



■ Agriculture ■ Agroalimentaire ■ Environnement ■ Paysage ■

BILAN SUR des Analyses de jus d'orange frais Microbiologie - Biochimie



JOLIJUS
jolijus@jolijus.com



Groupe ISA
Pôle Agroalimentaire
48, boulevard Vauban
59046 LILLE CEDEX
Tél : 03.28.38.48.48
Fax : 03.28.38.48.47

www.isa-lille.fr

SOMMAIRE

1. Principe et projet d'étude
2. Matériel - Méthodes
 - 2.1. Analyses microbiologiques
 - 2.2. Analyses biochimiques
3. Résultats
 - 3.1. Analyses microbiologiques
 - 3.2. Analyses biochimiques
4. Interprétation des résultats
 - 4.1. Analyses microbiologiques
 - 4.2. Analyses biochimiques
5. Conclusion

ETUDE

1 - Principe et projet d'étude

JOLIJUS souhaite réaliser une analyse microbiologique et une analyse de la teneur en vitamine C sur son jus d'orange frais, de façon à étudier l'évolution de son jus dans le temps.

2 - Matériel et méthodes

Quatre flacons d'un même lot d'oranges + 1 (T0 et non du même lot) de 250 ml de jus d'orange ont été livrés au laboratoire d'analyse. Trois ont servi pour les analyses microbiologiques et les deux autres pour les analyses biochimiques. Les 4 jus d'orange ont été fabriqués la veille de leur livraison au laboratoire (le 19/01/2014) et le T0 a été fabriqué le jour même (le 07/02/2014)

2.1. Analyses microbiologiques

2.1.1. Matériel

- Etuves à 55°C, 30°C et 25°C±1°C

- Boîtes de pétri
- Pipettes stériles (1 ml)
- Tubes d'eau physiologique (9 ml)

2.1.2. Milieux

Gélose pour le dénombrement des germes aérobies anaérobies facultatifs sur le milieu PCA (Plate Count Agar) qui convient aussi pour les levures (voire les moisissures)

2.1.3. Méthode

Ensemencement en profondeur : un ml de jus d'orange et 1 ml de chaque dilution successive ont été ensemencés en profondeur dans la gélose PCA. Incubation : 30 °C et 25 °C durant 3 jours.

Une boîte ensemencée / dilution

Le plan des analyses microbiologiques :

A partir du même flacon de jus d'orange conservé à 4 °C : le jour de livraison (J+1, lundi 20/01/2014) jusque J+5 (vendredi 24/01/2014) + J+8 (lundi 27/01/2014) et J+9 (mardi 28/01/2014)

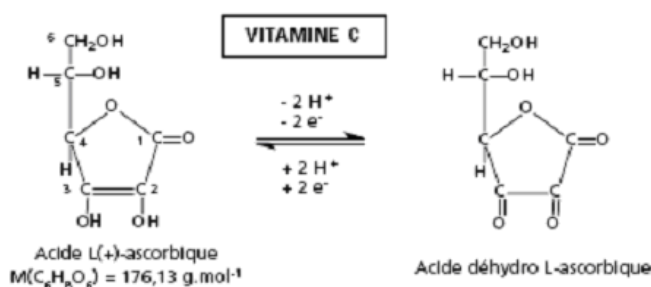
A partir du 2^{ème} flacon de jus d'orange non ouvert et maintenu à 4 °C : J+8 et J+9.

A partir du 3^{ème} flacon : T0 (en différé)

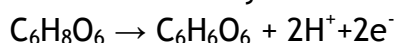
2.2. Analyses biochimiques

2.2.1. Principe

La vitamine C ou acide L(+) Ascorbique (C₆H₈O₆ ; MM = 176,13 g/mole) est un antioxydant. La fonction ène-diol sur les carbones 2 et 3 est très réductrice (elle libère 2 moles d'électrons et de protons H⁺ par moles d'acide ascorbique) selon la réaction suivante :



La réaction d'oxydo-réduction de l'acide ascorbique met en jeu deux électrons

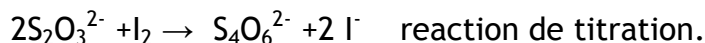


Groupe ISA

Pôle Agroalimentaire
48, boulevard Vauban
59046 LILLE CEDEX
Tél : 03.28.38.48.48
Fax : 03.28.38.48.47

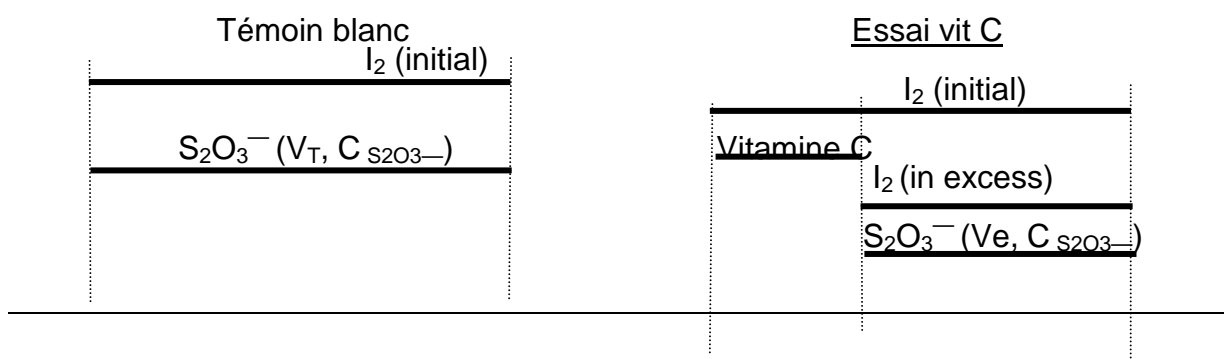
Le dosage est basé sur l'oxydation de la vitamine C par une solution de diiode (environ 2,5 mM). Le diiode est utilisé en tant qu'oxydant et il est capable de capter deux moles d'électrons par mole de diiode: $I_2 + 2e^- \rightarrow 2I^-$

C'est un dosage en retour et l'excès de diiode sera titré par une solution connue de thiosulfate (5 mM) selon les réactions :



Selon cette réaction-bilan, une mole de diiode sera dosée par deux moles de thiosulfate.

Dans un dosage en retour de ce type, il est nécessaire de faire un témoin blanc



$$n_{e^-} \text{ vit C} = n_{e^-} I_2 (\text{init}) - n_{e^-} I_2 (\text{en excès}) = n_{e^-} S_2O_3^{2-} (V_T, C_{S_2O_3^{2-}}) - n_{e^-} S_2O_3^{2-} (V_e, C_{S_2O_3^{2-}})$$

$$\text{donc } n \text{ mole acide ascorbique} = \frac{1}{2} n \text{ mole } S_2O_3^{2-} = \frac{1}{2} C_{S_2O_3^{2-}} \times (V_T - V_e)$$

2-2-2 Protocole opératoire

Pour cette détermination tous les dosages et témoins seront faits en double. Tous les calculs seront faits en référence au témoin blanc, ce dernier doit être fait de manière très rigoureuse

Le dosage se décompose de la manière suivante :

Etape 1 : réaction de la vitamine C (sauf pour témoin blanc) avec le diiode.

Etape 2 : Le diiode en excès est dosé par la solution de thiosulfate. La décoloration du diiode (du jaune au blanc) montre que tout le diiode est réduit (le thiodène est également utilisé comme marqueur de fin de réaction)

<p><u>Témoin Blanc :</u></p> <p>Dans une fiole Erlen meyer, introduire :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 20 mL d'eau distillée bouillie et refroidie - 20 mL de la solution de diode (approximativement à 2,5 mmole/L). <p>Après 2 minutes:</p> <p>Dosage du diiode en excès par le thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0,005M) jusqu'à décoloration. Mettre une pointe de spatule de thiodène afin de vérifier la non coloration du complexe bleu diiode-thiodène</p>	<p><u>Essai jus d'orange :</u></p> <p>Dans une fiole Erlen meyer, introduire :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 15 mL d'eau distillée bouillie et refroidie - 5 mL de jus d'orange à la pipette jaugée. - 20 ml de la solution de diode (approx. 2,5 mmole/L). <p>Après 2 minutes:</p> <p>Dosage du diiode en excès par le thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0,005M) jusqu'à décoloration. Mettre une pointe de spatule de thiodène afin de vérifier la non coloration du complexe bleu diode-thiodène</p>
--	--

2-2-3 Exploitation des résultats

Quantité de Vitamine C (en mole) = $\frac{1}{2}$ [thiosulfate] x ($V_T - V_e$)
 [Vitamine C] = Quantité de Vitamine C (mole) / volume de jus (L)
 Expression de la teneur en Vitamine C (exprimées en mg/100mL) =
 [Vitamine C] x MM x 100

2.2.3. Méthode

Le plan des analyses biochimiques est le suivant :

- du même flacon de jus d'orange : Le jour de livraison (J+1) jusque J+5
- du 2^{ème} flacon de jus d'orange non ouvert et maintenu à 4°C : J+8 et J+9.

Un suivi de pH et de degré brix sera mené en parallèle sur le suivi quotidien.

3 - Résultats

3.1. Analyses microbiologiques

Deux analyses ont été réalisées quotidiennement :

- L'une pour suivre l'évolution de la flore aérobie mésophile totale (FAMT) à 30°C

- l'autre pour suivre l'évolution de la flore levures/moisissures (L/M) à 25°C.

Deux analyses ont été effectuées, l'une en différé pour le T0 et l'autre après 8 jours de conservation à 4°C à d'une bouteille de jus d'orange non ouverte dans le but de vérifier la stabilité microbienne du jus d'orange.

Ci-dessous, voici le tableau n° 1 qui regroupe toutes les analyses effectuées sur 2 bouteilles de jus d'orange. Les chiffres sont exprimés en UFC/mL

Tableau n° 1 : résultats du dénombrement de la FAMT et des L/M en cours de conservation à 4°C d'un jus de fruit

Analyses/jours	T0	1	2	3	4	5	8	9
FAMT	$2,23.10^2$	$2,83.10^2$	$2,57.10^2$	$2,19.10^2$	$3,16.10^2$	$2,21.10^2$	$3,9.10^2$	$4,1.10^2$
L/M	$1,68.10^2$	$3,2.10^2$	$2,4.10^2$	$2,3.10^2$	$1,79.10^2$	$2,79.10^2$	$4,3.10^2$	$6,5.10^2$
stabilité FAMT		NT	NT	NT	NT	NT	$1,68.10^2$	NT
Stabilité L/M		NT	NT	NT	NT	NT	$1,03.10^2$	NT

NT : non testé (weekend)

Soit la représentation graphique suivante (figure n° 1):

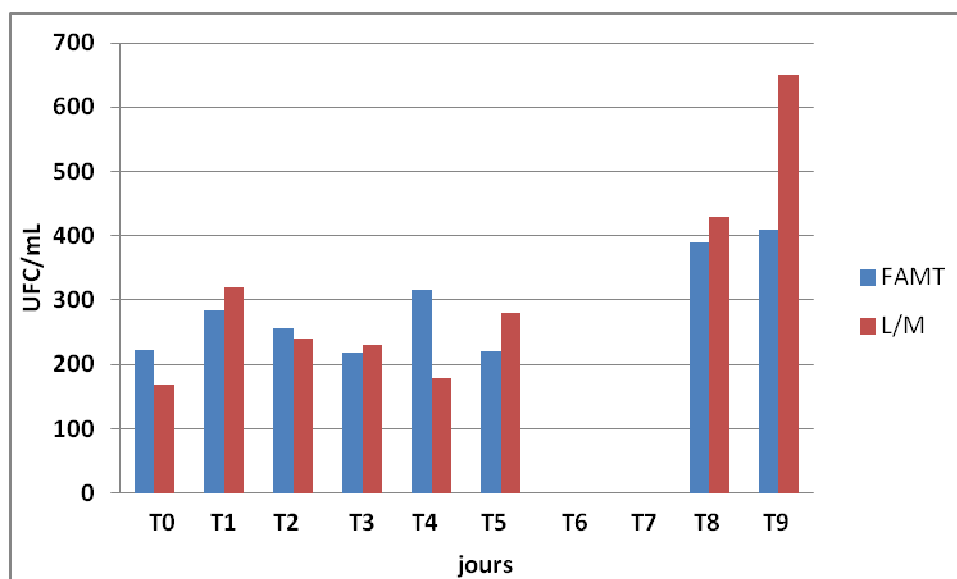


Figure 1 : Représentation graphique de l'évolution de 2 populations microbiennes au cours du temps dans une bouteille de jus d'orange.

3.2. Analyses biochimiques

3.2.1 - Suivi de pH et contrôle du °Brix

Date	heure	pH				° Brix
		bouteille 1	bouteille 2	moyenne	ecart type	
20/01/2014	12h00	Standard à 5 mmol/L				
20/01/2014	12h05	3,52	3,48	3,50	0,03	11
21/01/2014	14h05	3,57	3,51	3,54	0,04	11
22/01/2014	15h15	3,52	3,49	3,51	0,02	11
23/01/2014	12h30	3,51	3,48	3,50	0,02	11
24/01/2014	17h30	3,48	3,46	3,47	0,01	11
28/01/2014	15h20	3,47	3,46	3,47	0,01	11
02/01/2014	15h20	3,46				11

Commentaires :

Le degré brix ne change pas tout au long des 8 jours de suivi

Le pH est stable sur la semaine (0,05 unité de pH de variation)

3.2.2 2 Suivi de la concentration en vitamine C

Date	heure	prise d'essai (ml)	Dosage de la vitamine C avec thiosulfate à 5 mM									
			VT	essai 1		essai 2		essai 3		moyenne	écart-type	en mg/100mL
				V1	[vit C]1	V2	[vit C]2	V3	[vit C]3			
20/01/2014	12h05	5,00	19,087	11,987	0,0036	12,005	0,0035	11,920	0,0036	0,0036	0,00002	62,67
21/01/2014	14h05	5,00	19,171	11,475	0,0038	11,529	0,0038	11,505	0,0038	0,0038	0,00001	67,52
22/01/2014	15h15	5,00	19,067	11,593	0,0037	11,143	0,0040	11,433	0,0038	0,0038	0,00011	67,61
23/01/2014	12h30	5,00	19,108	11,493	0,0038	11,384	0,0039	11,790	0,0037	0,0038	0,00011	66,51
24/01/2014	17h30	5,00	18,687	10,951	0,0039	10,702	0,0040	10,972	0,0039	0,0039	0,00008	68,79
28/01/2014	15h20	5,00	18,573	11,412	0,0036	11,763	0,0034	11,285	0,0036	0,0035	0,00012	62,40
02/02/2014	15h20	5,00	18,873	11,197	0,0038	11,287	0,0038	11,025	0,0039	0,0039	0,00007	67,84

Groupe ISA

Pôle Agroalimentaire
48, boulevard Vauban
59046 LILLE CEDEX
Tél : 03.28.38.48.48
Fax : 03.28.38.48.47

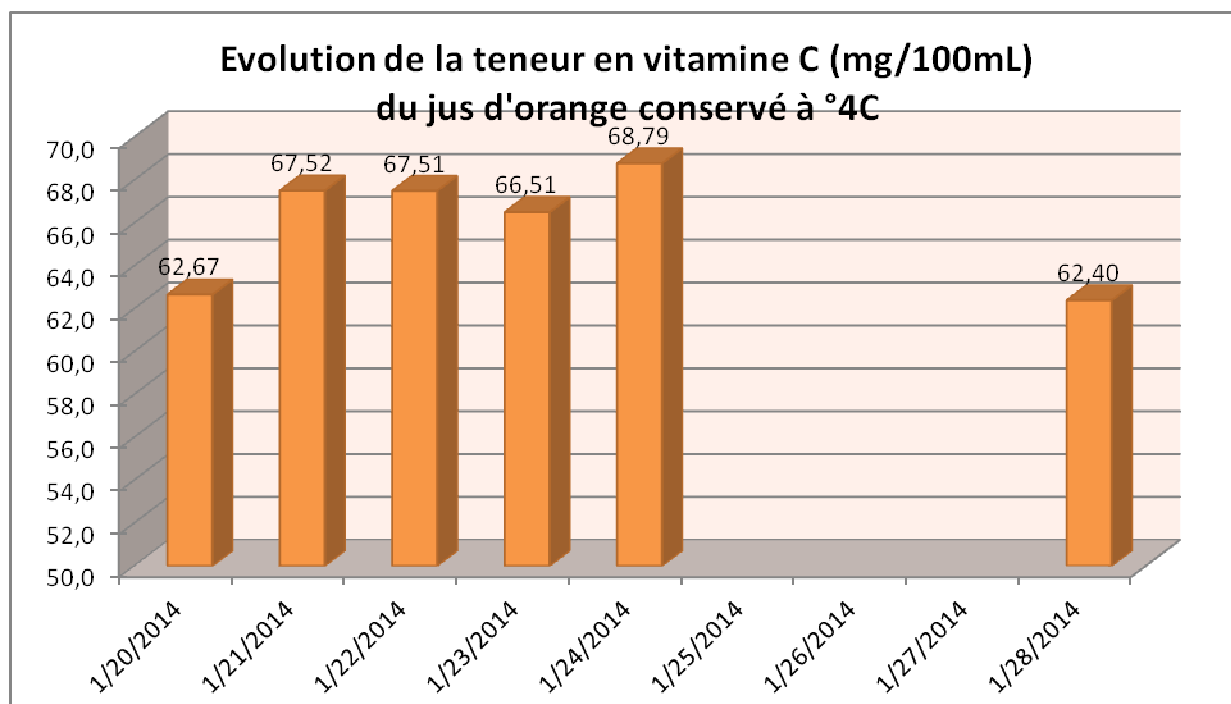


Figure 2 : Evolution de la teneur en vitamine C d'un jus d'orange

4 - Interprétation des résultats

4.1. Analyses microbiologiques

L'analyse quotidienne de la FAMT et de la flore L/M sur 5 jours montre qu'elles excèdent peu les 300 UFC/mL, hormis pour la FAMT au 4^{ème} jour.

Entre le 1^{er} et le 3^{ème} jour d'analyses, les 2 flores diminuent progressivement. Puis, entre le 4^{ème} et le 9^{ème} jour d'analyse, il y a une reprise de la croissance de ces deux flores pour atteindre une valeur seuil de 400 UFC/mL pour la FAMT et de 650 UFC/mL pour les L/M.

Entre T0 et T1 : il n'est pas possible d'interpréter car les 2 jus d'orange analysés ne proviennent pas du même lot. Mais à T0, la charge microbienne n'excède pas les 300 UFC/mL.

L'analyse du jus d'orange conservé à 4°C pendant 8 jours et sans avoir été ouvert, indique une charge microbienne finale de 168 UFC/mL pour la FAMT et de 103 UFC/mL pour la flore L/M.

L'absence d'une donnée chiffrée sur le niveau initial de contamination des jus d'orange (immédiatement sortis de la chaîne de fabrication et du même lot), ne nous permet pas d'affirmer ou d'infirmier si les 2 flores (FAMT et L/M) sont stables sur une période de 9 jours de conservation à 4°C et pour un jus d'orange non entamé. Les résultats obtenus au T0 (pour un lot) comparés à ceux obtenus au T+8 sont du même ordre de grandeur.

Groupe ISA

Pôle Agroalimentaire
48, boulevard Vauban
59046 LILLE CEDEX
Tél : 03.28.38.48.48
Fax : 03.28.38.48.47

Nous constatons la présence d'une flore microbienne dans le jus d'orange. Pour un jus d'orange non entamé, conservé à 4°C pendant 8 jours, sa charge microbienne reste très inférieure à celle d'un jus d'orange ouvert tous les jours et conservé dans les mêmes conditions et durant la même période.

4.2. Analyses biochimiques

Aucune dégradation de la vitamine C n'est observée durant les 5 jours après élaboration d'un jus de fruit si celui-ci est conservé à 4°C.

Le jus témoin non ouvert montre également une remarquable stabilité 9 jours après élaboration.

Les autres critères physico-chimiques, pH et degré Brix, sont de même très stables.

5- Conclusion

Les échantillons de jus d'oranges déposés au laboratoire de microbiologie de l'ISA présentent une flore microbienne non identifiée. L'ouverture quotidienne du jus d'oranges, à priori, favoriserait le développement des microorganismes présents contrairement à un jus d'orange (du même lot) conservé pendant 8 jours au froid positif (4°C) et non ouvert.

Il ne nous est pas possible de conclure sur la stabilité de la charge microbienne dans un jus d'oranges non entamé et conservé 8 jours à 4°C, car le T0 et le T8j proviennent de 2 lots différents.

Concernant la teneur en vitamine C, la stabilité à 4°C de ce composé est correcte sur les cinq jours d'étude.

Dr Caroline CHOMA
Microbiologiste
Responsable des essais

Lucile GABEREL
Chef de projet

Dr Vincent DUMORTIER
Biochimiste
Responsable des essais