r YESLI A. Maitre-assistant A à l'UMMTO

Promoteur: M^r AMIR Y. Professeur à, l'UMMTO.

Examineurs : M^{me} REMANE Y. Maitre –assistante A à l'UMMTO.

M^{elle} ABDELLAOUI K. Maitre –assistante A à l'UMMTO.

2015-2016

Remerciements

*Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à notre promoteur **Mr AMIR Yousef** pour son entière disponibilité, son aide, les conseils et les connaissances qu'il n'a cessé de nous prodiguer toute au long de notre travail.*

Nos remerciements s'adressent également aux enseignants qui nous ont fait l'honneur d'examiner notre travail et de participer dans notre jury de mémoire.

*Il nous est particulièrement agréable d'adresser nos sincères remerciements au chef du département pharmacie **Dr MAMOU** et **Mr TIGHRINE** pour son aide, ses conseils, ainsi que ses explications.*

Nous remercions les ingénieurs de laboratoire du département agronomie et biologie pour leur aide à réaliser notre mémoire.

*On exprime toute notre gratitude aux enseignants du département d'agronomie de l'université **U.M.M.T.O** pour leur sérieux et abnégation durant tout le cursus.*

Nous remercions tous se qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de Ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

*A mes très chers parents pour leur immense affection et leurs gros
sacrifices pour moi ;*

A mes frères Mouloud et Chabane ; et mes sœurs Atika ;

Radia ; Kahina et Lydia

A mes nièces ; Malak et Sana

Et mon neveu Rayane

A tous mes cousins ;

A tous mes amis (es) ;

Samia

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

*Celui de qui je suis toujours fière, celui qui je porte toujours dans
mon esprit, celui qui nous a quittés a jamais ;*

*mon père Saïd, que dieu l'accueille
dans ces vastes Paradies.*

*Ma mère, tu es le symbole pour moi, que dieu te protège
et te garde toujours en bonne santé.*

*Mon frère Momouh, à travers qui je me suis inspiré de la
volonté d'aller loin, que tu réussisses et tu mènes
toujours la bonne voie.*

*Mon cher cousin, tu m'a toujours soutenue depuis mon
enfance jusqu'à aujourd'hui, Mahdi que
dieu te bénisse.*

A mes chères cousines Samiha , Melissa, Yasmine ,Imane

A mes chères cousin Nassim, Youcef, Samy, yanni, Cefal et Ghiless

A mes chères tantes khalti Aljdia ,khalti fatma et djidji

A ma chère copine d'enfance Sakina,

*A ceux qui m'ont donnés de l'aide
de près ou de loin ;*

NORA

Liste des abréviations

A.O.A.C: Association of Official Analyticalchemists.

A.S.T.M: American Society for Testing and Material.

ACN : Acétonitrile.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AFNOR: Association Française de Normalization.

C.E.E : Communauté Economique Européenne.

CE : Comité Européenne.

CLHP : chromatographie liquide haute performance.

DJA: Dose Journalière Admissible.

F.A.O: Food and Agriculture Organization of the united nation.

I.S.O: International Standardisation Organisation.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

pH : potentiel hydrogène.

PKU : Phénylcétonurie.

ppm : Particules par millions

PS : Pouvoir Sucrant.

RCD : Relative combat diviation

UV : Ultra-violet

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	----------

Partie théorique

Chapitre I : Généralités sur l'orange et le jus d'orange

I- L'orange.....	3
I-1-Définition.....	3
I-2-Les oranges :.....	3
- L'écorce :	3
- La pulpe :	4
-Les pépins:	4
I-3- Principaux constituants de l'orange :	6
I-4- Production d'orange en Algérie.....	10
II- Jus d'orange.....	11
II-1-Définition du jus d'orange	11
II-2-Composition biochimique du jus d'orange :	11
II-3-technologie de fabrication d'un jus d'orange	12

Chapitre II : Les additifs alimentaires

Historique	13
1-Les additifs alimentaires :-	14
2-Définition de l'additif dans le cadre du Codex alimentarius.....	14
3-Classement, liste et numérotation des additifs en France et dans la CEE	15
4-Origine des additifs alimentaires :	17
5-Principes généraux régissant l'utilisation d'additifs dans les denrées alimentaires	18
6- Intérêt des additifs alimentaire :	19
6-1- Intérêt technologique	19
6-2- Amélioration de la conservation	19
6-3- Rôle d'améliorer ou de maintenir la qualité organoleptique :	20
6-4- Amélioration de la valeur nutritionnelle :	20
6-5- Un rôle économique :	20
6-6- Rôle hygiénique ou sanitaire :	20
7-Les inconvénients des additifs alimentaires	22
7-1-Hyperactivité :	22
7-2-Problèmes intestinaux :	22

7-3- Allergies :.....	22
7-4- Effet carcinogène :.....	23
7-5-Accoutumance :	24

Chapitre III : Les édulcorants

1-Définition	25
2- Les différents types d'édulcorants	25
2-1-Les édulcorants nutritifs	26
2-2- les édulcorants intenses (non nutritifs)	26

Chapitre IV : Les conservateurs

1-Définition	31
2-Le but de la conservation chimique	31
3-Type des conservateurs :	31
3-1-Les conservateurs minéraux :	31
3-2-Les conservateurs organiques :	33
4-Mode d'action du benzoate de sodium et du méthyl parabène :	35

Partie pratique

Chapitre I : Matériels et méthodes

1-Analyses physicochimiques :	39
1-1 Détermination de pH.....	39
1-2 Détermination de l'acidité titrable (AFNOR ,1986)	39
1-3 Détermination de l'extrait sec total	40
1-4 Détermination de l'indice de réfractométrie (Brix).....	40
1-5 Détermination de taux de cendres	41
2- Analyses biochimiques	42
2-1 Détermination des sucres réducteurs et sucres totaux.....	42
2-2 Dosage de la vitamine C	43
3 –Analyses de l'aspartame et du benzoate de sodium dans les jus par HPLC.....	44
3-1 Dosage de l'aspartame dans les jus.....	44
3-2 Dosage du benzoate de sodium dans les jus.....	46

Chapitre II : Résultats et discussion

1- Résultats d'analyse des paramètres physico-chimiques :	47
1-1- pH.....	47
1-2- Acidité titrable	48
1-3- Extrait sec total	50
1-4- Brix	51

1-5- Cendres	52
2-Résultats des analyses biochimiques.....	53
2-1- Sucres réducteurs	53
2-2-Sucres totaux.....	54
2-2- Saccha	55
2-4-Vitamine C.....	56
3-Résultats d'analyses des jus par HPLC	58
3-1-Résultats du dosage de l'aspartame	58
3-2 Résultats du dosage de l'acide benzoïque :.....	61
Conclusion.....	64
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 1 : : Principales variétés d'orange (CLEMENT, 1978).....	6
Tableau 2 : Pourcentage du glucose, fructose, et saccharose dans le jus d'orange (HULME, 1971).....	6
Tableau 3: Valeurs nutritive de l'orange pour 100g (APRIFEL,2007).....	9
Tableau 4: composition biochimique du jus d'orange pour 100g (VIERLING, 2003).	11
Tableau 5: Numérotation des additifs alimentaires (VIERLING ,2005)	17
Tableau 6 : L'acide sorbique et ses sels.	33
Tableau 7 : Pourcentage d'acide non dissocié à différents pH	36
Tableau 8: Résultat de dosage de standard de benzoate de sodium	61
Tableau 9: Résultats du dosage de benzoate du sodium dans le jus mistral	61
Tableau 10 : Résultats de dosage de benzoate du sodium dans le jus Ramy light.....	62
Tableau 11: Résultats de dosage de benzoate du sodium dans le jus Ryhane.	62

Liste des figures

Figure 1 :Coupe transversale et schéma explicatif d'une orange(HUET ,1991).	4
Figure 2 : procédé de fabrication du pur jus d'orange et du concentré d'orange.....	12
Figure 3: Catégorie d'additifs alimentaire selon leurs fonctions	21
Figure 4: structure générale de l'acide benzoïque.....	34
Figure 5 : histogramme représentant la valeur moyenne du PH des trois marques de jus.	47
Figure 6 : histogramme représentant la valeur moyenne du l'acidité titrable des trois marques du jus.	48
Figure 7: histogramme représentant la valeur moyenne du l'extrait sec total des trois marques du jus.	50
Figure 8: histogramme représentant la valeur moyenne de brix des trois marques du jus.	51
Figure 9: histogramme représentant la teneur moyenne des cendres des trois marques du jus.	52
Figure 10 : histogramme représentant la valeur moyenne des sucres réducteurs des trois marques du jus.....	53
Figure 11: histogramme représentant la valeur moyenne des sucres totaux dans trois marques du jus d'orange.	54
Figure 12 : histogramme représentant la valeur moyenne de saccharose dans trois marques du jus d'orange.	55
Figure 13 : histogramme représentant la valeur moyenne en vitamine C des trois marques du jus d'orange.	56
Figure 14: chromatogramme de standard d'aspartame	58
Figure 15 :chromatogramme de jus Ryhane	58
Figure 16 :chromatogramme de jus Mistral	59
Figure 17 :chromatogramme de jus Ramy light.....	59
Figure 18:chromatogramme de standard d'aspartame	61
Figure 19 :chromatogramme de jus Mistral	61
Figure 20:chromatogramme de jus Ramy light.....	62
Figure 21:chromatogramme de jus Ryhane	62

Introduction

La transformation des fruits en jus a toujours pour objectif de prolonger la durée de consommation d'un fruit au-delà de sa saison et de profiter ainsi de ses qualités nutritionnelles. Le consommateur souhaite de plus en plus des jus de bonne qualité, qui ressemblent au niveau organoleptique au jus frais pressé chez soi, et garantissent une bonne qualité nutritionnelle.

Les procédés de fabrication et de transformation causent des variations de la teneur des paramètres physico-chimiques, d'où une diminution de la qualité organoleptique et nutritionnelle du jus.

Le défi du technologue est de parvenir à assurer la stabilité colloïdale et la stabilité microbienne tout en conservant les qualités nutritionnelles et organoleptiques de la boisson.

La principale fonction de la conservation est donc de retarder l'altération des jus de fruits et d'empêcher toute modification de leur goût ou, parfois, de leur aspect. Cet objectif peut être atteint de différentes manières, grâce à des procédés de traitement comme la mise en boîte (appertisation), la déshydratation (séchage), la congélation, l'emballage et l'utilisation d'additifs alimentaire (**BRANGER et al, 2007**).

Les additifs alimentaire occupent aujourd'hui une place importante dans le secteur des industries alimentaires et souvent améliorent la qualité organoleptique et nutritionnelle des produits et leur durée de conservation. Ils répondent à un besoin de société où l'on veut manger sainement et rapidement tout en faisant ses courses à l'avance telles que les conservateurs et les édulcorants (**GAIANI , 2009**).

Les additifs de conservation sont une nécessité indispensables à une bonne hygiène alimentaire tant sur le plan microbien qu'organoleptique (**MOLL, 1990**).

Les conservateurs font partie de la panoplie des techniques et des moyens permettant d'assurer la sécurité du consommateur, d'allonger la durée de vie des produits alimentaires et de limiter leurs altérations par les micro-organismes (**MOLL, 2002**)

Les édulcorant sont des substances regroupées dans deux catégories : les édulcorants intenses (ex : aspartame), composés synthétiques, ayant un fort pouvoir sucrant et une valeur énergétique quasi nulle. Ils sont donc utilisés en très faible quantité. Cependant, pour remplacer le saccharose dans sa contribution à la consistance et à la texture des aliments, il a

fallu rechercher des molécules dans la deuxième catégorie d'édulcorants : les polyols (sorbitol, mannitol, lacticol, maltitol, xylitol et l'érytritola) **(RIBIERE, 2002)**.

Le marché mondial d'édulcorants est dominé par la saccharine (2.1 millions de tonnes) et par l'aspartame (1.9 million de tonnes). En Algérie la production de ces substances de synthèse constitue une alternative très importante, car elle permet de mettre à la disposition des industriels des produits sucrants avec un coût réduit **(BENZOHRA, 1994)**.

Néanmoins, ces produits peuvent avoir des effets nocifs sur la santé surtout à des doses élevées. Et c'est dans ce cadre que ce travail s'inscrit et trouve sa justification. Il a pour objectif de contribuer à l'étude quantitative et qualitative de l'aspartame(édulcorant) et du benzoate de sodium (conservateur) dans trois marques de jus d'orange par une technique d'analyse d'une extrême sensibilité qui est la chromatographie liquide haute performance(HPLC).

Partie théorique

Chapitre I

Généralités sur l'orange et le jus d'orange

I- L'agrume

I-1-Définition

Le mot «agrume» dérive du latin *agrus* qui, autrefois, désignait les plantes dont les fruits ont une saveur aigre, par exemple l'ail ou l'oignon. Avec le temps, ce sens évolua et il fut utilisé pour décrire un groupe de plantes de la famille des Rutacées en particulier celles appartenant au genre *Citrus*. Originaires d'extrême orient et résistantes au froid, les agrumes se sont répandus surtout dans certaines régions du monde, du méditerranéen à l'Amérique en passant par l'Afrique du Sud.

Les agrumes appartiennent à la famille des Rutacées (ordre Thérébinthales), comprend de nombreuses espèces (environ 1600, pour la plupart ligneuses). L'une des caractéristiques de cette famille est la présence dans les fruits de glandes oléifères contenant des essences fortement aromatiques (**BETON et BROCHARD, 1993**).

I-2-Les oranges

I-2-1-Description de fruit

L'orange est un agrume qui peut aussi être appelé hesperidium. L'hesperidium diffère de fruits comme la tomate ou le raisin car il possède une peau dure et solide qui protège la partie comestible du fruit (**DAVIES et ALBRIGO, 1994**).

Les caractéristiques communes aux agrumes sont les suivantes :

Ils sont constitués de l'extérieur vers l'intérieur des parties suivantes:

- L'écorce

Elle constitue la partie non comestible du fruit, pour les oranges, les citrons et les mandarines, elle reste peu développée, alors que pour les pamplemousses représente la majeure partie du fruit, cette écorce est formée de deux parties : l'épicarpe et mésocarpe externe et interne (**MONTIGAUD et al, 2002**).

- **L'épicarpe** : c'est la partie qui se colore en orange ; elle représente 8 à 10% du fruit.

L'épicarpe et le mésocarpe externe constituent le flavédo où se trouvent localisées les glandes oléifères riches en huiles essentielles et en pigments caroténoïdes;

- **Le mésocarpe:** le mésocarpe interne est une partie plus au moins épaisse, de couleur blanchâtre et de textures spongieuses, elle représente 30% du fruit.

Cette partie constitue l'Albêdo, qui contient la cellulose, des sucres solubles, des acides aminés, des vitamines et de la pectine (Figure 1).

- La pulpe

C'est la partie comestible du fruit, elle représente 50% à 80% du fruit.

Elle est formée par l'endocarpe, qui est constitué par un ensemble de vésicules renfermant le jus (40 à 55%) et les matières insolubles (20 à 30%). Ces vésicules sont regroupées en quartiers, le nombre de ses derniers varie entre 9 à 11 pour les oranges (**BRAT et CUQ, 2008**).

-Les pépins

Ils représentent 0 à 4% du fruit; ils proviennent comme toutes les graines de la fécondation ou fusion de deux cellules sexuelles (ou gamètes), leur nombre diffère d'une variété à une autre et d'un fruit à un autre. L'intérêt des pépins réside essentiellement dans leur teneur en huile d'une grande valeur commerciale, cette huile représente plus de 20% du poids frais des pépins (**SINE, 2008**).

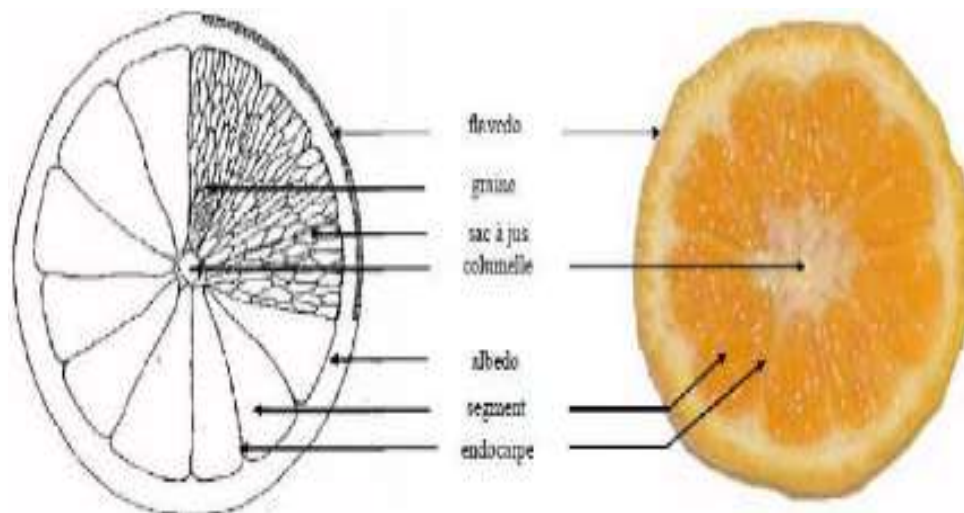


Figure 1 : Coupe transversale et schéma explicatif d'une orange (HUET, 1991).

I-2-2-Variétés des oranges :

C'est l'espèce de *Citrus sinensis* qui est un petit arbre de la famille des « Rutacées » qui donne des fruits de formes et de coloration variable, suivant les variétés. Les principales variétés donnent des fruits à pulpes acidulés, juteuses, riches en sucre et en vitamines (RAYMONDE, 1989).

- les blondes navels

Les blondes navels sont des fruits à maturation précoce, d'excellentes qualités gustatives, avec une chair blonde à texture croquante et juteuse. Les oranges navels s'adaptent au climat chaud des régions tropicales et semi tropicales, elles sont récoltées du mois de novembre jusqu'au mois de février. Les principales variétés cultivées en méditerranée sont : Washington, Thomson, Navelina, Navelate et New halle (Tableau 1) (RAYMONDE, 1989).

-les blondes

De chaire blonde avec un peu de pépin, leur fruit, souvent de petit calibre, elles sont disponible de décembre à mars (RAYMONDE, 1989).

-Les sanguines

Elles sont très juteuses et possèdent la particularité d'avoir une chair presque rouge par la présence d'anthocyanine, un pigment fréquent dans nombreux fruits mais rare pour les agrumes. Mis à part de minuscules points rouges à la surface de son écorce, elles ont une peau lisse Torocco, Washington sanguine ou rugueuse Moro, Sanguinello, leur apparence extérieure est semblable à celle d'une orange non sanguine. Elles sont disponibles de mars à avril (RAYMONDE, 1989).

-les tardives :

Elles sont produites d'avril à juin autour de la méditerranée et de juin à octobre dans l'hémisphère sud. Ce sont des oranges à pulpe douceâtre presque sans acidité. Il est difficile de faire la distinction entre variétés d'oranges industrielles et variétés d'oranges de consommation. Une variété peut à la fois être destinée aux traitements ou à la vente directe à l'état frais, mais en général les oranges industrielles sont des fruits de deuxième choix qui ne satisfont pas les exigences du marché de fruit frais à cause de leur dimension habituelle, de leur forme irrégulière ou des dommages superficiels de l'écorce.

-Les douceâtres

Une dernière catégorie, mineur, peut également être décrite, il s'agit des oranges faiblement acides, encore appelées oranges douceâtres. Ces oranges sont consommées en fruits de bouche.

Tableau 1 : Principales variétés d'orange (CLEMENT, 1978)

Maturité	Variétés	Groupes de variétés
Variétés hâtive	Thomson navel. Washington navel	Navals
Variétés de saison	Hamlin, Cadenera	Blondes sans pépins
	Maltaise, Jaffa	Blondes sans pépins
	Portugaise, Double fine,	
Variétés tardives	Washington sanguine	Sanguine sans pépins
	Valencia late, vernia	Tardives sans pépins
	Autre variété non	Blondes communes
Diverses époques de maturité	Sanguines	Sanguines communes
	Autre variétés sanguines	

I-3- Principaux constituants de l'orange

I-3-1-Eau

L'orange est un fruit juteux par excellence, elle renferme plus de 85% d'eau. Cette eau de constitution contient sous forme dissoute la plupart des nutriments (**APRIFEL, 2007**).

I-3-2-Glucides

Les sucres occupent une grande place parmi les substances dissoutes. Les travaux de **Mintjilli et Albanese (1958)** sur les sucres du jus d'orange et de citron ont confirmé la présence de saccharose (constituant majoritaire du total des glucides) et du glucose et fructose (sucres réducteurs) (**HULME, 1971**).

La teneur en sucres varie selon la variété et la maturité du fruit. En mûrissant, le taux de sucres dans les fruits augmente rapidement (due à l'accumulation du saccharose) (**APRIFEL, 2007**).

Tableau 2 : Pourcentage du glucose, fructose, et saccharose dans le jus d'orange (HULME, 1971).

Sucres	Glucose	Fructose	Saccharose
%	2.36	2.38	4.70

I-3-3- Acides organiques

Le goût sucré de l'orange est perçu grâce à la saveur acidulée conférée par les acides organiques naturels assez abondants dans l'orange (1,2%). Ces substrats sont essentiellement représentés par l'acide citrique, mais aussi par l'acide malique et des traces d'autres acides organiques moins concentrés, comme l'acide férulique, caféique ou paracouramique.

Au cours de la maturation de l'orange, la teneur en sucres s'élève, tandis que celle des acides organiques diminue ; la proportion relative entre sucres et acides organiques confère à chaque fruit sa saveur caractéristique plus ou moins douce ou acidulée (**APRIFEL, 2007**).

I-3-4-Lipides et protides

Ces constituants sont présents en quantité négligeable dans l'orange. Les lipides se concentrent dans les pépins : la pulpe en contient sous forme de traces (moins de 0,2%) ex : stérols. Les substances azotées sont très peu abondantes dans l'orange (1%), comme dans tous les fruits à jus (**APRIFEL, 2007**).

I-3-5- Fibres

Les fibres sont assez abondantes dans ce fruit, 18% en moyenne ; elles ont la particularité d'être riches en pectines (environ 50%) bien tolérées par l'organisme (jouant un rôle régulateur sur le transit intestinal). Les pectines contenues dans le jus exercent une influence décisive sur la qualité organoleptique et la présentation du jus. On trouve aussi des hémicelluloses et des celluloses (qui constituent la paroi des cellules de l'orange) et quelques traces de lignine (**ANONYME, 1998**).

I-3-6- Vitamines

Le profil vitaminique de l'orange est caractérisé par une teneur élevée en vitamine C, 40 à 80 mg/100g (53 mg en moyenne).

Toutes les vitamines du groupe B, en particulier la vitamine B1 (thiamine) et la B9 (l'acide folique) sont contenues dans l'orange. Une orange couvre la totalité du besoin quotidien en vitamine C.

La provitamine A peut atteindre 0,05 à 0,2 mg/100 g selon les variétés d'oranges, les oranges les plus colorées sont les plus riches.

I-3-7- Minéraux

Les éléments minéraux sont nombreux ; on relève la présence de calcium en quantité relativement abondant (40mg/100g); le phosphore, le potassium et le magnésium sont

présents en grandes quantités. Parmi les oligoéléments, on note aussi, la présence du fer, cuivre, zinc, manganèse, nickel et même des traces de bore et de sélénium.

L'orange contribue plus au moins efficacement à la couverture de l'ensemble du besoin minéral de l'organisme.

I-3-8- Arômes

De nombreuses substances aromatiques participent à la formation du goût et de la flaveur de l'orange. Il s'agit de composés complexes caractéristiques de ce fruit : citrals, limonènes, aldéhydes, tri terpènes, esters, etc. responsables de la saveur et de l'arôme du fruit (CHEFTEL et al., 1977).

I-3-9-Composés phénoliques

Les composés phénoliques des agrumes exercent une grande influence sur la qualité organoleptique du jus d'agrumes. Les principaux poly phénols identifiés sont : les flavonoïdes et les tanins.

Les flavonoïdes comprennent les flavonoïdes au sens strict (pigments de couleurs jaune) qui donnent à l'orange sa couleur plus au moins marquée, jaune à jaune orangé ; les anthocyanes sont sensibles à la lumière, la chaleur et à l'oxydation ; ils sont de couleur rouge violacée en milieu acide et sont très abondants dans les oranges sanguines ; les flavanes sont les précurseurs des tanins condensés (VIERLING, 2003).

Les tanins, hydrosolubles et condensés, sont des polymères de nature phénolique ; ils confèrent un goût astringent (ALAIS et LINDEN, 1997). Les tanins ne posent pas de problèmes majeurs dans l'industrie des jus car ils sont presque totalement éliminés lors de la fabrication (CHEFTEL et al, 1977).

I-3-10-La flore mésophile

L'oranger contient naturellement une flore mésophile composée de levures et de lactobacillus, indispensable à sa bonne digestion (les lactobacilles font d'ailleurs partie de la flore digestive intestinale)(ANONYME, 1998).

I-3-11-Les enzymes

Ils existent différents types d'enzymes (BETON et al, 1993).

- les enzymes hydrolytiques : les estérases et protéases.
- Les enzymes oxydases, les peroxydases et la catalase.
- Les enzymes de fermentation.

I-3-12- Apport énergétique

Il reste modéré, en moyenne 45 K calories/100g ; la valeur énergétique du jus est comparable à celle du fruit car il renferme les composants énergétiques du fruit. Cependant, ces valeurs varient d'une variété à une autre selon le degré de maturité (Tableau 3).

Tableau 3: Valeurs nutritive de l'orange pour 100g (APRIFEL,2007).

	Constituants	Valeurs
Composition chimique	Eau	87.1g
	Glucides	8.7g
	Fibres alimentaire	1.6g
	Protéines	1.0g
	Lipides	0.16g
	<u>Acides gras et cholestérol</u>	
	AG mono insaturés	0.03g
	AG poly insaturés	0.03g
	AG saturés	0.02g
	cholestérol	0.13g
	<u>vitamines</u>	
	vitamine A	0.11mg
	vitamine B1	0.09mg
	vitamine B2	0.04mg
	vitamine B3	0.28mg
	vitamine B5	0.3mg
	vitamine B6	0.06mg
	vitamine B9	34µg
	vitamine C	53mg
	vitamine E	0.24mg
	<u>minéraux</u>	
	calcium	33.5mg
	cuivre	0.04mg
	fer total	0.1mg
	Iode	1.0µg
	magnésium	11.9mg
	manganèse	0.05mg
	phosphore	13.6mg
	potassium	163mg
	sodium	3.4mg
	sélénium	0.6µg
	zinc	0.067mg

I-4- Production d'orange en Algérie

La production nationale d'agrumes a dépassé les 11.5 millions de quintaux en 2011. L'agrumiculture en Algérie compte une quarantaine de variétés dont 70% sont constitués par 20 variétés d'orange, les variétés d'orange cultivées en Algérie, notamment dans les plaines de la Mitidja, du Cheliff et de Mohammedia (wilaya de Mascara), sont assez nombreuses, mais aucune ne jouit d'une estime aussi grande que la « portugaise » demi-sanguine, fruit de la qualité, dont la saison de vente s'échelonne du début de février à la fin avril.

Les variétés précoces Thomson et Washington navel, venues des lointains vergers californiens, alimentent les marchés de la Mitidja, mais également ceux des autres » régions du pays. Quant à la méconnue orange d'été, la « Valencia late », elle reste un peu en retrait et elle est peu cultivée (**BENREGUIA, 2011**).

II- Jus d'orange

II-1-Définition du jus d'orange

Selon le **Codex Alimentarius(1992)**, le jus d'orange désigne le jus obtenu à partir de l'endocarpe de l'orange par des procédés mécaniques, c'est un produit fermentescible, mais non fermenté, possédant la couleur, l'arôme et le goût caractéristique de l'orange.

II-2-Composition biochimique du jus d'orange :

Le jus d'orange est un produit complexe dont les propriétés physique, chimique et sensorielles évoluent à travers le processus de fabrication. Il constitue un véritable aliment liquide, dont l'eau représente quantitativement la fraction la plus importante (86%) (**FREDOT, 2005**). Selon **HENDRIX et REDD (1995)**, environ 76% de la matière sèche hydrosoluble du jus d'orange est constituée principalement par des glucides et 21% d'acide organiques, d'acide aminés, de sels minéraux, de vitamines et de lipides. Le 3% restant est constitué par un grand nombre de composés divers, dont les flavonoïdes, les composés volatiles, les caroténoïdes, etc. qui ont une influence importante sur les propriétés sensorielles de ce produit (Tableau 4).

Tableau 4: composition biochimique du jus d'orange pour 100g (VIERLING, 2003).

constituants	Valeurs
Extrait sec	13g
Protides	0.2g
Lipides	0.2g
Glucides	10g
Valeurs énergétiques	180Kj40Kcal
Minéraux	380mg
Na ⁺	1.4mg
Ca ⁺	170mg
Vitamines C	15mg
Carotènes	45mg
Acide folique	0.07mg
Vitamine E	0.035mg
pectines	0.13mg

II-3-technologie de fabrication d'un jus d'orange

L'industrie du jus d'orange comporte un grand nombre d'opérations qui peuvent se regrouper en trois filières : la production agricole, l'industrie d'extraction, et de conditionnement et la filière de stockage, transport et commercialisation du jus conditionné (Figure 2).

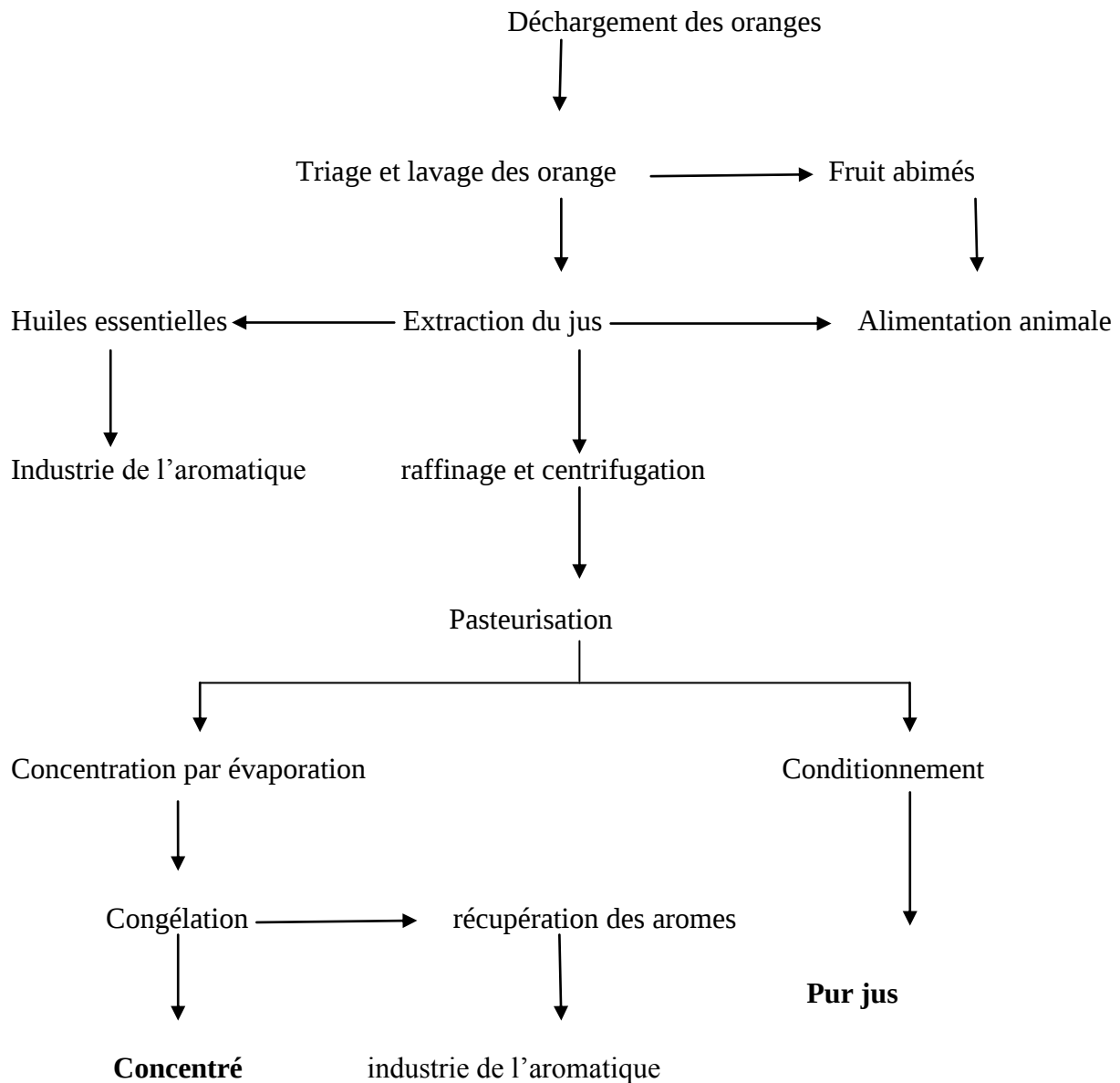


Figure 2 : Procédé de fabrication du pur jus d'orange et du concentré d'orange
(ESPIARD, 2002).

Chapitre II

Additifs alimentaires

Historique

Il ya plus de 10.000 ans que l'homme pratique, avant la lettre, la « biotechnologie » (fermentation du pain, de la bière, etc....).

Les moyens simples de conservation qu'il avait à sa disposition étaient la salaison, la fumure, la fermentation et également quelques colorants végétaux et animaux. Au milieu de 19^e siècle l'essor de la chimie a vu s'ajouter d'autres substances comprenant des conservateurs, des anticoagulants, des acidifiants et neutralisants, des agents de texture et d'aromatisation.

Les artisans et fabricants d'aliments et boissons avaient à cette époque toute liberté d'utilisation des additifs puisqu' 'aucune réglementation n'existe.

Pour la France, en 1909, la notion de « la liste positive » fut introduite par Roux permettant l'emploi de substances ayant fait preuve de leur innocuité et la publication du décret du 15 avril 1912 établit la consultation obligatoire en France en matière de législation auprès du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France et de l'Académie de Médecine.

A l'échelle internationale plusieurs organismes se sont créés dans le souci majeur de sauvegarder la santé des consommateurs. Il s'agit de :

-F.A.O. (Food and Agriculture Organization of the united nation) dont le siège est à Rome.

-O.M.S. (organisation mondiale de la santé) dont le siège est à Genève.

Le F.A.O /O.M.S.fait partie des nations unies et regroupe de par le monde 121 pays membres.

-C.E.E.(Communauté Economique Européenne) instaurée par le traité de Rome le 25 mars 1957, dont le siège est à Bruxelles et qui regroupe actuellement 12 états membres. La libre circulation des denrées alimentaires ainsi que l'unification totale de la législation au sein de la C.E.E. sont prévues pour 1992.il faut que les aliments y soient soumis aux même règle de définition, de composition et d'étiquetage. Cet effort d'harmonisation se fait par l'intermédiaire de directive et règlements, décidés par le conseil, sur proposition de la commission et après avis du parlement Européen et du Comité Economique et social.

Par ailleurs en 1974, a été constitué par la commission le comité scientifique de l'alimentation humain devant débattre des questions d »hygiène alimentaire, nutrition et toxicologie **(Nicole et Moll, 1990).**

Afin de mieux contrôler l'emploi des additifs, il est indispensable de pouvoir identifier leurs natures chimiques et les analyser dans les aliments.

Pour cela il faut définir des méthodes d'analyses et les standardiser à l'intérieur d'un même pays et à l'échelle internationale en vue des échanges et de la libre circulation. La standardisation des méthodes d'analyses est l'œuvre de différents organismes parmi lesquels :

- L'I.S.O. (International Standardisation Organization).
- Pour la France l'A.F.N.O.R. (Association Française de Normalisation)
- Pour les Etats-Unis: A.S.T.M. (American Society for Testing and Material).

Indépendamment de l'I.S.O., il existe le Codex Alimentarius qui est régi par la Commission du F.A.O. /O.M.S.

Ces différentes méthodes d'analyse sont publiées dans des revues spécialisées par exemple le journal of A.O.A.C.(Association of official analyticalchemists), les normes C.E.E., les normes A.F.N.O.R. ,etc.....

1-Les additifs alimentaires :-

Sont des substances ajoutées en petites quantité aux aliments au cours de leurs préparations, dans un but précis, d'ordre technologique tel que conservation, coloration, édulcoration (**MULTON, 2009**).

2-Définition de l'additif dans le cadre du Codex Alimentarius

On entend par additif alimentaire toute substance qui n'est pas normalement consommée en tant que denrée alimentaire, ni utilisée comme ingrédient caractéristique d'une denrée alimentaire, qu'elle ait ou non une valeur nutritive, et dont l'addition intentionnelle à la denrée alimentaire, dans un but technologique (y compris organoleptique),à une quelconque étape de la fabrication, de la transformation, de la préparation, du traitement, du conditionnement, de l'emballage, du transport ou de l'entreposage de ladite denrée entraîne, ou peut, selon toute vraisemblance, (directement ou indirectement) son incorporation ou celle de ses dérivés dans la denrée ou peut en affecter d'une autre façon les caractéristiques. Cette expression ne s'applique ni aux contaminants ni aux substances ajoutées aux denrées alimentaires pour en préserver ou en améliorer les propriétés nutritionnelles (**MULTON, 2009**).

3-Classement, liste et numérotation des additifs en France et dans la CEE

Une classification catégorielle des additifs a été établie par la directive n° 89/107 modifiée du 21 décembre 1988. Il y a 25 catégories fonctionnelles non compris les supports d'additifs (MULTON, 2009).

Auparavant, des directives spécifiques plusieurs fois modifiées concernant les colorants (directive du 23 octobre 1962), les conservateurs (directive du 06 novembre 1963), les anti oxygènes (directive du 13 juillet 1970), les émulsifiants (directive du 18 juin 1974) avaient déjà recouru à un classement catégoriel provisoire et à une numérotation des substances inscrites dans ces catégories. Ces dispositions actuelles comme les anciennes s'appliquent en France comme aux autres pays de la Communauté. Mais d'une approche partielle, on est passé à une harmonisation totale.

La définition des catégories d'additifs et celle des supports sont données par l'arrêté du 2 octobre 1997 qui transpose les directives communautaires (94/35 sur les édulcorants) et qui précise que l'on entend par :

Acidifiants : les substances qui augmentent l'acidité de denrée alimentaire et/ou lui donnent un goût acide.

Affermissants : les substances qui permettent de rendre ou de garder les tissus des fruits et des légumes fermes ou croquants, ou qui, en interaction avec des gélifiants, forment ou raffermissent un gel.

Agents de charge : les substances qui accroissent le volume d'une denrée alimentaire, sans pour autant augmenter de manière significative sa valeur énergétique.

Agent d'enrobage : (y compris les agents de glisse), les substances qui, appliquées à la surface d'une denrée alimentaire, lui confèrent un aspect brillant ou constituent une couche protectrice.

Agent de traitement de la farine : les substances qui, ajoutées à la farine ou à la pâte, améliorent sa qualité boulangère.

Agents moussants : les substances qui permettent de réaliser la dispersion homogène d'une denrée alimentaire liquide ou solide.

Amidon modifié : les substances obtenus au moyen d'un ou plusieurs traitement chimiques d'amidons alimentaires, qui peuvent avoir été soumis à un traitement physique ou enzymatique, et peuvent être fluidifié par traitement acide ou alcalin ou blanchis.

Anti – agglomérant : les substances qui, dans une denrée alimentaire, limitent l'agglutination des particules.

Anti moussants : les substances qui empêchent ou limitent la formation de mousse.

Antioxygènes : les substances qui prolongent la durée de conservation des denrée alimentaires en les protégeant des altérations provoquées par l'oxydation, telle que le rancissement des matières grasse et les modification de couleur .

Colorants : les additifs qui ajoutent ou redonnent de la couleur à des denrées alimentaires.

Conservateurs : les substances qui prolongent la durée de conservation des denrées alimentaires en les protégeant des altérations dues aux micro-organismes.

Correcteur d'acidité : les substances qui modifier ou limitent l'acidité ou l'alcalinité d'une denrée alimentaire.

Edulcorants : les additifs alimentaires utilisés pour donner une saveur sucrée aux denrées alimentaires.

Emulsifiants : les substances qui, ajoutées à une denrée alimentaire permettent de réaliser ou maintenir le mélange homogène de deux ou plusieurs phases non miscibles telle que l'huile et l'eau.

Epaississants : les substances qui, ajoutées à une denrée alimentaire en augmentent la viscosité.

Exhausteurs de goût : les substances qui, renforcent le goût et/ou l'odeur d'une denrée alimentaire.

Gaz d'emballage : les gaz autre que l'air, placés dans un contenant avant, pendant ou après l'introduction d'une denrée alimentaire dans ce contenant.

Gélifiants : les substances qui, ajoutées à une denrée alimentaire, lui confèrent de la consistance par la formation d'un gel.

Humectants : les substances qui empêchent le dessèchement des denrées alimentaires en compensant les effets d'une faible humidité atmosphérique ou qui favorisent la dissolution d'une poudre en milieu aqueux.

Poudre à lever : les substances ou combinaisons de substances qui libèrent des gaz et de ce fait accroissent le volume d'une pâte.

Propulseurs : les gaz autre que l'air qui ont pour effet d'expulser une denrée alimentaire d'un contenant.

Sels de fonte : les substances qui dispersent les protéines contenues dans le fromage, entraînant ainsi une répartition homogène des matières grasses et des autres composants.

Séquestrants : les substances qui forment des complexes chimiques avec les ions métalliques.

Stabilisants : les substances qui, ajoutées à une denrée alimentaire, permettent de maintenir son état physico-chimique. Les stabilisants comprennent les substances qui permettent de maintenir la dispersion homogène de deux ou plusieurs substances non miscibles dans une denrée alimentaire, les substances qui stabilisent, conservent ou intensifient la couleur d'une denrée alimentaire ainsi que les substances qui augmentent la capacité de liaisons des denrées alimentaires, y compris la réticulation entre protéines permettant la liaison de morceaux d'aliments dans les aliments reconstitués.

Supports : y compris les solvants porteurs, les substances utilisées pour dissoudre, diluer, disperser ou modifier physiquement de toute autre manière un additif alimentaire ou un arôme sans modifier sa fonction (et sans avoir elles-mêmes de rôle technologique) afin de faciliter son maniement, son application ou son utilisation.

Tableau 5: Numérotation des additifs alimentaires (VIERLING ,2005)

Additifs	Code par la CE	Additifs	Code par la CE
Colorants	E100 à E180	Antiagglomérants	E500 à E553
Conservateurs	E200 à E285	Exhausteurs du goût	E620 à E650
Antioxydants	E300 à E321	Agents d'enrobage	E900 à 914
Acidifiants et correcteurs d'acidité	E325 à E380	Gaz d'emballage/gaz propulseurs	E938 à E949
Edulcorants	E950 à E968	Enzymes alimentaires	E1100 à E1105
Emulsifiants Épaississants Gélifiants Stabilisants	E400 à E495	Amidon modifiés	E1404 à E1451

4-Origine des additifs alimentaires

Généralement, les additifs alimentaires peuvent avoir plusieurs origines :

- Les additifs naturels : ce sont des additifs provenant de substances naturelles et ne présente pas des risque sur la santé.il s'agit de produits issus du monde minéral, les extraits des produits végétaux (chlorophylles, farine de graines de caroube, de tamarin,....etc.)
- Les additifs synthétiques : ils sont totalement artificiels ou identiques à des substances naturelles. Ils peuvent être dangereux, car leur fabrication exige souvent l'utilisation de solvants qui ne sont pas entièrement éliminés.
- Les additifs artificiels : il s'agit d'additifs qui n'existe pas dans la nature et doivent être fabriqués **(WHO, 2012)**.

5- Principes généraux régissant l'utilisation d'additifs dans les denrées alimentaires

- L'additif doit avoir satisfait à un test d'évaluation toxicologique approprié.
- La dose d'additif utilisée ne doit pas être supérieure à la dose minimale requise pour atteindre les objectifs recherchés par cette addition.
- La preuve des avantages technologiques ou bénéfiques apportés au consommateur doit être faite. Ainsi :
 - La margarine ne peut être fabriquée sans émulsifiants.
 - Les conservateurs, les anti oxygènes allongent la durée de conservation, réduisent les pertes, permettant sa vente à des prix moins élevés.
- L'additif doit être autorisé par les autorités concernées dans la liste des additifs autorisés.
- L'usage d'un additif ne doit pas induire en erreur le consommateur sur la qualité du produit.il ne doit pas favoriser des techniques défectueuses de la production et de distribution.
- Les additifs ne doivent présenter aucune teneur dangereuse en élément chimique, notamment en métaux lourds.
- La dose maximal d'adjonction de chaque additif aux aliments ou boissons dans lesquels ils sont autorisés et quantifiée par des textes réglementaires.
- Les additifs destinés à la consommation des animaux font l'objet d'une réglementation spécifique en vue de protéger la santé mais aussi celle de l'homme lors de l'ingestion de produit animaux.

- La dose journalière admissible (DJA) est la référence définie, par le comité mixte OMS d'experts des additifs alimentaire, comme représentant la quantité moyenne d'un additifs exprimée en mg /kg de poids corporel qui peut être ingérée chaque jour par le biais des aliments pendant la vie entière (**VIERLING, 2008**).

6- Intérêt des additifs alimentaire

Les additifs sont des « ingrédients à but technologique » c'est à dire qu'ils jouent un rôle dans la recette pour une quantité d'additif spécifique.

Pour pouvoir être utilisés, les additifs doivent avoir démontré leur innocuité et leur utilisation doit être loyalement communiquée aux consommateurs. Mais en plus, les additifs doivent démontrer un effet technologique suffisant « ne pouvant être obtenu par d'autre méthodes économiquement utilisables » (**MULTON, 2009**).

Le besoin technologique peut être de plusieurs ordres :

La conservation de la qualité nutritive de l'aliment.

- L'amélioration de ses qualités organoleptiques (texture, gout, etc.).
- L'aide à la préparation de la denrée industrielle.

6-1- Intérêt technologique

La grande diversité des additifs alimentaire présente un double intérêt : le premier est d'avoir un choix pour une même fonctionnalité, en fonction de paramètre tels que pH, activité de l'eau, etc. le seconde est de pouvoir utiliser différent additifs en synergie, et donc, de n'utiliser que la quantité optimale (**MULTON, 2009**).

6-2- Amélioration de la conservation

Les aliments sont tous d'origine biologique et donc, fragilisés à la fois par des phénomènes extérieurs (température, l'oxygène, contamination microbiennes....) ou interne (actions des enzymes, etc.) un des plus grand risques est la contamination microbiologique suivie d'une production de toxine très dangereuse, comme la toxine botulique induisant le botulisme, comme l'aflatoxine ou la patuline, etc.

Les aliments vont devenir peu à peu impropres à la consommation humaine si ces phénomènes ne sont pas empêchés ou inhibés.

L'amélioration de la conservation inclut trois propriétés des aliments qui doivent être préservées : la qualité sanitaire, nutritionnelle et organoleptique (texture, odeur, saveur, couleur).

6-3- Rôle d'améliorer ou de maintenir la qualité organoleptique

Le monde des additifs est aujourd'hui considéré comme des denrées très précieuses et onéreuses permettant de maintenir ou améliorer les qualités sensorielles des aliments : la consistance, la texture, la couleur, etc. (MOHAMED *et al.*, 2012).

6-4- Amélioration de la valeur nutritionnelle

La composition nutritionnelle est devenue une des caractéristiques majeures des aliments, et la recherche pour une amélioration des propriétés nutritionnelles des denrées alimentaires devient un domaine incontournable pour les industriels.

La connaissance de la composition nutritionnelle des aliments et préparation alimentaires a permis de développer des solutions pour améliorer le statut des produits proposés aux consommateurs : nutriments, micronutriments, substances, à rôle nutritionnel peuvent être ajoutés aux aliments, soit dans le but d'une restauration, soit d'un enrichissement. Réglementairement, ces additions de nutriments ne sont pas considérées dans les additifs.

En effet, certains nutriments sont très fragiles et sensibles à température, à la lumière, à l'action d'oxydants. Ils nécessitent des agents protecteurs spécifiques, ou une restauration afin que le produit final puisse avoir les mêmes caractéristiques nutritionnelles que l'aliment-source (MULTON, 2009).

6-5- Un rôle économique :

Afin de prévenir les détériorations des aliments ou de faciliter ou de prolonger le transport (MARTIN, 2001).

6-6- Rôle hygiénique ou sanitaire :

L'amélioration de la conservation des aliments se fait généralement par l'emploi des conservateurs et antioxydants qui sont très importants pour empêcher la prolifération des bactéries ou des moisissures qui peuvent être à l'origine de contamination par des substances toxiques et même cancérigènes (BAKIRI et M'ZALI, 2013).

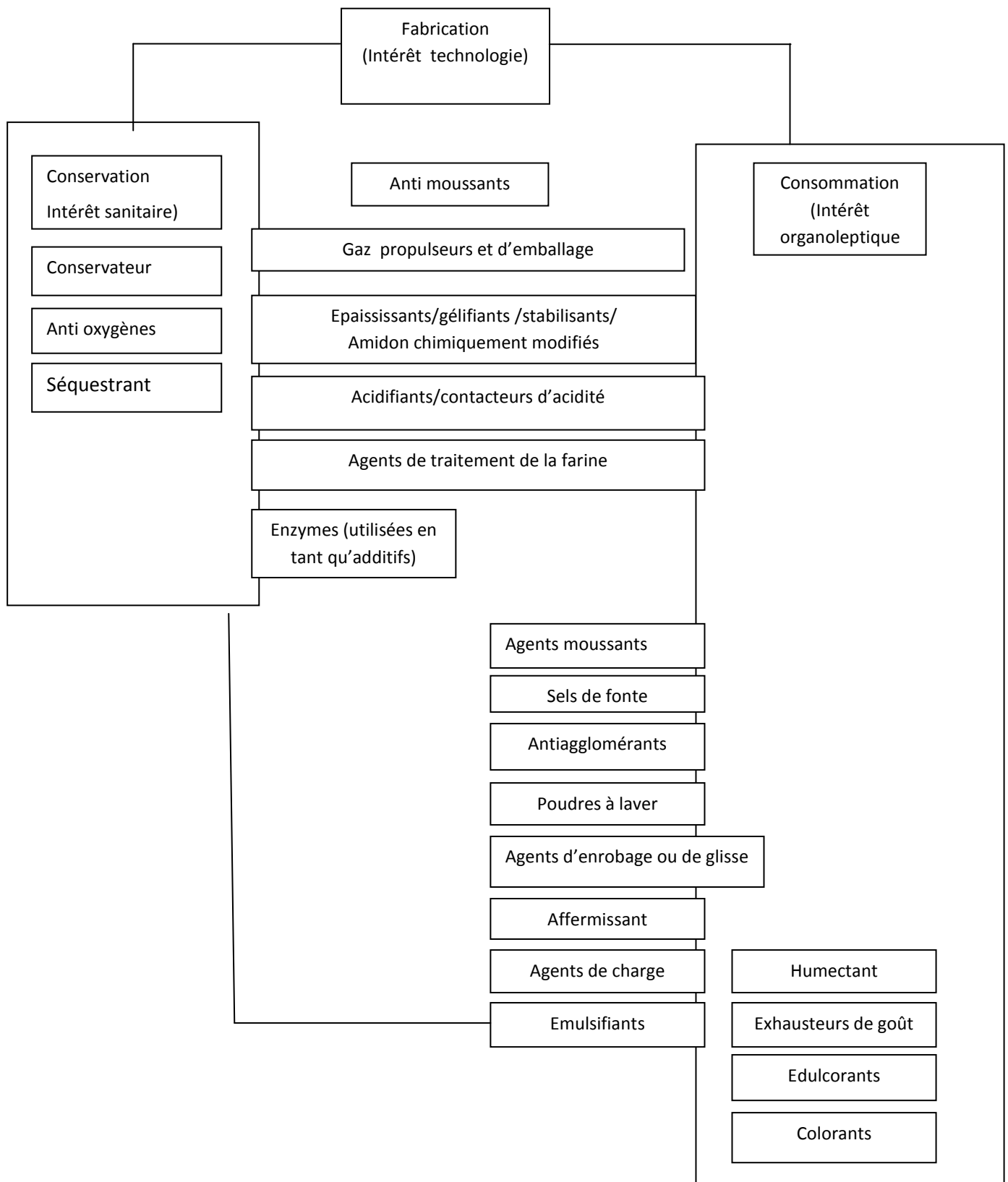


Figure 3: Catégorie d'additifs alimentaire selon leurs fonctions (MULTON, 2009)

7-Les inconvénients des additifs alimentaires

Beaucoup d'additifs ont des effets douteux sur la santé et sont parfois remis en cause, mais non interdits ce qui est source d'une grande controverse autour des additifs alimentaires. De plus, le consommateur les voit comme des produits chimiques, donc mauvais. N'oublions pas que certains d'entre eux sont utilisés depuis des siècles (sel, salpêtre, épices) ou sont même parfois extraits de végétaux. Il existe malgré tout certains additifs comme la dulcine (édulcorant interdit il y a 59 ans) dont on est sûrs de la nocivité. Ainsi, comment ne pas craindre que d'autres additifs employés aujourd'hui soient reconnus comme nocifs dans les années à venir ? Il est d'ores et déjà possible de mettre en évidence les effets suspects associés à certains additifs (GAIANI, 2009).

7-1-Hyperactivité

L'hyperactivité est un déficit de l'activité motrice et de l'attention qui perturbe l'efficacité scolaire de l'enfant et qui s'accompagne de réactions agressives. Des chercheurs de l'université de Southampton ont voulu tester l'influence des colorants et des conservateurs sur l'hyperactivité infantile. Pour ce faire, ils ont mis en place deux groupes d'enfants : l'un recevait un régime alimentaire contenant des colorants (dans une quantité comparable à celle qu'un enfant peut consommer régulièrement), l'autre suivait un régime alimentaire sans colorants et recevait ainsi un placebo. En 2007, après expérimentation, il a été observé que dans le premier groupe certains des enfants devenaient hyperactifs alors que dans l'autre, aucun ne présentait de tels troubles. Par ailleurs, quand les colorants étaient retirés du régime ces troubles disparaissaient. Il semble donc y avoir un lien entre colorants et hyperactivité. Ces additifs interviendraient ainsi au niveau du système nerveux, provoquant une anomalie des récepteurs neuronaux, responsables de l'hyperactivité.

7-2-Problèmes intestinaux

Les additifs alimentaires, dont les colorants, peuvent provoquer une diminution de l'absorption intestinale et un bouleversement de la flore intestinale. De même certains émulsifiants (E 338 à E 341, E 460 à E 466 et E 470 à E 477) irritent le tube digestif et perturbent la digestion. Ils seraient aussi responsables d'un ralentissement de l'absorption des nutriments au niveau de l'intestin grêle.

7-3- Allergies

Toute une variété de substances sont mises en causes dans les allergies, qui touchent surtout les personnes sensibles. Quand l'allergie est détectée, la consultation des ingrédients

utilisés dans les produits permet d'éviter leur consommation. Il existe malgré tout un certain pouvoir allergisant des additifs alimentaires. Les mécanismes impliqués sont les mêmes pour toutes les allergies : la substance allergène provoque une réaction immunitaire exagérée et des substances chimiques sont libérées, provoquant divers troubles comme des démangeaisons, de l'urticaire, des problèmes respiratoire, des œdèmes, des troubles digestifs...

Les édulcorants peuvent, comme toute autre substance, provoquer des réactions allergiques. Mais l'aspartame en particulier doit impérativement être évité par les personnes qui souffrent de phénylcétonurie (maladie génétique rare) et qui sont allergiques à la phénylalanine, dont l'aspartame est une source. En revanche, la phénylalanine en elle-même ne pose pas de problèmes reconnus pour la population générale : c'est un acide aminé qui est présent à l'état naturel dans de nombreux aliments.

7-4- Effet carcinogène

Le but des études de cancérogénèse est de démontrer qu'une substance est capable ou non d'induire une prolifération anormale des cellules aboutissant à la formation de tumeurs.

Les nitrites provoquent la formation de nitrosamines et de nitrosamides cancérigènes. La formation des nitrosamines est appelée réaction de nitrosation et correspond au remplacement d'un hydrogène de l'atome d'azote d'une amine, secondaire ou tertiaire, par un groupement nitrosé (appartenant à un agent nitrosant : NO^+ , N_2O_3 , N_2O_4 , H_2ONO^+ , ces derniers étant formés en milieu acide à partir de l'ion nitrite).

Ce mécanisme peut se réaliser par catalyse acide au niveau gastrique, ce qui correspond à une synthèse endogène évaluée à $82\mu\text{g/kg/jour}$, un chiffre très faible dont l'éventuelle toxicité est encore beaucoup discutée. De plus, cette estimation peut varier très significativement en fonction de l'état physiologique du sujet, de son âge, et surtout de la quantité de précurseurs ingérés (en particulier les nitrates et les nitrites).

On sait notamment que l'acide ascorbique (vitamine C) inhibe la synthèse de ces composés nitrosés.

Les nitrates et les nitrites seuls, introduits dans l'alimentation de rats, n'entraînent pas l'apparition de tumeur. Mais une étude a montré qu'en administrant simultanément les différents précurseurs (nitrites et nitrosamines), il existait une augmentation très significative des tumeurs hépatiques par rapport au pouvoir carcinogène d'une alimentation ne fournissant qu'un seul précurseur.

7-5-Accoutumance

Les exhausteurs de goût agiraient sur les neurones, empêchant le bon fonctionnement des mécanismes inhibiteurs de l'appétit. Par conséquent, plus on en mange, plus ils donnent faim et donc plus on a envie d'en manger.

Les édulcorants sont parfois déconseillés par les nutritionnistes parce qu'ils entretiendraient l'attrait pour le sucre. Ainsi, les consommateurs réguliers de produits sucrés avec des édulcorants intenses auront tendance à choisir des produits plus sucrés, ce qui pourrait favoriser notamment l'obésité en augmentant l'apport calorique.

De plus, d'après certaines études, la saveur sucrée pourrait inciter le cerveau à sécréter de l'insuline (hormone hypoglycémiante), alors qu'il n'y a aucun apport en glucose. Par conséquent la glycémie chuterait, entraînant une sensation de faim. Les édulcorants utilisés par les personnes obèses pour perdre du poids auraient donc un effet inverse à celui recherché. De nombreuses études cherchent ainsi à mettre en corrélation la prise d'aliments édulcorés et la sensation de faim, mais comme les résultats varient en fonction des conditions opératoires, rien n'est encore réellement démontré (**GAIANI, 2009**).

Chapitre III

Edulcorants

1-Définition

Les édulcorants font partie des additifs ceux dont on parle beaucoup au cours de ces dernières années.

Les sucres et les « édulcorants » ont en commun la propriété d'avoir un pouvoir sucrant. Le pouvoir sucrant (P. S.) d'une substance se définit à partir d'une solution à 30g/litre d'eau à 20°C de saccharose (le sucre traditionnel) qui est la référence égale à 1. S'il faut plus de 30g/l d'eau de cette substance pour obtenir la même intensité de goût sucré que la solution de sucre, on dit que son pouvoir sucrant est inférieur à 1. Dans le cas contraire elle est supérieure à 1. Ainsi le saccharose a un P .S.=1, le fructose a un P.S.=1,2. Dans la molécule de saccharose, c'est la moitié fructose qui apporte le plus de goût sucré (**Nicole et Moll, 1990**)

Un édulcorant est une substance possédant une saveur sucrée, qui est utilisé pour son action sucrante.

2- Les différents types d'édulcorants

Les substances douées d'une saveur sucrée étant très nombreuses, de nature et d'origine forte différente, elles peuvent être regroupées en deux catégories

- Celle des édulcorants nutritifs, dont le pouvoir sucrant est inférieur ou voisin de celui du sucre, qui entrent dans les informations à des concentrations importantes en apportant ainsi une grande partie de la charge nutritive

Les deux sous-groupes sont pour mémoire :

- les « sucres » : sucre (saccharose), fructose, glucose, isomglucose, etc. Ce sont des denrées alimentaire ;

-les polyols ou sucres-alcool : sorbitol, xylitol, isomalt, maltitol, mannitol, lactitol. Ce sont des additifs alimentaires (dans la catégorie des « édulcorants »)

- Celle des édulcorants intenses (non nutritifs) qui, compte tenu de leur haut pouvoir sucrant (plusieurs dizaines de fois à plusieurs milliers de fois celui du sucre) ne représentent qu'une charge pondérale infime dans la denrée alimentaire et sont des additifs alimentaires (**MULTON, 2002**)

2-1-Les édulcorants nutritifs

2-1-1- Les sucres

Saccharose, fructose, galactose, isoglucose ...etc.

2-2-2 les polyols ou sucres-alcools

Ce sont des composés organiques qui se distinguent des saccharides usuels par la réduction de la fonction aldéhydrique ou cétonique, la grande majorité provient des plantes, mais ils peuvent être obtenus industriellement par l'hydrogénation catalytique du D- glucose (CE, 2006). Ils comprennent essentiellement :

- ✓ **Le sorbitol ou glucitol** : obtenu par hydrogénation de la fonction aldéhydrique du glucose. On le rencontre également à l'état naturel dans de nombreux végétaux. Le sorbitol est fabriqué par la Société ROQUETTE, premier fabricant au monde, à partir d'amidon de maïs (NICOL et MOLL, 1990)
- ✓ **Mannitol** : Il est obtenu par hydrogénation du fructose lui – même produit à partir de l'amidon. C'est un isomère du sorbitol. (NICOL et MOLL ,1990)
- ✓ **Lactitol** : Obtenu par hydrogénation du lactose. Son Pouvoir sucrant est de 0,3-0,4.
- ✓ **Maltitol ou isomaltitol** : obtenu par hydrolyse du maltose. son Pouvoir sucrant est celui du saccharose =1. Cet édulcorant est commercialisé sous le nom de Malbit
- ✓ **Palatinit ou isomalt** : cet additif ne doit pas être confondu avec le Palatinose qui est un disaccharide glucose et fructose liés en 1-6. Le Palatinit est constitué de deux saccharides : α - D- glucose (1-6)-sorbitol et α - D- glucose (1-6)-manitol, son pouvoir sucrant est de 0,45. Il est partiellement métabolisé (NICOL et MOLL 1990).

2-2- les édulcorants intenses (non nutritifs)

Les édulcorants intenses sont des substances chimiques naturelles ou synthétiques ayant une saveur sucrée très intense et de ce fait utilisées à faible dose. (NICOL et MOLL ,1990).

Les édulcorants d'origine naturelle sont obtenus à partir d'extraits végétaux naturels ou modifiés chimiquement de façon à faire apparaître un pouvoir sucrant ou à l'exacerber. Cette famille peut être scindée en deux sous- familles :

- Molécule de nature glycosidique .

- Molécule de nature protéique.

Les édulcorants de synthèse sont des molécules nouvelles qui, résultant du hasard ou d'une recherche délibérée des chimistes, présentent un pouvoir sucrant très important, ce qui les fait utiliser en très faibles quantités (concentration généralement inférieure au g par kg) dans les produits industriels autorisés, ou en édulcorants de table sous forme de pastilles, sirops ou poudres dans lesquels ils sont dilués dans des supports **(VIERLING , 2008)**.

2-2-1- La saccharine et le saccharinate de sodium

Le saccharinate de sodium est la forme la plus employée, du fait de sa grande solubilité dans l'eau. Sous forme de poudre blanche, de bonne stabilité au stockage, assez stable à la chaleur, de saveur sucrée franche, il a un arrière-goût métallique très prononcé. Il n'est pas métabolisé par l'organisme. Les expériences permettent de conclure à une très certaine innocuité. L'avis du comité scientifique de l'alimentation humaine a abouti à une baisse de DJA et une réduction des doses maximales d'emploi **(VIERLING, 2008)**.

2-2-2- Le cyclamate de sodium (dérivé de l'acide sulfamique)

Sous forme de poudre blanche, très soluble, très stable à la chaleur, ayant une saveur sucrée agréable et sans arrière-goût, il est employé en mélange pour masquer l'arrière-goût de la saccharine.

Dans l'intestin, sous l'effet de la flore microbienne, il peut former de la cyclohexylamine, suspectée d'avoir une faible action cancérogène. L'avis du comité scientifique de l'alimentation humaine a abouti à une baisse de DJA et une réduction des doses d'emploi maximales **(VIERLING, 2008)**

2-2-3- L'acésulfame de potassium

L'acésulfame présente une parenté de structure avec la saccharine. Sa saveur sucrée est agréable et proche de celle du saccharose, et sa stabilité est supérieure à celle de la saccharine.

L'acésulfame n'est pas métabolisé dans l'organisme, ne s'y accumule pas, il est éliminé par le rein ; l'OMS conclut à son innocuité.

La DJA fixée à 15mg /kg de poids corporel correspond à un pouvoir sucrant de 80g de saccharose . . . **(VIERLING, 2008)**.

2-2-4- La thaumatine

Elle fut extraite, en 1974, du fruit d'une plante tropicale, *Thaumatococcus Daniellii*. La saveur sucrée n'est immédiate à la dégustation, mais persistante, et certains auteurs notent un léger arrière-goût sucré, en mélange.

Par l'ultrafiltration et des méthodes de chromatographie diverses, ont été séparées deux substances protéiques sucrées, proches par leur composition et leur propriété. Des recherches agronomiques devaient rendre rentable la culture de la plante sécrétrice.

La dénaturation de ces protéines se traduit par une perte de pouvoir sucrant. Leur sensibilité est très variable suivant les milieux : elles supportent plusieurs heures d'ébullition dans l'eau désionisée, mais sont irréversiblement dénaturées à 55°C dans une eau à pH 3,2. Les applications de la thaumatine semblent limitées, en confiserie et préparation diététiques. **(VIERLING, 2008).**

2-2-5- L'aspartame, édulcorant peptidique

L'aspartame est un additif alimentaire qui a atteint une très vaste acceptabilité en tant qu'édulcorant dans plus de 4 000 produits faibles en calorie **(MULTON, 1992).**

L'aspartame édulcorant non nutritif, d'une saveur sucrée très supérieure à celle du saccharose (d'ordre de 200 fois), il permet donc de remplacer le sucre dans les aliments et les boissons, sans apport calorique en quantité appréciable. L'aspartame est l'ester méthylique d'un dipeptide, c'est-à-dire une molécule constituée de l'association de deux acides aminés : l'acide L aspartique et L-phénylalanine, découvert en 1965 par SCHLATTER. Sa synthèse peut être chimique en éliminant les isomères inefficaces ou par voie enzymatique en assurant la spécificité de la synthèse.

L'aspartame se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche, inodore, hygroscopique. Récemment sa forme encapsulée diversifie son utilisation, soit comme édulcorant de table, soit comme ingrédient ajouté aux aliments notamment les boissons. Il est commercialisé sous différents noms (Equal, Canderel, Cologran, NutraSweet et Ordilège) **(TRIZZANI, 2004).**

L'aspartame est rapidement métabolisé dans la lumière intestinale et les entérocytes, engendrant 50% de phénylalanine et 40% d'acide aspartique.

- L'acide aspartique : est un neurotransmetteur normal mais toute substance consommée à des doses excessives peut être toxique, il n'est pas dangereux que lorsque son taux dans le plasma dépasse les 100 $\mu\text{mole/dl}$ (TREZZANI, 2004).

-la phénylalanine : est un acide aminé essentiel apporté uniquement par l'alimentation, elle se présente normalement dans le cerveau.

Les personnes souffrant du désordre génétique, phénylcétonurie (PKU), ne peuvent pas cataboliser la phénylalanine. Dans ce cas il est contre indiqué.

Il a été démontré que l'ingestion d'aspartame, peut provoquer des niveaux excessifs de phénylalanine dans le cerveau, même chez les personnes ne souffrant pas de la phénylcétonurie. En excès, ces niveaux peuvent amener à une décroissance des niveaux de sérotonine, conduisant à des désordres émotionnels tels que la dépression (TREZZANI, 2004).

L'acide aspartique et la phénylalanine ne sont pas les seuls métabolites de l'aspartame, en effet celui-ci dans un état d'instabilité conduit à la formation de méthanol (10%) et de dicétopipérazine dépourvu du pouvoir sucrant.

-le méthanol : est créé à partir de l'aspartame lorsqu'il est chauffé au-dessus de 30°C. Il est incorrectement stocké. Le méthanol se décompose dans le corps en acide formique, formaldéhyde et en dioxyde de carbone. Les premiers métabolites sont toxiques, il est recommandé une limite de consommation de 7.8mg/jour. Les problèmes les plus connus d'un empoisonnement au méthanol, sont les problèmes de la vue comme une vision embrumée, un rétrécissement progressif du champ visuel, l'endommagement de la rétine, s'oppose à la reproduction de l'ADN et cause des malformations prénatales (TREZZANI, 2004).

-la Dicétopipérazine : en solution et à 105°C, l'aspartame tend à se dégrader en dicétopipérazine, substance qui, lorsqu'elle est chauffée est soupçonnée de pouvoir conduire à la formation de nitrosamines, produit cancérigène. La dose journalière acceptable DJA de la dicétopipérazine pour l'homme a été fixée à 7.5mg/kg (TREZZANI, 2004).

- Les propriétés de l'aspartame

L'aspartame est l'ester méthylique de L- aspartyl-phénylalanine. Il est référencé dans l'Union Européenne par le code E951. Possède un pouvoir sucrant 200 fois le saccharose, sa

formule chimique est $C_{14}H_{18}N_2O$ et d'une masse moléculaire de 294.30g/mole (**MENDOZA, 2008**)

- **Aspect :** poudre cristalline blanche, hygroscopique, inodore et stable au- delà d'un an au cours de stockage dans des conditions adéquates (**PASCAL, 2008**)
- **Saveur :** individuellement les acides aminés constitutifs de l'aspartame ne sont pas sucrés, mais lorsqu' ils sont associés ils reproduisent la saveur pure et douce du sucre sans l'arrière-goût amer, chimique ou métalliques reproché aux autres édulcorants (**MULTON, 1992**).
- **La solubilité :** la solubilité de l'aspartame est essentiellement fonction de pH et de la température. Dans l'eau est minimale au point isoélectrique (pH = 5,2) :

1% à 20°C ; 1,5 % à 30°C et de 2,5 % à 40°C

- **La stabilité :** dépend de plusieurs paramètres : le temps de stockage, la température, le pH et l'humidité.
- A des températures élevées, l'aspartame se dénature, ce qui limite son emploi dans la cuisson ;
- Bonne stabilité à des pH entre 3 et 5 et à température ambiante ;
- En dessous de 80% d'humidité, la stabilité est excellente pendant plusieurs années ;
- A une humidité élevée, la liaison ester de l'aspartame est susceptible de s'hydrolyser, en donnant alors différents produits qui n'ont pas de goût sucré, ni d'arrière-goût (**NORDMANN et RIBIERE, 1992**).

Chapitre IV

Conservateurs

1-Définition

Un additif conservateur est une substance non consommée normalement en tant que denrée alimentaire, que l'on incorpore à un aliment en vue d'accroître sa sécurité et sa stabilité microbiologique (MULTON, 1992).

2-Le but de la conservation chimique

Les conservateurs chimiques doivent assurer :

- l'innocuité de l'aliment, qui résulte de l'inhibition du développement des micro-organismes pathogènes éventuellement présents (salmonelles, clostridies, staphylocoque, moisissures diverses) et de la production de toxines. (MULTON, 1992)
- la stabilité organoleptique de l'aliment, qui résulte de l'inhibition de la multiplication des micro-organismes d'altération.

3-Type des conservateurs :

Il existe deux types de conservateurs : minéraux et organiques

3-1-Les conservateurs minéraux :

- Les chlorures et les phosphates

Le chlorure de sodium (NaCl) est sans doute, si l'on met à part la fumée, le premier conservateur chimique qui ait été utilisé. Etonné que les doses auxquelles on l'emploie et le caractère traditionnel de son utilisation pour donner le goût salé, on ne le considère pas comme un additif.

C'est cependant un agent antimicrobien efficace, essentiellement par son effet dépressur sur l'activité de l'eau (A_w) des produits (MULTON, 1992).

- Les nitrates et nitrites

Les nitrates de sodium E251 et de potassium E252 sont utilisés depuis plus de 2000 ans dans les produits de salaison et de fumaison. Ils confèrent à ces préparations une belle couleur rose par transformation de la myoglobine, pigment de la viande, en dérivés nitrosés. Par ailleurs, ils empêchent la prolifération des bactéries anaérobies, en particulier de *Clostridium botulinum* responsable de la toxi-infection alimentaire la plus dangereuse.

Parce que les nitrates inhibent les bactéries du genre *Clostridium*, ils sont autorisés par la CE, dans la fabrication des fromages affinés dans lesquels *Clostridium thyrobutyricum*, bactérie favorisée par la pratique de l'ensilage, crée des gonflements anormaux (**VIERLING, 2008**).

- **L'anhydride carbonique (dioxyde de carbone)**

Le dioxyde de carbone(CO₂) inhibe fortement les bactéries aérobies responsables d'altération des aliments, il permet la croissance lente des bactéries lactiques. Il est très actif contre les moisissures et peu efficace contre les levures. L'effet inhibiteur du CO₂ est plus marqué à basse température parce que le gaz se dissout mieux dans l'eau contenue par le produit à conserver. L'élévation de la pression de CO₂ joue un rôle important et sélectif vis-à-vis des bactéries.

Le CO₂ est utilisé dans la conservation des boissons, gazeuses ou non gazeuse, alcoolisées ou non (**VIERLING, 2008**).

- **L'anhydride sulfureux et les sulfites**

Ces composés sont utilisés largement en vinification pour désinfecter le matériel, mais aussi pour contrôler la fermentation en bénéficiant du fait que SO₂, utilisé à raison de 50 à 100 ppm est plus toxique pour les bactéries et les moisissures que pour les levures.

On les emploie également de façon assez générale pour la conservation du produit végétal, notamment des fruits et de diverses préparations à base de fruit. Ils joignent à leur action bactéricide un effet protecteur à l'égard de certains processus défavorables tels que le brunissement enzymatique (**MULTON, 1992**).

- **Le peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée (H₂O₂)**

C'est un composé qui se forme naturellement dans les nombreuses cellules vivantes, sans y devenir toxique à cause de la protection assurée par la catalase qui le détruit en H₂O et O₂. Il est actif contre les bactéries, essentiellement contre les bactéries anaérobies dépourvues de catalase.

Dans le domaine alimentaire, il est utilisé en tant qu'auxiliaire technologique pour la désinfection de surface de matériaux entrant en contact avec l'aliment, notamment l'emballage destiné au conditionnement aseptique.

3-2-Les conservateurs organiques :

-l'acide sorbique et ses sels (**VIERLING ,2008**)

De formule $\text{CH}_3\text{-CH=CH-CH=CH-COOH}$, l'acide sorbique est un acide gras à 6 atomes de carbones.

Tableau 6 : L'acide sorbique et ses sels.

Additif	Code CE	Propriété et utilisation
acide sorbique	E200	Couteux mais plus efficace, surtout à pH bas instable.
sorbate de sodium		Non utilisé car instable.
sorbate de potassium	E202	
sorbate de calcium	E203	Peu soluble dans l'eau, utilisée comme conservateur de surface, par trempage ou pulvérisation.

Ces trois composés sont actifs sur la majorité des micro-organismes, peut-être même sur *Clostridium botulinum*, mais ils sont surtout efficaces contre les moisissures, à condition qu'elles ne soient pas trop nombreuses, sinon elles métabolisent ces additifs.

Leurs propriétés sont dues à la fonction acide gras renforcée par la polyinsaturation.

Ces additifs sont utilisés soit incorporés à de très nombreux aliments, soit en traitement de surface, soit sur l'emballage.

- L'acide benzoïque, les benzoates et dérivés

E210 acide benzoïque

E211 benzoate de sodium

E212 benzoate de potassium

E213 benzoate de calcium

L'acide benzoïque existe à l'état naturel dans de nombreuses variétés de baies, et également obtenu par synthèse .sa formule est la suivante :

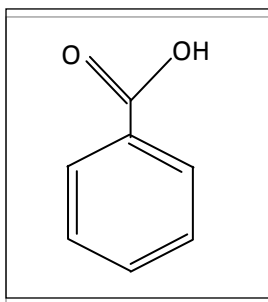


Figure 4: structure générale de l'acide benzoïque

Il est actif sous sa forme non ionisée à pH <4. ce pH est suffisant pour inhiber un bon nombre de bactéries.

Le benzoate de sodium présente une certaine activité contre *Listeria*.

Ces additifs ne sont utilisés qu'à faible dose pour conserver les betteraves rouges cuites, les préparations à base de fruits et légumes condimentaires présentés en saumure acide, les crevettes grises cuites, le caviar et ses succédanés, mais aussi les arômes naturels ou mélange d'arômes naturels et de synthèse destinés à la consommation humaine, ainsi que les boissons gazeuse, normale ou light.

- Les dérivés de l'acide p. hydroxybenzoïque

Ils sont également appelés les parabènes, sont largement utilisés comme agents antimicrobiens dans une grande variété de produits alimentaires, pharmaceutiques et produit cosmétiques. Ils ont une action contre les moisissures et les bactéries.

Les parabènes sont des alkyl-esters de l'acide parahydroxybenzoïque ; les plus courants de cette famille de composés sont :

Leméthylparaben, l'éthylparaben, le propylparabe, le butylparaben, l'isopropylparaben, le benzylparaben.

On rencontre aussi des sels de ces composés (ex : sodium- éthylparaben).

- Oxyde d'éthylène et de propylène

Ces composés gazeux sont utilisés pour désinfecter et désinsectiser des matières alimentaires manipulées en masse importantes telles que les graines. Ils sont aussi utilisés dans certains pays pour décontaminer des produits peu hydratés et dont les caractéristiques

essentielles risqueraient d'être inhibées par les traitements thermiques : épices, poudres de cacao, fruits secs, levure sèche. (MULTON,1992).

- **Conservateurs phénoliques**

Bien qu'agents antimicrobiens, ils sont surtout connus pour leurs propriétés antioxydantes(MOLL, 1990).

- **Les antibiotiques**

Malgré leur efficacité antimicrobienne, ces composés n'ont pas actuellement beaucoup d'application dans l'industrie alimentaire pour diverses raisons :

- Risques d'effets indésirables chez le consommateur
- Possibilité de sélection de souches résistantes aux antibiotiques

La chlortétracyclineet l'oxytétrcylone sont utilisés aux USA pour la conservation de la volaille fraîche : les tétracyclines son utilisés dans certains pays (mais pas en France) pour conserver le poisson frais, les coquillages... (MOLL ,1990).

- **Les enzymes :**

Divers enzymes lytiques pourraient jouer un rôle dans la protection des aliments contre les micro-organismes : le lysosyme pourrait avoir des applications sélectives dans la conservation des aliments, spécialement quand les bactéries sont à craindre ; ils pourraient contribuer à une protection contre *Clostridium botulinum* et *Listria monocytogenes*.

4-Mode d'action du benzoate de sodium et du méthyl parabène :

C'est un groupe de conservateur très important qui inhibent la croissance des bactéries et des champignons et ont aussi une action sur la germination des spores bactériennes. Ils doivent leurs effets bactériostatiques à leur fonction acide faible ainsi qu'à des propriétés spécifiques de leurs molécules (BRANEN, 2002).ils peuvent induire 2 types d'effet :

- **la modification du pH** : ils participent en effet à l'acidification du milieu.la membrane cellulaire est imperméable aux acides hydrophiles ionisés, et donc aux ions H^+ qui saturent cependant les perméases cationique et diminuent ainsi la perméabilité membranaire des cations. Le pH interne (pHi) des micro-organismes est tout de même modifié par les variations du PH externe (pHe) de 7.0 à 5.0.

Salmonella typhimurium est moins sensible, et pour la même baisse de pH externe, le pH interne passe de 7.62 à 7.03. *S.typhimurium* conserve par ailleurs un meilleur taux de croissance qu'*E.coli*.

L'effet de la baisse de pH interne chez ces deux germes s'accompagne aussi d'une diminution du volume cellulaire et d'une perte de potassium.

- **La dissociation des molécules d'acide faibles en fonction du pH du milieu :** C'est la forme non dissociée de ces acides qui est active contre les micro-organismes.

Contrairement aux ions H^+ , les molécules non dissociées diffusent passivement dans le milieu intracellulaire dont elles modifient ensuite le pH interne en libérant des ions H^+ .

Ce phénomène est accentué si le pH interne est plus basique que le pH externe, ce qui favorise l'ionisation des molécules d'acides faible. En effet, comme on peut le voir dans le tableau (8), la proportion d'acide non dissocié augmente avec la baisse du pH, et donc pour être actifs, la plupart des conservateurs doit se trouver à des pH acides et la limite maximum d'efficacité est comprise entre pH=5 et pH=6 suivant les molécules. Les esters de l'acide para-hydroxybenzoïque font exception et on pourra donc les utiliser à pH neutre (MULTON, 2009).

Tableau 7 : Pourcentage d'acide non dissocié à différents pH
(MULTON, 2009)

Acides organiques	pH= 3	pH= 4	pH= 5	pH =6	pH =7
acétique	98.5	84.5	34.9	5.1	0.54
benzoïque	93.5	59.3	12.8	1. 44	0.14
citrique	53	18.9	0.41	0.006	0.001
lactique	86.6	39.2	6.1	0.64	0.06
Parabènes	99.9	99.9	99.9	99.7	96.7
Propionique	98.5	87.6	41.7	6.67	0.71
Sorbique	97.4	82	30	41	0.48
Nitrite			2.5	0.25	0.03

La modification de l'équilibre homéostatique du cytoplasme par la pénétration des acides faibles peut entraîner des altérations et même des ruptures de la membrane plasmique, ce qui peut avoir des conséquences graves sur la croissance et la viabilité des cellules. Par ailleurs, les réactions enzymatiques ont un pH optimum en-deçà et au-delà duquel la cinétique est perturbée. Toute variation du pH cytoplasmique va donc entraîner un ralentissement de l'activité enzymatique et de la croissance, et perturber les grandes voies métaboliques (CHIRCHESTER et TANNER, 2013).

Partie pratique

Chapitre I

Matériels et méthodes

1-Présentation du milieu d'études

Notre étude pratique est réalisée au sein du laboratoire physico-chimique du département agronomie et du laboratoire de la chimie du département pharmacie au niveau du campus biomédical à L'U.M.M.T.O.

Cette étude expérimentale à réaliser sur trois échantillons du jus d'orange Mistral, Ramy light et Ryhane mis sur le marché.

2-Objectifs de l'étude

- L'étude de la qualité physico-chimique de ces jus.
- L'étude quantitative d'un édulcorant (aspartame) et un conservateur (benzoate du sodium) par la chromatographie liquide haute performance.

3-Présentation des produits analysés

Ramy light orange : est un jus à base de pulpe d'orange, riche en vitamines, sans sucres ajoutés, fabriqué par TFC (Taiba Food Company), située à la zone industrielle Rouiba, Alger, Algérie. Ce jus contient les ingrédients suivants : eau traitée, concentré de jus et de pulpe d'orange, arôme, additif alimentaire (SIN 330 : régulateur d'acidité, SIN (415,466) : stabilisant, SIN 300 : anti oxydant, SIN : 160a, SIN 160a (ii) : Colorant, SIN (414, 444,445) émulsifiant, SIN 900a : anti moussant, SIN 951 : édulcorant.

Sa valeur nutritionnelle pour 100ml : glucides : 2,5g, protéines : 0,5g, lipides : 0,01g. Sa valeur énergétique : 12,9 Kcal.

Rayhane orange : est un jus à base de concentré naturel d'orange, fabriqué par Akhezroune Abdelmalek (production d'eau minérale et boissons diverses non alcoolisées), situé à la cité Ben Adjel 20 aout, Boudouaou, Boumerdes.

Ce jus contient les ingrédients suivants : eau traitée, sucre (concentré de jus et pulpe d'orange, cellules naturelles d'orange) minimum 20%, arôme orange, additifs alimentaires : (SIN 330 : régulateur d'acidité, SIN(415,466) :



stabilisant, SIN 300 : anti oxydant, SIN (160a, 160a (ii)) : colorant, SIN (414,444,445) : émulsifiant, SIN 900a : anti moussant), cocktail de vitamines (A ,E, B1, B2, B6, C).

Sa valeur nutritionnelle pour 100 ml : glucides : 12,5g, protéines : 0,8g ; lipides : 0,1g. Sa valeur énergétique est de 53 Kcal.

Le jus Mistral orange est un jus produit par l'établissement Hocini Farida (production d'eau minérale et boissons diverses non alcoolisées), sise à la zone d'activité de Draa Ben Khedda, Tizi-Ouzou.

Ce jus contient les ingrédients suivants : eau, sucre, pulpe d'orange naturelle, concentré d'orange, additifs alimentaires : SIN 330 : régulateur d'acidité, SIN 440 : stabilisant, SIN 211 : conservateur, SIN 102 : colorant.



4-Analyses physicochimiques :

4-1 Détermination de pH

Il sert à quantifier la concentration en ions H^+ de jus qui lui confère son caractère acide ou basique. La mesure de pH est réalisée avec un pH – mètre.

4-2 Détermination de l'acidité titrable (AFNOR ,1986)

L'acidité de la boisson est due principalement à l'acide citrique .l'acidité titrable est la somme des acides minéraux et organiques libres.

Principe : Il consiste en un titrage avec une solution NaOH à 0,1N en présence de phénol phtaléine comme indicateur coloré.

Mode opératoire

- Prélever 25ml de l'échantillon préalablement homogénéisé
- Compléter jusqu'au trait de jauge de 250 ml avec l'eau distillée .puis chauffer jusqu'à ébullition.
- Prendre un volume $V_0=25\text{ml}$ auquel on ajoute 0.25à0.5ml de phénophtaléine et tout en agitant.
- verser à l'aide d'une burette la solution NaOH (0.1N) jusqu'à l'obtention d'une coloration rose persistante pendant 30s.
- faire la lecture sur la burette graduée pour avoir le volume de NaOH ayant décoloré la solution.

Expression des résultats

L'acidité titrable est exprimée en milliéquivalent pour 100 ml du produit est donnée par la relation suivante :

$$AT=250 /25\times V_1/10 \times 100/V_0$$

V_0 : est le volume, en ml de la prise d'essai

V_1 : est le volume, en ml de la solution d'hydroxyde de 0.1N

4-3 Détermination de l'extrait sec total

L'extrait sec total est la teneur de toutes les substances présentes dans le produit qui, dans des conditions physiques déterminées, ne se volatilisent pas.

Mode opératoire

- Peser des creusets vides après séchage à l'étuve pendant 15 minutes et refroidir pendant 30 minutes.
- Déposer 5g de l'échantillon, préalablement homogénéiser dans les creusets vides et les introduire dans l'étuve préalablement réglée à 103°C pendant une heure.
- Placer les capsules dans un dessiccateur, puis peser après refroidissement m_2 .

Expression des résultats

$$\text{EST}(\%) = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

EST : taux de l'extrait sec en %

m_0 : masse de creuset vide en g

m_0 : masse de creuset et de l'échantillon avant séchage en g

m_2 : masse de creuset et l'échantillon après séchage en g

4-4 Détermination de l'indice de réfractométrie (Brix)

Il s'agit de déterminer le pourcentage en masse de saccharose d'une solution aqueuse.

Principe

La détermination de l'extrait sec soluble est réalisée à l'aide d'un réfractomètre (AFNOR, 1986). L'indice de réfraction des solutions sucrées est proportionnel à la teneur en sucre. Un Brix correspond à une concentration en « sucre » de 1g pour 100g de solution.

Mode opératoire

- Nettoyer et sécher le prisme en utilisant de l'ED et du tissu doux.
- Appliquer une goutte de l'échantillon à analyser, préalablement homogénéiser sur la surface de prisme, puis rabattre le deuxième prisme sur le premier, ce qui permet d'obtenir une couche uniforme du liquide.

- En orientant le réfractomètre vers une source lumineuse, on verra se dessiner sur l'échelle deux zones différentes en clarté, la limite de séparation entre les deux zones indique la valeur du degré Brix.

4-5 Détermination de taux de cendres

Mode opératoire

L'échantillon de volume 20 ml de jus est déposé sur des capsules de masse m_0 , l'ensemble est déposé à l'aide d'une pince métallique dans un four chauffé à 550° C pendant 5 heures. Placer les capsules dans un dessiccateur, puis peser après refroidissement m_1 .

Expression des résultats

$$\text{Cr(g /l)} = \frac{m_1 - m_0}{V_0}$$

Cr : taux des cendres en (g /l)

m_0 : masse de creuset vide en g

m_1 : masse de creuset et l'échantillon après séchage en g

V_0 : le volume de jus introduit en l.

5- Analyses biochimiques

5-1 Détermination des sucres réducteurs et sucres totaux

❖ Préparation de la solution Fehling

- Faire placer 5ml de Fehling I et 5ml Fehling II dans une fiole jaugée de 100ml
- Ajuster à 100ml avec de l'eau de robinet faire bouillir le mélange pour obtenir la solution de Fehling

❖ Préparation du filtrat I

- Faire mélanger dans une fiole jaugée de 100ml 20ml d'échantillon et 5ml de solution d'acétate de plomb
- Ajuster avec de l'eau distillé jusqu'au trait de jauge et puis filtrer le mélange.

❖ Préparation de filtrat II

- Faire mélanger 50ml du filtrat I et 5ml de HCL concentré
- Incuber le mélange dans un bain marie à 70 C° à 5mn
- Neutraliser par NaOH(10N) jusqu'au virage de la couleur rose

5-1-1 Dosage de sucre réducteur

Mode opératoire

On titre la solution de Fehling par le filtrat I préalablement préparer avec l'ajoute de 2 gouttes de bleu de méthylène comme indicateur colorée jusqu'à l'apparition d'une couleur rouge brique.

Lire le volume (V₁) du filtrat I utilisé dans la titration.

Expression du résultat

$$SR = \frac{240 \times 10}{V(V_1 - 0.05)}$$

V₁ : volume du filtrat I utilisé la titration

V : volume de prise d'essai (20 ml)

5-1-2 Dosage des sucres totaux :**Mode opératoire**

On titre la solution de Fehling de même façon que précédemment par le filtrat **II** jusqu'à l'apparition d'une couleur marron cuivrée.

Lire le volume (V₂) de filtrat **II** utilisé d'un la titration.

Expression des résultats

$$ST = \frac{240 \times 10}{V(V_2 - 0.05)}$$

V₂ : volume du filtrat II utilisé la titration

V : volume de prise d'essai (20 ml)

Calcul de la teneur en saccharose (S)

$$S = (ST - SR) 0.95$$

5-2 Dosage de la vitamine C**Mode opératoire**

Mettre dans un bêcher 50 ml de l'échantillon ; puis ajouter 3 gouttes de d'amidon (indicateur colorée) à 0.5%

Ajouter 3ml d'acide sulfurique

Titrer avec une solution iodée à 0.05N

Durant le dosage, le mélange est maintenu agiter à l'aide de l'agitation magnétique et après l'apparition de la couleur verte on arrête le titrage et on calcule la teneur en vitamine c du jus en (mg /l) selon la formule suivant :

Expression des résultats :

$$\text{Teneur en vit c (mg/l)} = \text{volume titrer d'iode} \times 4.4 \times 20$$

6–Analyses de l’aspartame et du benzoate de sodium dans les jus par HPLC**➤ Appareils**

- Unité de chromatographie (HPLC) avec tous ses accessoires de marque SHIMADZU (LC20)
- Agitateur magnétique type STUART
- Balance de précision de type KERN
- Bain ultrasons de marque Advantage-LAB
- Purificateur d’eau de marque Human power

➤ Réactifs et produits chimiques :

- L’eau ultra pure
- L’acétonitrile grade HPLC
- KH_2PO_4
- H_3PO_4
- Conservateur : Benzoate de sodium
- Edulcorant : Aspartame

6-1 Dosage de l’aspartame dans les jus**➤ Préparation de la phase mobile (les solvants)**

La phase mobile utilisée est un tampon de mélange de deux solvants : (KH_2PO_4 et acétonitrile).

Les deux solvants utilisés sont :

- L’acétonitrile (CH_3CN) : vendu préparé pour la HPLC
- KH_2PO_4 : il est préparé au laboratoire comme suit :
 - Peser 2.72g de KH_2PO_4 en poudre
 - Diluer cette quantité pesée de KH_2PO_4 dans un l d’eau pure, pour avoir une concentration de 20mmol/l
 - Faire l’ajustement de pH de cette solution obtenue avec de KOH ou HCL jusqu’à $\text{pH} = 5 \pm 1$ à fin d’obtenir une phase mobile plus stable pour ne pas réagir avec la phase stationnaire de la colonne ;
 - Introduction des tubes très fins reliés au HPLC dans les flacons contenant chacun l’un des solvants.

➤ Préparation de solution de standard

- Peser 25.20mg de poudre de standards (aspartame)
- Diluer la quantité pesée dans 50ml d'eau pure acidifié par l'acidephosphorique
- Diluer la solution de standard à une concentration voulue pour l'injection (pour l'analyse des édulcorants, la dilution est de 10-1)
- La solution de standard est prête pour l'injection

➤ Préparation de l'échantillon de jus à analysés

- Filtration des jus à analysés
- A l'aide d'une micropipette, prélever un échantillon de 1ml
- Verser les échantillons dans les tubes spécifiques a l'appareil
- Mettre les échantillons dans l'appareil pour le dosage.

➤ Préparation de l'appareil HPLC :**Les conditions chromatographiques :**

- La phase mobile : ACN /KH₂PO₄/l'eau pure
- Détection : UV à 220 nm
- Volume d'injection : 20 µl
- Débit : 1ml / mn
- Température : Ambiante
- La durée d'analyse : 7 min

➤ Calcul des concentrations de l'aspartame dans les échantillons analysés

$$C_{\text{aspartam}} = C_{\text{standard}} \times \frac{(\text{Aire du pic de l'aspartam dans la solution échantillon})}{(\text{Aire du pic de l'aspartam dans la solution standard})}$$

C standard : (prise d'essai en mg / 50) /10

Aire du pic de l'aspartam dans la solution échantillon : 490569

Aire du pic de l'aspartam dans la solution standard : (658931+659482)/2

6-2 Dosage du benzoate de sodium dans les jus

➤ Préparation des solutions

- **Diluant** : ACN/Eau / H₃PO₄
- **Solution standard 0.1mg / l (Teneur cible =DJA=1000 ppm)**
- Dans une fiole de 100 ml peser 42.73mg de benzoate de sodium.
- Dissoudre dans un volume suffisamment de diluant et compléter au trait de jauge avec le même diluant (solution mère)
- Effectuer une dilution 1/10(prélever 5ml de la solution mère dans une fiole de 50ml ; ajuster avec le diluant jusqu'a au trait de jauge (solution fille)
- 1ml de solution fille est placé dans l'appareil

➤ Préparation de la solution échantillon

- Filtration de jus à analyser
- Prélever 5ml de jus à mettre dans une fiole de 50ml
- Ajouter le diluant jusqu'au trait de jauge
- Homogénéiser à l'aide d'une micropipette ; prélever 1 ml échantillon est placé dans l'appareil.

➤ Préparation de l'appareil à HPLC

Les conditions chromatographiques

- La phase mobile : ACN / Eau / H₃PO₄
- Détection : UV à 224nm
- Volume d'injection : 20 μ l
- Débit : 1ml / mn
- Température : Ambiante
- La durée d'analyse : 7 min

➤ Calcul de concentration de benzoate de sodium dans les échantillons analysés

$$C_{\text{Benzoate}} = \frac{P_{\text{std}}}{100} \times \frac{A_{\text{ech}}}{A_{\text{std}}} \text{ mg /ml}$$

C : concentration des Benzoates dans les jus

A_{ech} : Aire de l'échantillon

A_{std} : aire de standard

P_{std} : prise d'essai de standard

Chapitre II

Résultats et discussion

Pour chaque échantillon, nous avons effectué trois essais, nous prenons comme résultat la moyenne et l'écart- type.

1- Résultats d'analyse des paramètres physico-chimiques :

1-1- pH

Les valeurs du pH des trois marques du jus sont représentées dans la figure 5.

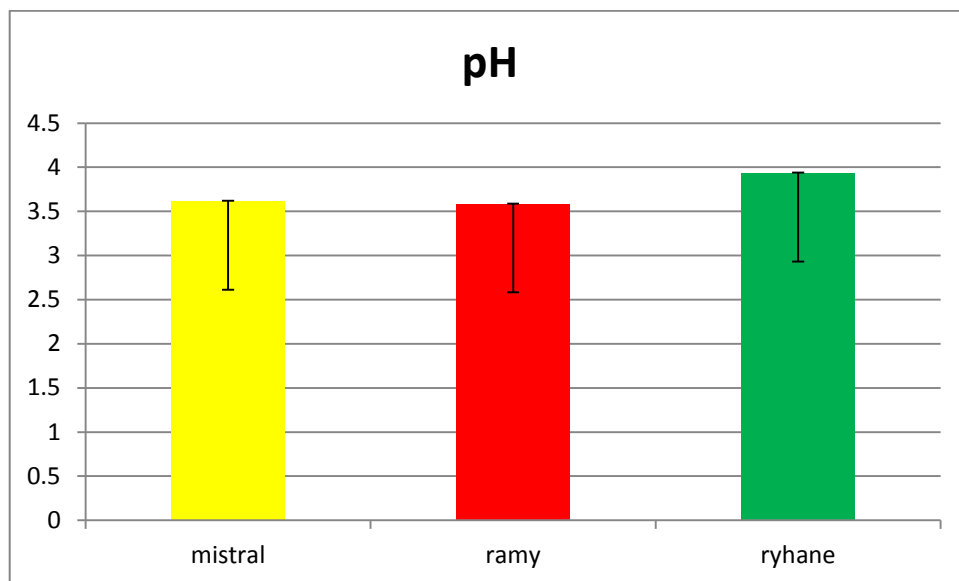


Figure 5 : histogramme représentant la valeur moyenne du PH des trois marques de jus.

Les valeurs du pH des jus sont inférieures à 4.5, qui sont des valeurs recommandées pour un jus d'orange selon **CHEFTEL (1977)** les valeurs du pH doivent être comprises entre 3.5 et 4.5 ; Ramy est le jus le plus acide par rapport au jus Mistral et Ryhane donc Ramy conserve mieux la vitamine C selon **TREMOLIERE et al (1984)**.

La détermination du pH des denrées est très importante car il influence directement la conservabilité et les caractéristiques organoleptiques de celle-ci (**CLINQUART, 1999**).

Un pH acide permet de limiter les dégâts dus à l'oxydation de l'acide ascorbique, ce dernier se conserve mieux dans les aliments acides tant dis qu'un milieu basique accélère la perte de cette vitamine.

1-2- Acidité titrable

Les teneurs de l'acidité titrable des trois marques du jus obtenues sont représentées dans la figure 6.

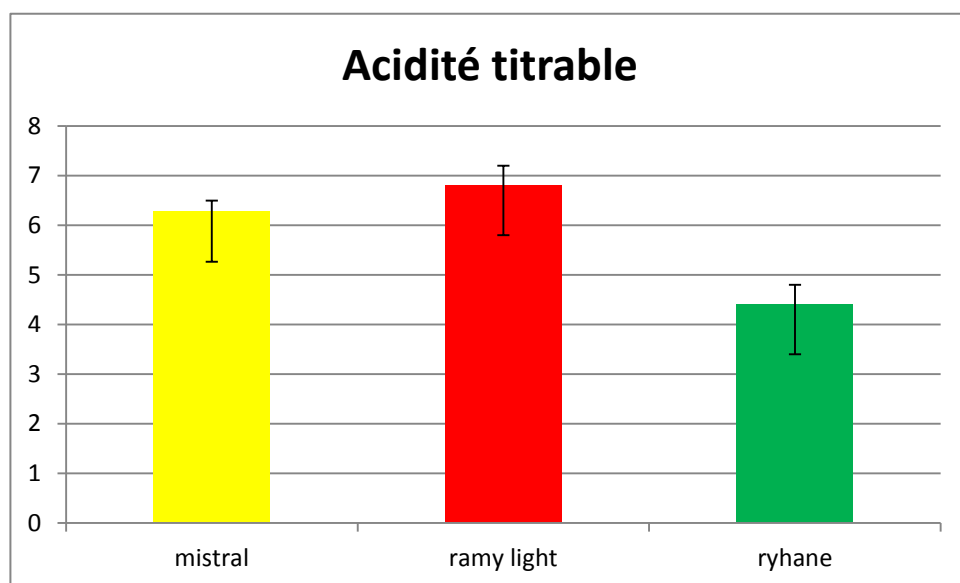


Figure 6 : histogramme représentant la valeur moyenne de l'acidité titrable des trois marques du jus.

Les valeurs de l'acidité titrable exprimée en citrique de la boisson ; Ramy et Mistrale sont supérieures à 6 g/l donc ces résultats sont conformes à la norme AFNOR (1986). Alors que la boisson Ryhane est inférieure par rapport à la norme.

L'acidité dans les jus d'orange est due selon **KAANANE et al (1998)** à l'acide citrique présent avec une proportion de 95% et à l'acide malique avec une proportion de 5%

D'après **TREMOLIERES et al(1984)** l'acidité dans les jus d'orange constitue un facteur décisif pour la protection de la vitamine C quelles que soient les conditions du stockage.

L'acidité entraîne une stabilité organoleptique (couleur, saveur et le goût). Elle permet de préserver aussi la qualité microbiologique de la boisson.

L'acidité totale permet de préserver la qualité microbiologique du produit, elle permet également des durées de conservation plus longues et elle favorise la rétention de la vitamine C, elle entraîne aussi une stabilité organoleptique (couleur, saveur, goût...) (**FRANCOIS S.G, 1994**).

Elle donne à la boisson sa qualité désaltérante. L'action surtout apéritive, et elle stimule la sécrétion de la salive, des sucs gustatifs et intestinaux (**CACHOT, 1955**).

Les acides organiques de la boisson lui communiquent ses propriétés désaltérantes, apéritives et même bactéricides. la connaissance de ce paramètre est d'un grand intérêt hygiénique (**GACHOT, 1954**).

D'après **ADRIAN et al (1995)**, acides organique (essentiellement malique, citrique, et tartrique) appartiennent à une catégorie de substances appelées « acidulant » qui sont destinés à acidifier une denrée, soit pour augmenter la stabilité, soit modifier le goût.

1-3- Extrait sec total

Les teneurs en extrait sec total obtenues dans les trois marques du jus sont représentées dans la figure 7.

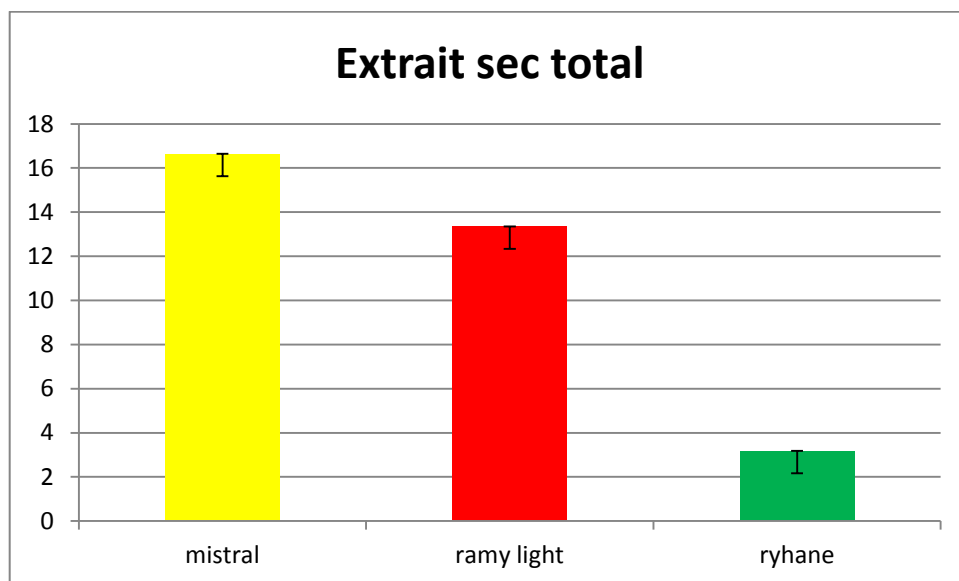


Figure 7: histogramme représentant la valeur moyenne du l'extrait sec total des trois marques du jus.

Extrait sec total ou la matière sèche totale représente l'ensemble des substances dissoutes ; ce critère est important pour juger les valeurs alimentaire totale des boissons **BENAMARA et AGOUGOU (2003)**.

Les valeurs du l'EST du jus Ramy et Mistral ne sont pas conformes à la norme AFNOR qui est dont la limite est de 10.5g/100g alors que le jus Ryhane qui a une valeur de 3.16% est pratiquement conforme à la norme AFNOR.

1-4- Brix

Les valeurs de l'extrait sec soluble des trois marques du jus sont représentées dans la figure 8.

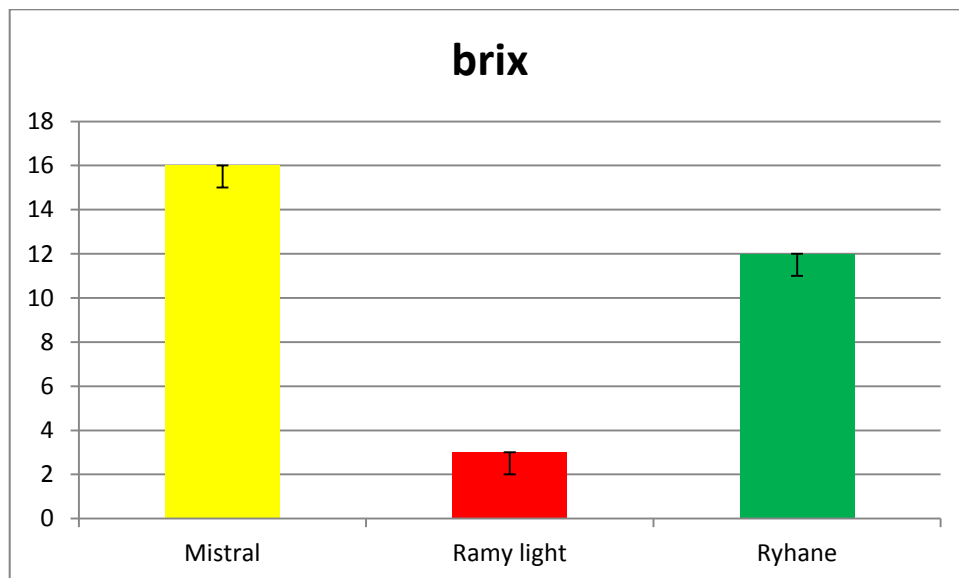


Figure 8: histogramme représentant la valeur moyenne de brix des trois marques du jus.

D'après ces résultats le degré du Brix dans le jus Ryhane est conforme aux normes AFNOR qui varient entre 12° et 14° ; alors que Mistral est supérieur à 14° donc il n'est pas conforme à la norme AFNOR ; le jus Ramy light est trop inférieur à la norme, ce qui explique que la teneur en saccharose est trop diminuée dans le jus light ; cette teneur est naturellement présente dans le fruit (sans sucre ajouté) alors que le goût sucré de cette boisson est dû à l'ajout des édulcorants (ex : aspartame) qui ont un pouvoir sucrant proche de celui de saccharose et qui sont employés comme édulcorants de table.

Le degré de Brix représente, le paramètre le plus important dans la définition des critères de qualité.

Le paramètre le plus important qui peut influencer le degré de Brix et la température car lorsque celle-ci diminue le degré de Brix augmente.

L'indice réfractométrique des jus permet d'évaluer rapidement leur concentration en sucres solubles. Il mesure en effet la fraction de matière sèche soluble majoritairement composée de ces sucres solubles (TRAVERS, 2004).

Les jus ayant une valeur de Brix de plus de 20°B, sont généralement considérés comme étant des concentrés (ANONYME4, 2002).

1-5- Cendres

Les teneurs moyennes en cendres des trois marques du jus sont présentées dans la figure 9.

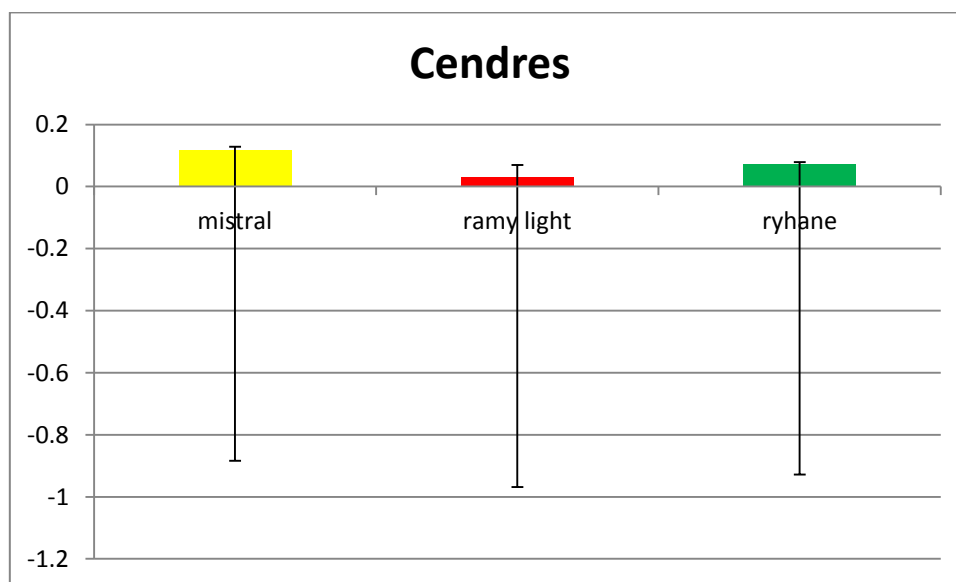


Figure 9: histogramme représentant la teneur moyenne des cendres des trois marques du jus.

Au regard de l'histogramme, on constate que les teneurs en cendres se rapprochent sensiblement pour le Mistral 0.11g/l, Ramy de 0.08g/l ; Ryhane de 0.07 g/l qui sont des valeurs non conformes aux normes indiquée par AFNOR(1986) qui varie entre (2.8-5 g/l).

Les cendres des jus de fruit (orange) sauf pour le raisin renferment 40 à 50% de potassium ; ce dernier en effet présente un intérêt particulier car il n'est apporté ni par le sucre, ni par l'acide citrique, ni par l'eau de dilution.

Les cendres sont des résidus issus de l'incinération de la matière organique. **(MULTON et al., 1991).**

A l'échelle industrielle le taux de cendre permet de détecter s'il y a une dilution d'un jus de fruit ou une surdilution à base de concentré **(AFNOR, 1996).**

2-Résultats des analyses biochimiques

2-1- Sucres réducteurs

Les teneurs moyennes des sucres réducteurs des trois marques du jus sont présentées dans la figure 10.

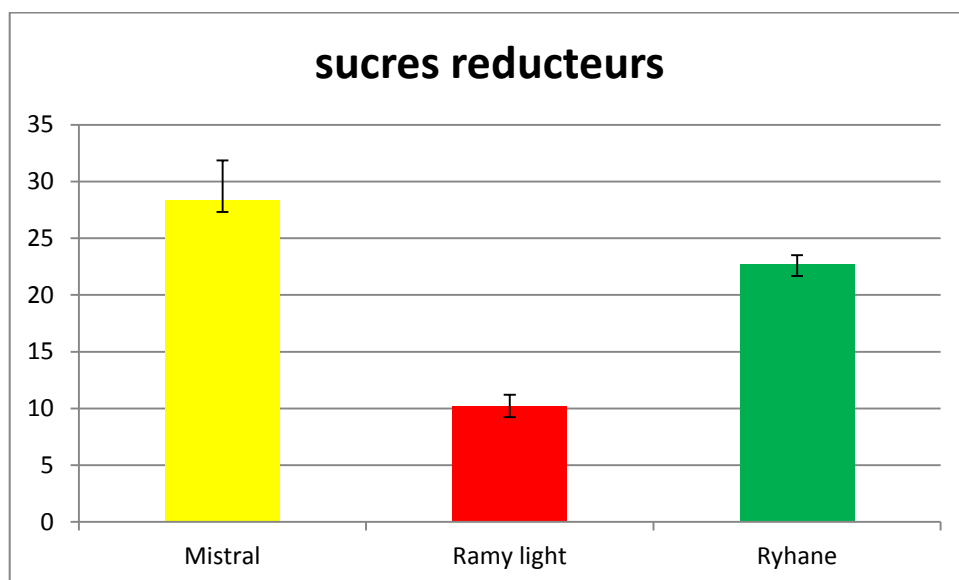


Figure 10 : histogramme représentant la valeur moyenne des sucres réducteurs des trois marques du jus.

Les teneurs en sucre réducteurs du jus Mistral et Ryhane sont conformes à la norme AFNOR (1987) qui varie entre 20 et 50g/l, ce qui est de la température basse et ambiante qui permet de stabiliser le saccharose dans la boisson. Le jus Ramy light à une teneur en sucre réducteur très faible, elle est de 10.22g/l ; ce qui explique que les sucres réducteurs ne sont pas ajoutés à cette boisson, peut-être ils sont remplacés par des édulcorants qui ont un pouvoir sucrant voisin de celui du sucre de table.

D'après **AZZOUZ et NEGHNAGH (1996)**, l'augmentation des sucres réducteurs est due à l'hydrolyse des sucres totaux catalysée par les acides organiques et la chaleur.

2-2-Sucres totaux

Les teneurs moyennes en sucres totaux des trois marques du jus sont présentées dans la figure 11.

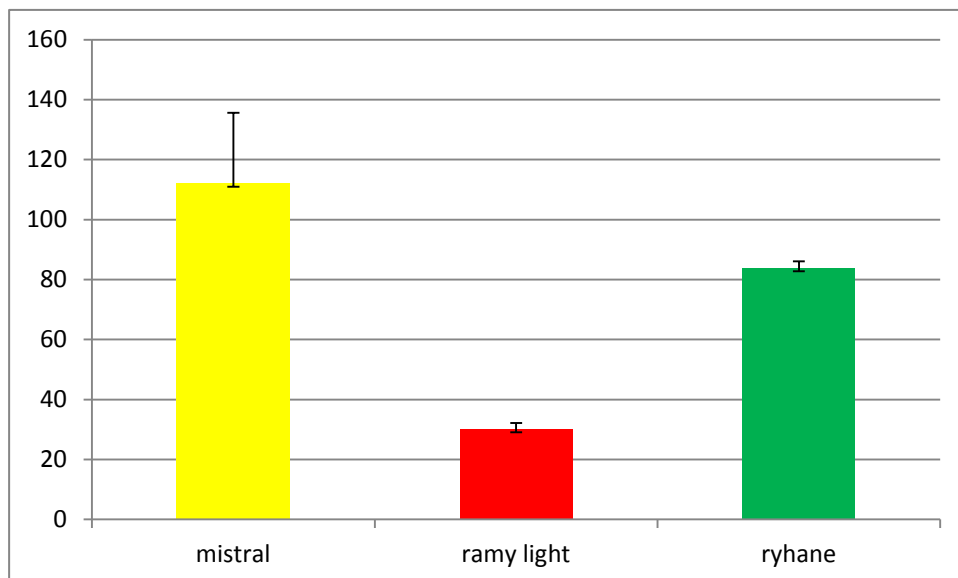


Figure 11: histogramme représentant la valeur moyenne des sucres totaux dans trois marques du jus d'orange.

Les résultats de la boisson Mistral est conforme aux normes AFNOR (1986) qui est supérieur à 110g/l alors que la valeur de Ryhane est inférieur à la norme ; et la boisson Ramy light est trop inférieur à la norme ceci s'explique par le fait que les sucres de table ne sont pas ajoutée à ce jus , elle sont remplacée par les édulcorants (aspartame) pour donner un goût sucré au jus . Les sucres totaux restent stables dans les jus d'orange pendant un mois de stockage dans des conditions ambiantes.

La diminution des sucres totaux peut être due à l'augmentation de la durée du stockage, cette légère diminution pourrait être due à la participation des sucres totaux dans le brunissement non enzymatique (BNE).

2-2- Saccharose

Les teneurs moyennes en saccharose des trois marques du jus sont représentées dans la figure12.

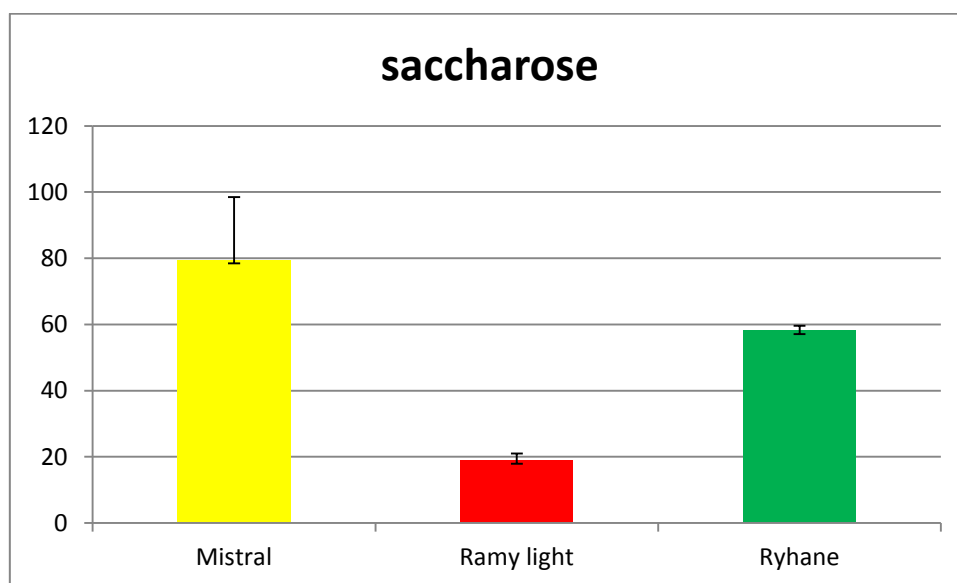


Figure 12 : histogramme représentant la valeur moyenne de saccharose dans trois marques du jus d'orange.

La teneur en saccharose est très importante dans le jus Mistral et Ryhane, elle atteint 79.47g/l dans le jus Mistral et 58.05g/l dans le jus Ryhane cette augmentation peut être due au fait que l'orange est riche en sucre ou peut être expliqué par l'ajout d'une quantité élevée du sucres de table dans les jus, cela aussi se confirme avec l'augmentation des sucres totaux.

Dans le jus Ramy light la teneur en saccharose est de 18.88g/l cette teneur est peut être présentée dans le fruit (l'orange), car les sucres de tables ne sont pas ajoutés au jus light (0% sucre ajouté) sont remplacés par les édulcorants (aspartame) pour donner un goût sucré au jus.

Les glucides sont les plus importantes sources d'énergie alimentaire .ils compte pour quelques 40à80% de l'apport total d'énergie (**ALISON ,1997**).

L'expérience de **SHALLE et al (1988)** ont montré qu'un stockage à 30 °C du jus d'orange pendant 6 mois cause l'hydrolyse de plus de 50% de saccharose.

En effet **ARZAT, (2005)** explique que l'inversion de sucre a lieu à des températures élevées (>25°C). Cette décomposition fait augmenter le goût sucré de la boisson et la couleur jaune soleil. Ces résultats restent supérieurs à ceux dictés par **AFNOR, (1987)** ceci peut arriver quand les fruits sont très mûrs.

2-4-Vitamine C

Les teneurs moyennes en vitamine C des trois marques du jus sont présentées dans la figure13.

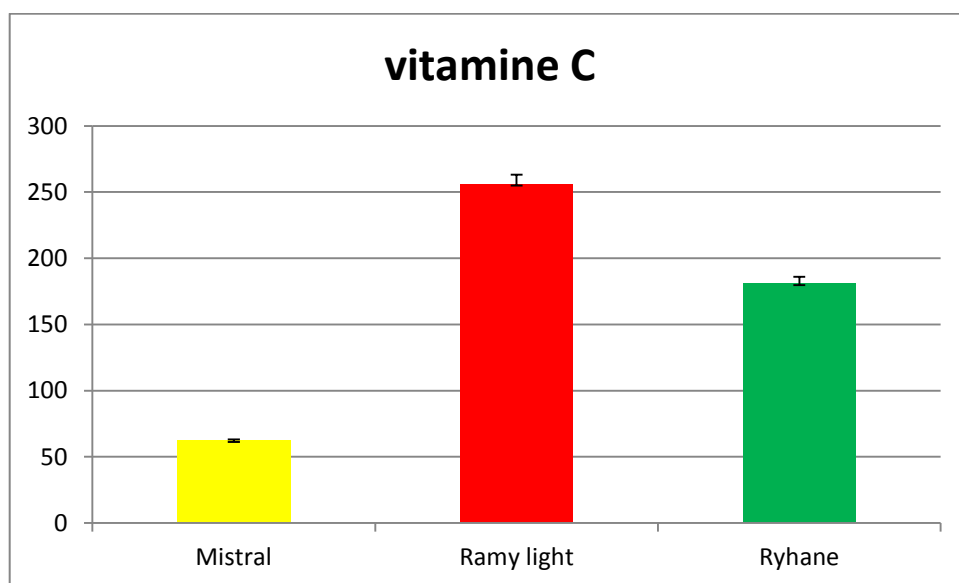


Figure 13 : histogramme représentant la valeur moyenne en vitamine C des trois marques du jus d'orange.

Au regard de l'histogramme, on constate que la teneur en vitamine C dans le jus Ramy light est de 256mg/l qui est une valeur conforme à la norme indiquée par AFNOR (≥ 200 mg/l). Par contre dans le jus Mistral, on constate que la quantité de la vitamine C est trop inférieure à la norme AFNOR, elle est de 62.13mg/l, et la quantité de la vitamine C dans le jus Ryhane est aussi inférieure à la norme AFNOR, ceci peut être dû à la dégradation de la vitamine C par l'air, la lumière et la chaleur.

La vitamine C est capitale pour l'organisme (**VALNET, 1985**), car elle contribue au maintien de la fonction immunitaire, participe à la fonction des globules rouges et augmente l'absorption du fer contenu dans les végétaux. Elle a un effet antioxydant qui protège les cellules contre les dommages infligés par les radicaux. Dans les aliments, elle est la plus fragile des vitamines : elle peut être détruite par l'air, la lumière et la chaleur (**RUBY ET al., 2007**).

Selon **SISER et al, (1988)**, la dégradation de la vitamine C pourrait être causée par la transmission d'une certaine quantité d'oxygène et de la lumière à travers l'emballage. En effet la quantité transmise augmente avec la température.

La dégradation de la vitamine C dans le jus d'orange provoque une perte de la qualité nutritionnelle, mais aussi l'apparition de composés volatils odorants à impact négatif et formation de composés bruns responsable d'une modification de la couleur. Lors de sa dégradation dans le jus, la vitamine C peut donner naissance à différentes formes de réductions qui sont des intermédiaires dans la réaction de Millard et participent à la réaction du brunissement non enzymatique (**BERLINET, 2006**).

3-Résultats d'analyses des jus par HPLC

3-1-Résultats du dosage de l'aspartame

Résultat de dosage de standard de l'aspartame est représenté dans la figure 14.

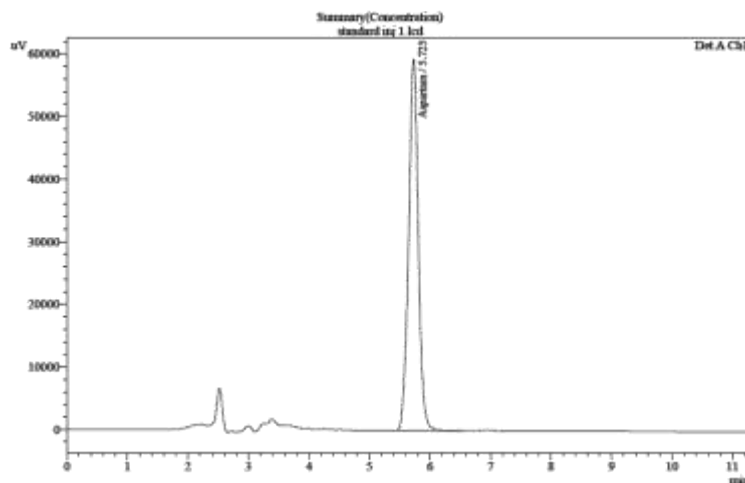


Figure 14: chromatogramme de standard d'aspartame

Résultats de dosage de l'aspartame dans les trois marques du jus sont représentés dans les figures 15, 16 et 17.

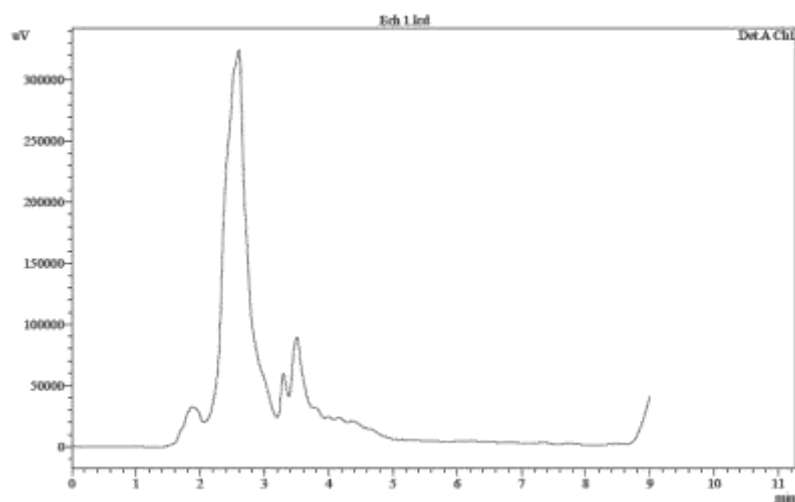


Figure 15: chromatogramme de jus Ryhane

✓ Résultat de dosage de jus Mistral

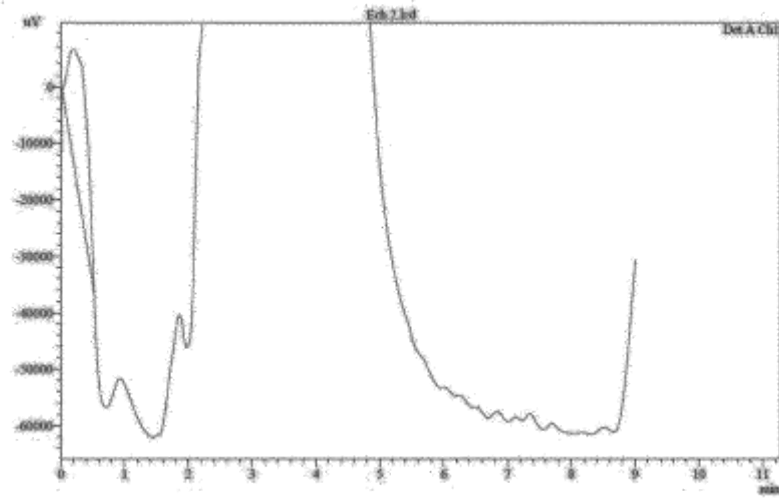


Figure 16 :chromatogramme de jus Mistral

✓ Résultat de dosage de jus Ramy light

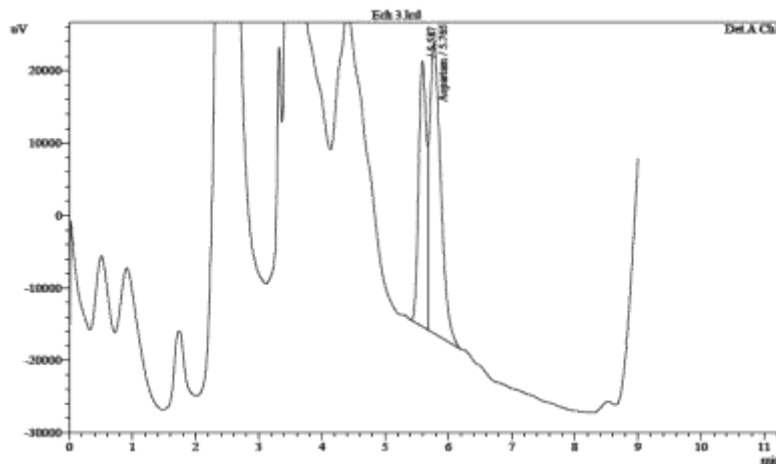


Figure 17 :chromatogramme de jus Ramy light

$$C \text{ Aspartame} = 0.0504 \times 490569 / (1318413/2)$$

$$= 0.037 \text{ mg/ml} \quad \Longrightarrow \quad 0.037 \times 1000 = 37 \text{ ppm}$$

Les résultats du dosage de l'aspartame dans les deux jus non light Ryhane(échantillon1) et Mistral(échantillon2) il ya l'absence de l'aspartame donc absence du pic d'aspartame sur le chromatogramme échantillon.

Pour le jus Ramy light (échantillon 3), il ya effectivement présence d'aspartame (présence du pic), le pic est scindé soit à cause d'une interférence probable ou à cause d'une perte d'efficacité de la colonne chromatographique .la concentration de l'aspartame est de 37mg/l qui est une valeur correspond à la réglementation (les doses maximales d'emploi 600mg/l).

A la température ambiante la solubilité et la stabilité de l'aspartame sont optimale entre un pH 3.5 et 5, a pH inférieur, il est hydrolysé et a pH supérieur, il se produit une cyclisation en dicétopépirazine. Dans ces conditions, ces modifications entraînent une perte de pouvoir sucrant **(SCF, 2002)**.

Les agents édulcorants à haut pouvoir sucrant « édulcorants intenses » dont l'emploi visera à conférer une saveur sucrée suffisante à des produits pour lesquels on ne veut employer les précédents, de façon à réduire considérablement l'apport calorique, tout au moins à en éliminer les calories d'origine glucidique. Ces édulcorants intenses (ex : aspartame) ne seront utilisés qu'en charge pondérale infime dans les produits fini **(DRACHE ,1989)**.

Leur structure chimique est généralement d'une nature totalement étrangère aux métabolites normaux de l'organisme humain **(BUSIERE, 1984)**.

Dans de mauvaises conditions de stockage des boissons édulcorées à l'aspartame, le pouvoir sucré diminuait très rapidement. Relativement instable en solution, l'aspartame se décompose en donnant naissance à un dipeptide :aspartylphénylalanine et en dicétopipérazine dénoué de pouvoir sucrant **(MOLL, 1998)**.

3-2 Résultats du dosage de l'acide benzoïque :

Les résultats du dosage du benzoate de sodium dans les jus d'orange analysé par chromatographie liquide haute performance sont consignés dans les tableaux suivants :

Tableau 8: Résultat de dosage de standard de benzoate de sodium

Echantillon	Temps de rétention (min)	Aire de pic (μv.min)	RCD %
Standard de benzoate de sodium	6,091	3257270	105,759

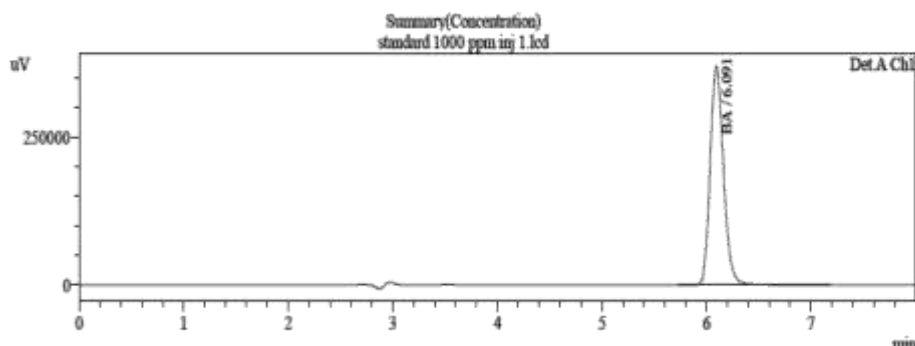


Figure 18: chromatogramme de standard de benzoate de sodium

Tableau 9: Résultats du dosage de benzoate du sodium dans le jus mistral

Echantillon	Temps de rétention (min)	Aire de pic (μv.min)	RCD %
Jus Mistral	6,200	144762	105,759

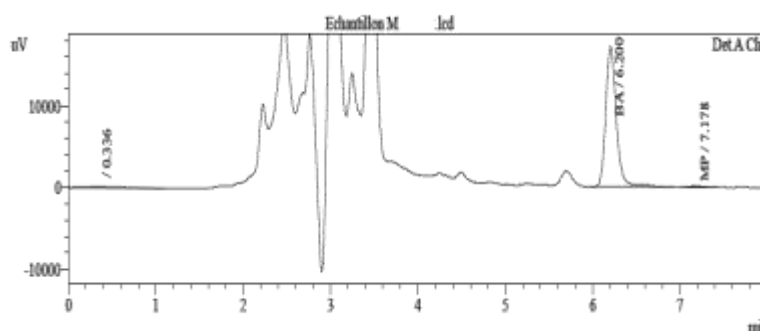


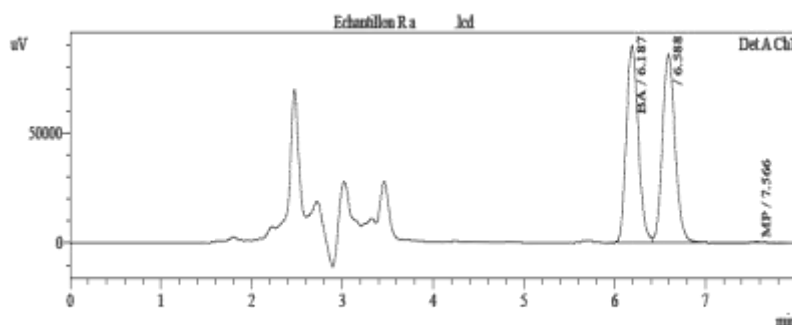
Figure 19 : chromatogramme de jus Mistral

$$C_M = 42.73 / 100 * 144762 / 3257270$$

$$= 0.0189 \text{ mg/ml} \implies 0.0189 * 1000 = 18.99 \text{ ppm}$$

Tableau 10 : Résultats de dosage de benzoate du sodium dans le jus Ramy light

Echantillon	Temps de rétention (min)	Aire de pic (μv.min)	RCD %
Jus Ramy light	6,187	606443	105,759

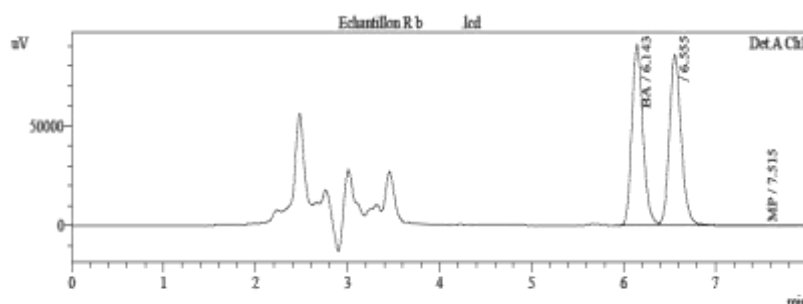
**Figure 20:**chromatogramme de jus Ramy light.

$$C_{RL} = 42.73/100 * 606443/3257270$$

$$= 0.0795 \text{ mg/ml} \quad \Longrightarrow \quad 0.0795 * 1000 = 79.55 \text{ ppm}$$

Tableau 11: Résultats de dosage de benzoate du sodium dans le jus Ryhane.

Echantillon	Temps de rétention (min)	Aire de pic (μv.min)	RCD %
Jus Ryhane	6,143	825980	105,759

**Figure 21:**chromatogramme de jus Ryhane

$$C_{RY} = 42.73/100 * 825980/325770$$

$$= 0.10835 \text{ mg/ml} \quad \Longrightarrow \quad 0.10835 * 1000 = 108.35 \text{ ppm}$$

D'après le codex alimentarius (codex- STAN 192-1995) relatif aux conditions d'utilisation des conservateurs dans les denrées alimentaires, les doses maximales d'utilisations de benzoate de sodium dans le jus d'orange est de 1000ppm. Donc nous pouvons dire que les teneurs obtenues dans les jus analysés sont conformes aux normes de codex, mais les unités de jus Ramy light et Ryhane n'ont pas mentionnées la présence de benzoate du sodium sur l'emballage.

Les concentrations enregistrées sont même très inférieures (18.99-108.35ppm) aux normes du codex. Ceci peut être expliqué par le fait que :

- Les unités de production des jus d'orange n'utilisent pas uniquement les benzoates de sodium comme seul conservateur.
- L'acide benzoïque et ces sels(les benzoates) sont très dangereux. Ils sont même listés « possiblement cancérigènes » par l'Association pour la Recherche Thérapeutique Anticancéreuse (ARTAC, France).
- Le benzoate de sodium contrairement aux autres conservateurs est un produit très couteux, ce qui pousse les entreprises à utiliser en faible quantités.

Les benzoates de sodium agissent contre les moisissures et les bactéries. Ils ont été testés comme agent antibotuliniques et pourraient donc être utilisé comme tels.

Chez certaines personnes souffrant d'asthme ou d'urticaire récurrente, ou qui supportent mal l'aspirine, ils peuvent provoquer des allergies. Il est donc recommandé de ne pas les utiliser qu'en petite quantité et dans les aliments de consommation limitée (**MOLL, 1998**).

Conclusion

Dans notre étude nous avons suivi la qualité physico-chimique et la présence de l'aspartame (édulcorant) et benzoate de sodium (conservateur) dans trois marques du jus d'orange Ramy light, Mistral et Ryhane.

L'ensemble des analyses physico-chimiques effectuées sur les jus, montre la non-conformité aux normes AFNOR c'est-à-dire quelles ont une qualité physico-chimique non acceptable. Cependant le jus Ramy light a une qualité physico-chimique acceptable.

Nous avons procédé au dosage d'un conservateur organique notamment le benzoate de sodium et d'un édulcorant notamment l'aspartame dans certain marques du jus d'orange, on a utilisé une technique d'analyse instrumentale des plus performante dit « la chromatographie liquide à haute pression ».

Le dosage du benzoate de sodium a révélé des résultats conformes aux normes requises et même très inférieure aux limites autorisées par le codex alimentarius, elles sont comprises entre 18.99-108.35ppm.

La stabilisation des aliments par inhibition de la croissance de leur flore microbienne au moyen d'additifs conservateurs s'inscrit le plus souvent dans le cadre plus large d'un procédé de conservation faisant intervenir d'autres facteurs.

Les conservateurs sont non seulement utilisés en mélange mais aussi en complémentarité avec des agents physiques comme la chaleur ou le froid pour les synergies les plus fréquemment utilisées (**MULTON ,2002**).

D'après les résultats obtenus dans le dosage de l'aspartame, nous avons constaté que le jus d'orange Ramy light est édulcoré d'aspartame 37mg /l ce résultat est conforme aux normes AFNOR (la dose maximal d'emploi 600mg/l).

Les additifs ne sont qu'un élément de l'alimentation, ils sont un moyen contrôlable et contrôlé de la qualité et de la disponibilité alimentaire. Leur emploi dans l'avenir sera lié aux contraintes technologiques et aux exigences des consommateurs.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

ADRIAN J., POTUS G., FRAGNIER R. (1995). La science Alimentaire de A à Z
Ed.Technique et Documentation. Paris.

AFNOR, (1996). Jus de fruits et légumes : spécification et méthodes d'analyse.2ème édition.
Tour Europe-92049 Paris la Défense Cedex. ISBN 2-12-197621-3.155p

AFNOR, Association Française de Normalisation AFNOR. (1986). Produits Dérivés des
Fruits et Légumes. Jus de Fruit.

ALISON S. (1997).Institut canadien du sucre. Les glucides en nutrition humaine : Un
sommaire du rapport de la réunion d'experts FAO/OMS, (<http://www.sugar.com>).

ANONYME , (1998).Book, l'orange, édition production pyramide.

ANONYME, (2002).Classement des jus concentré sous la position 20.09. (Agence des
services frontaliers du Canada).MémoireD10-14-4. Ottawa, le 30 août 2002.

APRIFEL, (2007). L'orange, agence pour la recherche et l'information des fruits et légumes
sur le site : [http :l /www.Aprifle.com/html](http://www.Aprifle.com/html).

ARZATE, (2005).Extraction et raffinage du sucre de canne, Centre de recherche de
développement et de transfert technologique en acériculture Québec : 31.

BAKIRI S. et M'ZALI M. (2013). Toxicité des additifs alimentaires. En vue de
l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie spécialisée en institut de médecine et
pharmacie (UMMTO), Tizi- Ouzou.

BENAMARA S et AGOUGOU A (2003).Production des jus alimentaires, P18-23-24-121.
Office des Publication universitaires. Edition : 2.01.1480.

BENREGUIA S, (2011).Rebond de la production d'agrumes à plus de 11millions de
quintaux en 2011.LA TRIBUNE (quotidien National d'information).

BENZOHRA B., 1994 : Elément d'une stratégie pour le développement de la filière sucre en
Algérie. INA.ELHARACH : 231-262.

BETON J C et BROCHARD G., (1993).L'aventure de l'orange. Ed DENOEL

BRANEN A.L (2002). Food additives. University of Idaho, Mosco.

BRAT P. et CUQ B. (2008).Transformation et conservation des fruits in « Agroalimentaire ».Edition technique de l'ingénieur. Paris.

BUSSIERE G. (1984). Additifs et auxiliaires de fabrication dans les Industries agro-alimentaire, p.263, Editeur : Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.

CE, (2006). Comité Européen « Directive 2001/52/CE modifiant la directive 95/31/CE établissant des critères de pureté spécifiques pour les édulcorants pouvant être utilisés dans les denrées alimentaires », dans Journal officiel de l'Union européenne, no L 190, 2001, pp : 18-20.

CHEFTEL J-C. &CHEFTEL H. (1977). Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Volume2. Technique et documentation. Paris.

CHEFTEL J-C., CHEFTEL H. et BESANCON P. (1977). Introduction à la Biochimie et à la Technologie des Aliments. Volume 2, Ed. Tec et Doc, Lavoisier.

CHIRCHESTERF D et TANNER F (2013). Antimicrobial food additives. Ed. T.E.FURIA, CRC Press.

CLEMENT J-M. (1978). Dictionnaire des industries alimentaires. Edition Masson.Paris.

CLINQUART A (1999).Les Techniques de conservation des aliments, université de Liège, faculté de Médecine Vétérinaire(ULG).

Codex Alimentarius. (1995). Norme générale codex relative pour l'utilisation des conservateurs alimentaires dans les denrées alimentaires. Codex Stan (192-1995).

DAVIES F.S et ALBRIGOL G (199).Fruit quality, harvesting and postharvest technology. In Citrus.Atherton J., Rees, A., Eds. Crop Production Science in Horticulture. CAB International.

DE REYNAM B. Et MULTONJ.F. (2011). Additifs Alimentaire et Auxiliaires de Fabrication dans les Industries Agro- alimentaire. Ed .Tec & Doc, (4^{ème}ed). Lavoisier, Paris, p 165.

DERACHE R. (1989). Toxicologie & Sécurité Des Aliments, Ed. Tec et Doc, Lavoisier. Paris.

ESPIARD E. (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. Paris.

FREDOT E. (2005). Connaissance des aliments : Bases alimentaires et Nutritionnelles De la Diététique., Ed. Tec et Doc Lavoisier. Paris.

GACHOT H. (1955). Manuel des jus de fruits. Edition PH Heitz. Strasbourg. Edition, Fédération des gouverneurs, Canada.

GAIANI C. (2008). Les additifs alimentaires : le meilleur et le pire. (Web 04.univ-lorraine.fr/ENSAIA/marie/Web/ntic/pages/2008/poster 08.

HENDRIX C. REDD J. B. (1995). Chemistry and Technology of Citrus Juices and By-Products. In : Ashurst, P.R. (Ed.) 1995. Production and Packaging of Non- Carbonated Juices and Fruit Beverages. Blackie Academic & Professional, p : 53-87.

HUET R. (1991). les huiles essentielles d'agrumes. D-Technologie d'extraction. Fruit, 46, 551-564..in theses doctorat présentée par Cécilia BERLINET le 13 avril 2006, étude de l'influence de l'emballage et de la matrice sur la qualité du jus d'orange, (ENSIA). Département de Science des Aliments et de Nutrition Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation Université Laval.

HULME A.C (1971). The biochemistry of fruits and their products .Vol. 1 et 2, édition academic Press, London and New York -1971. Antioxydants des fruits et des légumes. Effets santé et effets des traitements technologiques.

KAANANE A., KANE D et LABUZAT.P. (1998). Time and temperature effect on stability of Moroccan processed orange juice during storage. Journal of Food Science, 53 (5), 1470-1473.

LEE H.S et NAGY S. (1988). Quality changes and non-enzymatic browning intermediates in grapefruit juice during storage. Journal of food science, 53(1).

MARTIN A. (2001). « Les risques alimentaires ». Dossiers d'enseignements. Cahier de nutrition et diététique.

MENDOZA A., (2008). Les édulcorants intenses.

- MOHAMED H., ABD EL –WAHAB F., SALAH MARAM G. (2012).** « Toxicology and Industial Health », Toxic effects of some synthetic food colorants and /or flavor additives.
- MOLL N et MOLL M. (1990).** Addition alimentaire et auxiliaires technologiques. Chimie et Santé. Masson, Paris.
- MOLL N et MOLL M. (1998).** Addition alimentaire et auxiliaires technologiques. Agro-alimentaire. 2^{ème} Ed DUNOD, Paris.
- MONTIGAUD J-C. ; ALBAGNAC G. et VAROQUAUX P. (2002).** Technologie de Transformation des fruits. Tee et Doc, Lavoisier.
- MULTON J. L. (2009).** Additifs et Auxiliaires de Fabrication dans les IAA. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- MULTONJ-L (1992).** Additifs et Auxiliaires de Fabrication dans les IAA.Ed. Tec et Doc. Lavoisier, Paris.
- MULTONJ-L (2002).** Additifs et auxiliaires et fabrication dans les industries agroalimentaires. Edition Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
- NORDMANN M, RABIERE C., (1992).** L'aspartame ; in « le sucre, les sucrés, les édulcorants et les glucides de charge dans les IAA ».Ed Technique et Documentation, Lavoisier, Paris : pp : 471-475.
- PASCAL G., (2008).**L'aspartame tueur silencieux ou édulcorants alimentaire sans risque.
- RAYMOND L. (1989).** Les agrumes, vol I, Arboriculture, Edition scientifique universitaire.
- RIBIERE C., 2002 :** édulcorant intenses ; in « Additifs et auxiliaires de fabrication dans les IAA ». Ed Technique et Documentation, Lavoisier, paris : 327-353.
- RUBY F. and DIONNEJ.Y. (2007).** Produits de santé naturels. Vitamine C. (passeport santé .Net).1p
- SCF., (2002).** « Revised opinion on cyclamic acid and its sodium and calcium salts-SCF/CS/EDUL/192 final ».

SINE J-P (2008). Module de Biochimie Analytique et de Biologie Moléculaire pour les Biotechnologies (S4B0600) : Parcours Biochimie- Biologie Moléculaire, Biochimie Analytique « Travaux dirigés », p107.

TRAVERS I. (2004).Influence des conditions pédoclimatiques du terroir sur le comportement du pommier et la composition des pommes à cidre dans le Pays d'Auge. Thèse de Doctorat. Université de Caen. Basse-Normandie.124p.

TREMOLIERES J., SERVILLE Y., JACQUOT R. et DUPIN H. (1984).Manuel d'alimentation Humaine : Les Aliments. Tome 2.9^{ème} Ed les Editions E.S.F.Paris.

TRIZZANI., (2004). Edulcorants intenses de synthèse : Aspartame.

VALNET J. (1985).Traitement des maladies par les légumes, les fruits et les céréales.9^{ème} édition. Paris : Maloine S.A. ISBN 2-224-01101-06.509p.

VIERLING E. (2005). Aliments et Boissons : Technologie et aspect réglementaire. Doen, 3^{ème} Ed., ScérénCrdp Aquitaine, France.

VIERLING E., (2008). Aliments et boissons : technique et aspect réglementaire.3eme Ed Doin éditeurs : p.77- 187-193.

VIERLING E. (2003). Aliments et boissons. Tome II. Filière et produits.2^{ème}Ed Dion éditeurs : 232-236

WOH (World Health Organization). (2012). « General Principales Governing the Use of Food Additives », series N°129.

Annexes

Annexe I

Matériels, réactifs et produits utilisés pour l'analyse physico-chimique :

Matériels	Produits et Réactifs
- Becher - Fiole jaugée - Picette - Burette graduée - Eprouvette graduée - pipettes - Papier filtre - Plaque chauffante - pH -mètre - Balance de précision - Réfractomètre - Etuve - Creusets - Agitateur magnétique et barreau magnétique - Papier aluminium	- Eau distillée - Phénolphtaléine - Hydroxyde de sodium - Solution Fehling I et Fehling II - Acide sulfurique - Acide acétique 1N - Acétate de plomb - Bleu de méthylène - HCL concentré - Solution d'iode 0.05N - L'amidon

Annexe II

Matériels, réactifs et produits utilisé pour le CLHP

Matériels	Produits et Réactifs
- L'appareil de CLHP - Micropipette - Homogénéisateur - Fioles de 50 ml - Balance analytique	- Acétonitrile (CH_3CN) - L'eau pure - Dihydrogéoorthophosphate de potassium (KH_2PO_4) - Les standards (aspartame et l'acide benzoïque) en poudre - L'acide phosphorique

Annexe III

Composition des réactifs

a) Fehling I

Sulfate de sodium ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 4g

L'eau distillée 100ml

b) Fehling II

Tartrate de Ket de Na 20g

Hydroxyde de sodium (NaOH) 15g

L'eau distillée 100ml

C) solution de phénophtaléine (0,1%)

Phénophtaléine 0,1g

Ethanol 50 ml

c) Solution de la soude (NaOH) à 10N

Soude	40g
Eau distillée	100 ml

d) Solution de la soude (NaOH) à 0,1N

Soude	4g
Eau distillée	1000 ml

e) Solution de bleu de méthylène

Bleu de méthylène	2g
Eau distillée	1000 ml

f) Solution d'acétate de plomb

Acétate de plomb	5g
Eau distillée	100 ml

g) L'acide sulfurique :

L'acide sulfurique	27.7 ml
Eau distillée	1000 ml

h) Solution d'iode 0.05N

Iode	3.17 g
Eau distillée	500 ml

i) L'amidon

Amidon	1g
Eau distillée	100 ml

Annexe IV

Tableau représentant la moyenne, l'écart-type et les normes des paramètres physico-chimiques qui ont été effectué.

Echantillon Paramètres	Moyenne			Ecart type			Norme
	Mistral	Ramy Light	Ryhane	Mistral	Ramy Light	Ryhane	
PH	3,61333333	3,58333333	3,93333333	0,0057735	0,0057735	0,0057735	<4.
L'acidité Titrable	6.26	6,8	4,4	0,23094011	0,4	0,4	>6g/l
Extrait Sec Totale	16,6233333	13,3433333	3,16666667	0,01527525	0,01154701	0,01154701	10.5g/100g
Sucres Totaux	111,986667	30,1033333	83,78	23,5982125	2,00340543	2,25858363	>110g/l
Cendres	0,116667	0,086667	0,0716667	0,00011547	0,00010408	7,63763E-05	2.8-5g/l
Brix	16	3	12	0	0	0	12°-14°
Sucres Reducteur	28,3266667	10.22	22,6666667	3,53915715	1,00059982	0,8326664	20-50g/l
Saccharose	79,4743333	18,8856667	58,0566667	19,0584204	2,155114	1,59381095	5-50g/l
Vitamine C	62,1333333	256	180,8	0,92376043	7,21110255	5,24595082	≥200mg/l

Résumé

Dans notre étude, nous avons analysé les paramètres physico-chimiques et la présence d'un édulcorant (aspartame) et d'un conservateur (benzoate de sodium) par une technique d'analyse qui est la chromatographie liquide haute performance (HPLC) dans trois marques de jus d'orange Mistral, Ramy light et Ryhane. Les analyses physico-chimiques effectuées (pH, brix, acidité, les cendres, les sucres réducteurs et totaux, saccharose et la vitamine C) sont acceptable que pour le jus Ramy light. Les résultats de dosage de l'aspartame dans les jus non light (Mistral et Ryhane), il y a absence de l'aspartame (absence de pic), pour le jus Ramy light il ya effectivement présence de l'aspartame (présence du pic), avec une valeur conforme à la norme AFNOR. Les résultats obtenus pour le dosage de benzoate du sodium dans les trois marques du jus sont aussi conformes aux normes AFNOR.

Mots clés : jus d'orange, qualité, paramètres, physico-chimiques, aspartame, benzoate du sodium, HPLC, édulcorant, conservateur, AFNOR.

Abstract:

In our survey, we analyzed the physic-chemical parameters and the presence of a sweetener (aspartame) and of a curator (benzoate of sodium) by a technique of analysis that is the chromatography liquid high performance (HPLC) in three marks of orange juice Mistral, Ramy light and Ryhane. The physic-chemical analyses done (pH, brix, acidity, the ashes, the reducing and total sugars, sucrose and the C vitamin) are acceptable that for juice Ramy light. The results of dosage of the aspartame in the juices no light (Mistral and Ryhane), there is absence of the aspartame (absence of peak), for juice Ramy light him ya in fact presence of the aspartame (presence of the peak), with a value in conformity with the norm AFNOR. The results gotten for the dosage of sodium benzoate in the three marks of juice are also in conformity with the norms AFNOR.

Key words: orange juice, quality, parameters, physic-chemical, aspartame, benzoate of sodium, HPLC, sweetening, curator,AFNOR.