

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A.MIRA-BEJAIA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

Réf:.....

Mémoire

Présenté par

IGUELOUADA Fatima & MECHEROUH AHLAM

**Pour l'obtention du diplôme de
Master Académique**

Filière : Biologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

Effet des ultrasons sur la survie et la croissance d'*Escherichia coli* dans le jus de carotte au cours du stockage

Soutenu le 07/07/2025

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Qualité

Mme ARKOUB L.

MCB

Présidente

Mme KERNOU O.

MAB

Encadrante

Mme SLIMANI S.

MAA

Examinatrice

Année Universitaire : 2024-2025

Remerciements

Tout d'abord, nous exprimons notre gratitude à Dieu le plus puissant de nous faire voir ce jour et de nous donner la patience et la volonté d'accomplir ce travail.

Nous voudrions ensuite adresser nos remerciements à notre encadrante, Madame KERNOU Ourdia, pour son accompagnement, sa disponibilité, ses précieux conseils, ainsi que la confiance qu'elle nous a témoignée tout au long de la réalisation de notre projet de fin d'études.

Nous tenons également à remercier Monsieur BOUDJOUENE F. pour son accompagnement et ses conseils avisés qui nous ont beaucoup aidés tout au long de ce travail.

Nous tenons à remercier Madame ARKOUB L., qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, pour le temps qu'elle a consacré à l'évaluation de notre travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Madame SLIMANI S. pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail avec bienveillance et rigueur.

Nous remercions également toute l'équipe pédagogique de l'université ainsi que les intervenants professionnels responsables de notre formation.



I. Fatima & M. AHLAM -

Dédicaces

Avec fierté et plaisir, je dédie ce travail

*À mon père et ma mère, qui sont la source de ma motivation et
m'ont transmis une éducation digne.*

*Votre amour et votre soutien ont fait de moi celle que je suis
aujourd'hui.*

*À mes frères Achour, Tahar, Meziane et Yanis, que j'aime
profondément, véritables piliers de ma vie, et sources inépuisables de
paix, de sécurité et de force.*

*À mes sœurs Djedjiga, Fatima, Nacéra, Lydia et Louisa, présence
constante et réconfortante, dont l'amour et le soutien illuminent
mon chemin.*

*Ainsi qu'à mes belles-sœurs, Ouarda et Linda, pour leur
bienveillance, leur gentillesse et leur présence précieuse à mes côtés.*

*À mon oncle, le Professeur Iguerouada Mokrane, source constante
de motivation et de sagesse.*

*À mes neveux et nièces, petites lumières de ma vie, dont l'innocence,
la joie et les sourires me donnent tant de force.*

*À mes cousines Lynda, Nassima et Lydia, pour leur gentillesse, leur
soutien discret et leur complicité précieuse.*

*Et à l'âme de mon grand-père Saïd, dont la mémoire continue de
m'inspirer et de m'accompagner.*

*Je vous suis infiniment reconnaissante pour votre présence et votre
amour*



- I. Fatima -

Dédicaces

Je dédie ce travail

À mes très chers parents, Salima et Ali, pour leur amour et leurs prières,

À ma sœur Katia, pour son soutien, sa tendresse et sa présence réconfortante,

À mes frères Amine et Yanis, pour leur force, leur affection et leur encouragements,

À mon beau-frère Badis, pour sa gentillesse et sa bienveillance,

À mes nièces Dania et Maysara, pour la joie et la lumière qu'elles apportent à ma vie,

À mes copines Ghozlane, Zahoua et Massilia, pour leur présence et encouragements,

Et à l'âme de ma grand-mère Saliha.

Que ce travail soit le reflet de ma gratitude envers ceux qui ont cru en moi, m'ont soutenue et accompagnée sur ce chemin.

 - M. AHLAM -

Sommaire

Remerciements	2
Dédicaces	3
Dédicaces	4
Sommaire	5
Liste des tableaux	8
Liste des figures	9
Liste des abréviations	10
Introduction Générale	1
I. Chapitre I.....	3
Synthèse bibliographique	3
I.1. Le jus de carotte	4
I.1.1. Définition.....	4
I.1.2. Composition chimiques et propriétés physico-chimiques du jus de carotte..	4
I.1.3. Facteurs de contamination microbienne	5
I.1.4. Principaux microorganismes retrouvés dans le jus de carotte	6
I.1.5. Risques sanitaires associés à la consommation de jus contaminés	6
I.2. <i>Escherichia coli</i>	6
I.2.1. Caractéristiques générales d' <i>E.coli</i>	6
I.2.2. Souches pathogènes	7
I.2.3. Mécanismes de contamination des jus par <i>E. coli</i>	8
I.2.3.1. Contamination primaire au champ (pré-récolte)	8
I.2.3.2. Contamination croisée lors de la transformation	8
I.2.3.3. Mauvaises pratiques d'hygiène en milieu artisanal ou commercial.....	8
I.2.3.4. Résistance de <i>E. coli</i> aux conditions acides des jus	8
I.2.3.5. Conséquences sanitaires et épidémiologiques	9
I.3. Méthodes classiques de conservation des jus et leurs limites	9
I.3.1. Traitements thermiques	9
I.3.1.1. Pasteurisation à basse température et longue durée (LTLT).....	9
I.3.1.2. Pasteurisation à haute température et courte durée (HTST)	10
I.3.1.3. La stérilisation.....	10
I.3.1.4. UHT - Traitement à ultra-haute température	10
- Chauffage indirect	10
- Chauffage direct	10
I.3.1.5. ISI – Innovative Steam Injection.....	10
I.3.1.6. Pasteurisation ESLP (Extended Shelf Life Pasteurization)	10
I.3.1.7. Flash pasteurisation.....	11
I.3.1.8. Thermisation	11
I.3.2. Les inconvénients de la pasteurisation	11
I.3.3. Besoin d'alternatives innovantes	11
I.4. Principe et applications des ultrasons	12
I.4.1. Historique des ultrasons.....	12

I.4.2. Définition et principe	12
I.4.3. Mécanismes d'action sur la matière	13
I.4.4. Applications industrielles dans l'agroalimentaire	14
I.4.5. Effets des ultrasons sur les microorganismes	14
I.4.5.1. Mécanismes d'inactivation microbienne.....	14
I.4.5.2. Facteurs influençant l'efficacité des ultrasons	16
I.4.5.3. Effet sur la qualité des produits.....	17
II. Chapitre II.....	18
Matériels et méthodes	18
II.1. Lieu de réalisation des expériences.....	19
II.2. Préparation du jus de carotte	19
II.3. Cultures d' <i>Escherichia coli</i> et inoculation.....	20
II.4. Traitement à ultrason	21
II.5. Incubation des échantillons traités et estimation de la survie	22
II.6. Détermination des paramètres physico-chimiques	23
II.6.1. Potentiel d'hydrogène (pH)	23
II.6.2. Matières solides solubles (Brix)	23
II.6.3. Acidité Titrable.....	23
II.6.4. Dosage de la vitamine C.....	24
II.7. Observation microscopique d' <i>E. Coli</i> ATCC 25922	25
II.8. Analyse statistique	25
III. Chapitre III.....	26
Résultats et discussion	26
III.1. Impact de la charge microbienne initiale sur la cinétique de croissance d' <i>E. coli</i> ATCC 25922 dans le jus de carotte.	27
III.2. Traitement à ultrasons.....	28
III.2.1. Traitement à 60% d'amplitude.....	28
III.2.2. Traitement à 70% d'amplitude.....	29
III.2.3. Traitement à 80% d'amplitude.....	30
III.2.4. Traitement à 90% d'amplitude.....	32
III.3. Analyse statistique	33
III.4. Observation microscopique	34
III.5. Paramètres physico-chimiques	36
III.5.1. Potentiel d'hydrogène (pH).....	36
III.5.2. Matières solides solubles (Brix).....	37
III.5.3. Acidité Titrable	37
III.5.4. Mesure de la Vitamine C	38
Conclusion et Perspectives	40
Références bibliographiques.....	42
Annexes.....	56

Liste des tableaux

Tableau I: Composition chimique du jus de carotte	4
Tableau II: Effets des ultrasons sur les cellules microbiennes	16
Tableau III: Conditions du traitement par ultrasons de jus de carotte inoculé avec <i>Escherichia coli</i> .ATCC 25922.....	22
Tableau IV: Analyse statistique de l'étude.	33
Tableau V: Variation de la valeur du pH pendant le stockage de jus de carottes	36
Tableau VI: Variation de la valeur du Brix pendant le stockage de jus de carottes.	37
Tableau VII: Variation de l'acidité titrable durant le stockage du jus de carottes.....	37
Tableau VIII: Variation de la vitamine C pendant le stockage du jus de carottes.....	38

Liste des figures

Figure 1 : <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique à balayage (résolution 1 um). ...	7
Figure 2 : Vue d'ensemble des technologies non thermiques	12
Figure 3 : Diagramme des gammes d'ultrasons	13
Figure 4 : Mécanisme des dommages cellulaires induits par les ultrasons	13
Figure 5 : La croissance de l'implosion d'une bulle de cavitation	14
Figure 6 : Mécanisme d'inactivation microbienne par ultrasons	15
Figure 7 : Centrifugeuse utilisée pendant l'extraction du jus de carotte.	19
Figure 8 : Prélèvement <i>E. coli</i> sur milieu EMB.	20
Figure 9 : Image de l'appareil à ultrason utilisée pendant les expériences d'inactivation.	21
Figure 10 : Évolution de la croissance d' <i>E. coli</i> ATCC 25922 en fonction de la charge initiale dans le jus de carotte pendant le stockage.	27
Figure 11 : Survie et croissance d' <i>E. coli</i> ATCC 25922 pendant le stockage de jus de carotte traité par ultrasons à un niveau d'amplitude 60 % pendant 1 , 3, 5 et 7 minutes.	28
Figure 12 : Survie et croissance d' <i>E.coli</i> pendant le stockage de jus de carotte traité par ultrasons à un niveau d'amplitude 70 % pendant 1 , 3, 5 et 7 minutes.	29
Figure 13 : Survie et croissance d' <i>E. coli</i> ATCC 25922 pendant le stockage de jus de carotte traité par ultrasons à un niveau d'amplitude 80 % pendant 1 , 3, 5 et 7 minutes.	30
Figure 14 : Survie et croissance d' <i>E.coli</i> ATCC 25922 pendant le stockage de jus de carotte traité par ultrasons à un niveau d'amplitude 90 % pendant 1 , 3, 5 et 7 minutes.	32
Figure 15 : Différentes observation microscopique d' <i>E.coli</i> ATCC 25922 . A : observation de J0 juste après traitement ; B : observation du quatrième jour après traitement (J4) ; C : observation du septième jour (J7).	35

Liste des abréviations

Amp : amplitude

Atm : atmosphère

DCPIP : (2,6-dichlorophénol-indophénol)

EMB : (Eosin Methylene Blue)

KHz : kilohertz

MHz : Mégahertz

UFC : Unité formant colonies

US : ultrasons

FDA : Food and Drug administration

Introduction Générale

Les jus de fruits, en particulier le jus de carotte, sont appréciés pour leur richesse en vitamines et en antioxydants, en 2025, la quantité de jus de carotte consommée dans le monde est estimée à environ 2.1 milliard de litres, ce qui représente une part significative du marché mondial des jus de légumes (**Market Reasearch Future, 2024**).

Cependant, leur forte teneur en eau et en nutriments favorise le développement microbien, limitant ainsi leur durée de conservation.

Ils sont particulièrement sensibles à ce type de contamination microbienne. Riche en nutriments, leur pH relativement bas n'empêche pas toujours la survie de certaines bactéries pathogènes, notamment *Escherichia coli* responsable de nombreuses toxi-infections alimentaires à travers le monde. Cette contamination peut survenir à différentes étapes : récolte, transformation ou stockage (**Chapman, 2000 ; Dungan et Leytem, 2013**).

Pour assurer la sécurité microbiologique de jus, des traitements thermiques tels que la pasteurisation sont classiquement appliqués. Bien que ces procédés soient efficaces pour inactiver les micro-organismes, ils peuvent entraîner des altérations de la qualité sensorielle, nutritionnelle ou physico-chimique des produits (**Lauteri et al.,2023**). En réponse à ces limites, plusieurs techniques non thermiques émergent, telles que les champs électriques pulsés (**Gurtler et al., 2010**), l'ozonation (**Patil et al., 2009**) ou le plasma froid (**Dasan et Boyaci, 2018**). Toutefois, certaines de ces méthodes présentent encore des défis en termes de coût, de faisabilité industrielle ou d'impact environnemental (**Levy, 2010**).

Dans ce contexte, la contamination des jus de fruits, notamment du jus de carotte, par *E. coli* constitue un enjeu de sécurité sanitaire. Les limites des traitements traditionnels soulignent la nécessité de méthodes de conservation alternatives, efficaces et respectueuses de la qualité des aliments.

Parmi ces alternatives, les ultrasons représentent une technologie physique non thermique prometteuse. Elle est basée sur des phénomènes de cavitation, de micro-courants et de génération de radicaux libres, cette méthode permettrait d'endommager la membrane cellulaire des bactéries, réduisant ainsi leur viabilité (**Chemmat et al .,2011 ;Gallo et al., 2018**).

Des études récentes ont montré que les ultrasons peuvent efficacement inactiver divers micro-organismes dans des matrices liquides comme les jus de fruits, tout en

minimisant les pertes de qualité (**Ferrario et al., 2015**), néanmoins, peu de travaux se sont penchés sur l'effet durant le stockage des jus traités, phase critique où une reprise de croissance bactérienne résiduelle pourrait survenir.

Dans ce contexte, cette étude vise à évaluer l'impact d'un traitement par ultrasons sur la survie et la croissance d'*E. coli* dans le jus de carotte durant le stockage. L'étude permettra également de déterminer les paramètres opératoires influents (puissance, durée, température), et d'en mesurer les effets sur la qualité microbiologique du produit.

La présente étude se devise en trois chapitres:

- La synthèse bibliographique représentée par un chapitre synthétise toutes les connaissances fondamentales concernant les jus de carotte, incluant leur composition, les risques microbiologiques associés et les techniques de préservation. Ce chapitre traite également de la biologie d'*E. coli*, ainsi que du principe, des applications et des effets des ultrasons sur les microorganismes et la qualité des jus.
- Deuxième chapitre présente de manière détaillée l'ensemble des outils, protocoles expérimentaux et approches méthodologiques utilisés pour mener à bien cette étude.
- Le troisième chapitre regroupe tous les résultats obtenus, accompagnés d'une analyse critique et d'une discussion approfondie visant à déterminer la portée scientifique et les implications pratiques.

Chapitre I
Synthèse bibliographique

I.1. Le jus de carotte

I.1.1. Définition

Le jus de carotte est une boisson obtenue par l'extraction du liquide de carottes fraîches (*Daucus Carota L.*). Il est naturellement riche en composés bioactifs, notamment les caroténoïdes (comme le bêta-carotène), et est reconnu pour ses propriétés nutritionnelles et ses effets bénéfiques sur la santé, ce qui en fait une boisson fonctionnelle populaire (Ding et liu .,2024).

I.1.2. Composition chimiques et propriétés physico-chimiques du jus de carotte

Le jus de carotte est principalement composé d'eau (environ 90 %), de sucres simples, de faibles quantités de protéines et de lipides, et se distingue par sa richesse en bêta-carotène, vitamines (C, E, K, B6) et minéraux (potassium, calcium, phosphore) (tableau I). Il présente un pH modérément acide (5,0 à 6,0) et une couleur orange caractéristique liée aux caroténoïdes. Cette composition lui confère d'excellentes qualités nutritionnelles, mais le rend aussi sensible à l'oxydation et au développement microbien (Sharma et al.,2012).

Tableau I: Composition chimique du jus de carotte (Sharma et al.,2012).

Constituant	Quantité moyenne
Eau	86 à 89 %
Protéines	0,7 – 1,1 g/100 g
Lipides	0,2 – 0,5 g/100 g
Glucides totaux	6 à 10,6 g/100 g
Sucres totaux	5,6 g/100 g
Fibres	1,2 – 2,4 g/100 g
Calcium	34–80 mg/100 g
Fer	0,4–2,2 mg/100 g
Phosphore	25–53 mg/100 g
Sodium	40 mg/100 g
Potassium	240 mg/100 g
Magnésium	9 mg/100 g
Zinc	0,2 mg/100 g
Cuivre	0,02 mg/100 g
Thiamine (B1)	0,04 mg/100 g

Riboflavine (B2)	0,02 mg/100 g
Niacine	0,2 mg/100 g
Vitamine C	4 mg/100 g
Caroténoïdes totaux	6 000 – 54 800 µg/100 g
Composés phénoliques (jus violet)	772 ± 119 mg/L
Nitrates / Nitrites	40 / 0,41 mg/100 g

I.1.3. Facteurs de contamination microbienne

La contamination microbienne des jus de fruits est fortement conditionnée par les méthodes de préparation, d'élaboration et de distribution. Les jus produits industriellement, souvent pasteurisés et ajoutés de conservateurs ou d'agents régulateurs de pH, respectent globalement les normes microbiologiques. Toutefois, certains éléments peuvent causer une contamination persistante, tels que des défauts d'emballage, un transport ou un stockage inapproprié, ainsi que la survie de micro-organismes capables de résister à l'acidité et à la chaleur (**James et Panchal ., 2021**). Certaines analyses ont révélé la présence d'*Enterobacteriaceae* dans divers échantillons, tout en respectant les normes réglementaires (**James et Panchal ., 2021**).

Le jus de carotte est particulièrement sensible à la contamination microbienne, en raison de la nature des matières premières. Les carottes, cultivées en pleine terre, sont exposées à de nombreux micro-organismes présents dans le sol (bactéries, levures, moisissures) qui peuvent être transférés au jus lors du lavage, de la découpe ou de l'extraction (**Ratajczak et al., 2023**).

Malgré des pratiques d'hygiène strictes, le risque de contamination reste élevé, surtout dans le cas de jus non pasteurisé. Ce risque est aggravé par l'utilisation d'eau non potable, des équipements mal nettoyés, des carottes abîmées ou un stockage inadéquat (**Raybaudi-Massilia et al., 2009**).

Par ailleurs, la faible acidité et la richesse nutritionnelle du jus de carotte favorisent la croissance microbienne, ce qui peut altérer ses qualités organoleptiques et présenter un danger pour la santé du consommateur. Ainsi, la maîtrise de la qualité microbiologique du jus de carotte nécessite une vigilance à chaque étape, depuis la récolte jusqu'au conditionnement, et justifie le recours à des procédés de conservation efficaces pour garantir la sécurité du produit fini. (**Osakuade et al ., 2023 ; Ratajczak et al., 2023**).

I.1.4. Principaux microorganismes retrouvés dans le jus de carotte

Il arrive souvent que les jus de fruits ou de légumes frais soient contaminés par différents micro-organismes, comme des bactéries, levures et moisissures, en raison d'une mauvaise gestion hygiénique des fruits, de matériel sale ou d'eau polluée (Hassan et al., 2023). L'enquête réalisée à Lahore a révélé la présence régulière de germes pathogènes tels qu'*Escherichia.coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Bacillus spp.* et *Pseudomonas spp.* dans les jus de carotte, canne à sucre et orange (Hazeefa et al., 2023). Des levures telles que *Candida albicans* ainsi que des moisissures résistantes à la chaleur telles que *Byssoschlamysfulva* et *Neosartoryafischerisont* à l'origine de la dégradation des jus (Lim et Ha., 2021 ; Walker et Phillips., 2007).

I.1.5. Risques sanitaires associés à la consommation de jus contaminés

La consommation de jus de fruits en général et de jus de carotte en particulier contaminés constitue un véritable enjeu de santé publique. La présence de bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* ou encore *Streptococcus spp.* est susceptible d'entraîner divers troubles, notamment des infections intestinales, cutanées, des réactions allergiques, voire des inflammations chroniques (Noumavo et al., 2023 ; Hazeefa et al., 2023). Certaines de ces souches présentent également une résistance aux antibiotiques, ce qui complique la prise en charge thérapeutique des infections qu'elles provoquent (Choi et al., 2023). Par ailleurs, la présence de levures comme *Candida albicans* et de moisissures thermorésistantes, telles que *Byssoschlamysfulva*, peut altérer les propriétés organoleptiques des jus et représenter un risque particulier pour les personnes immunodéprimées (Hassan et al., 2023 ; Walker et Phillips, 2007). Ces risques sont majoritairement liés à une mauvaise hygiène lors de la préparation, de la manipulation ou du stockage des produits, soulignant l'importance d'une application rigoureuse des mesures sanitaires tout au long de la chaîne de production (Hazeefa et al., 2023).

I.2. *Escherichia coli*

I.2.1. Caractéristiques générales d'*E.coli*

Escherichia coli est une bactérie facultativement anaérobie, de type Gram négatif, en forme de bâtonnet qui fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae* (Gomes et al., 2016). Elle constitue un élément essentiel du microbiote intestinal humain, où elle exerce une fonction bénéfique, à l'exception des personnes immunodéprimées où elle peut se transformer en pathogène (Kaper et al ., 2004).

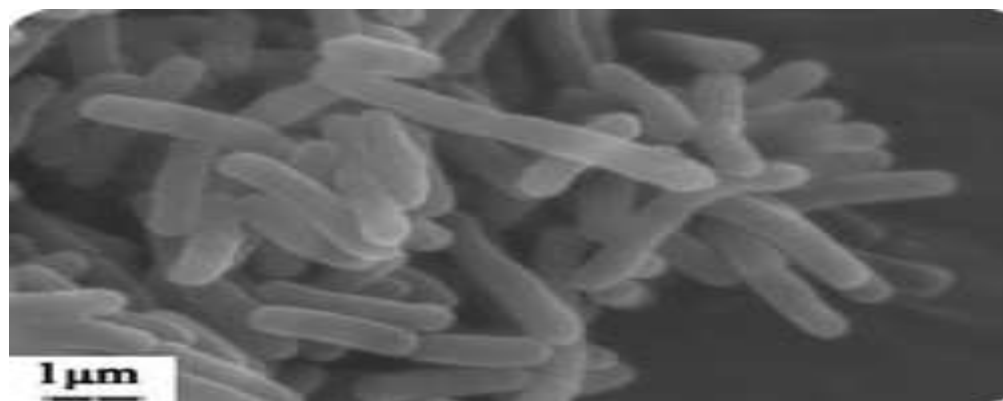


Figure 1 : *Escherichia coli* sous microscope électronique à balayage (résolution 1 μ m)
(Henderson, 2019).

I.2.2. Souches pathogènes

E. coli comprend des centaines de souches qui sont catégorisées en fonction de leurs antigènes de surface : somatiques (O) (Sarowska et al., 2019 ; Sora et al., 2021), capsulaires (K), flagellaires (H) et fimbriales (F). Ces souches participent à différentes infections chez l'homme, y compris celles des voies urinaires, les infections de l'appareil digestif et le syndrome hémolytique et urémique (SHU) (Sarowska et al., 2019).

Certaines souches non pathogènes d'*Escherichia coli*, comme la souche K-12, sont largement utilisées en biotechnologie en raison de leur sécurité, de leur profil génétique bien caractérisé et de leur grande aptitude à être manipulée génétiquement. Ces souches sont considérées comme sûres pour les applications de clonage génique (Kuhnert et al., 1995 ; Maltby et al., 2013). Toutefois, il existe également des souches pathogènes d'*E. coli*, appelées pathotypes diarrhéiques (DEP), qui possèdent des facteurs de virulence spécifiques.

Ces souches sont classées en six grands groupes selon le type d'infection qu'elles provoquent (Kaper et al., 2004 ; Belem et al., 2022).

Parmi ces pathotypes, les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), dont la souche O157:H7, qui produit la toxine shiga (STEC) et peut provoquer des infections graves par consommation de viande crue, de lait non pasteurisé ou de légumes contaminés ; les *E. coli* entéropathogènes (EPEC), cause majeure de diarrhées infantiles dans les pays en développement ; les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), responsables de la diarrhée du voyageur et fréquentes chez les enfants des pays du Sud ; les *E. coli* entéro-invasifs

(EIEC), dont l'infection, touchant principalement le côlon, ressemble à la shigellose ; les *E. coli* diffusément adhérents (DAEC), impliqués dans les diarrhées infantiles ; et enfin les *E. coli* entéroaggrégatifs (EAEC ou EAggEC), exclusivement humains, capables de provoquer une diarrhée persistante (Sora et al., 2021).

I.2.3. Mécanismes de contamination des jus par *E. coli*

I.2.3.1. Contamination primaire au champ (pré-récolte)

La contamination peut commencer dès le champ, en particulier quand les fruits qui tombent au sol, nommés « grounders », touchent des résidus organique animaux porteurs de l'*E.coli* O157:H7. Une épidémie bien connue aux États-Unis en témoigne, où du jus de pomme non pasteurisé fabriqué à partir de pommes tombées au sol a provoqué une contamination extrême. Cette contamination avant récolte est fréquemment associée à une gestion inadéquate des champs, la présence d'animaux (tels que les cerfs, bovins, oiseaux..), ou l'utilisation d'eau non potable pour l'irrigation (Cody et al., 1999).

I.2.3.2. Contamination croisée lors de la transformation

Une fois les fruits cueillis, la conversion en jus représente une phase cruciale. Si les surfaces de travail (extracteurs, couteaux, planches) ou les mains des opérateurs sont contaminées, il est possible que les agents pathogènes soient transférés de la surface extérieure des fruits à leur chair. La recherche démontre qu' *E. coli* a la capacité de survivre et d'être transféré efficacement en cas de manquement des conditions d'hygiène. Ce phénomène est favorisé par un lavage inadéquat des fruits ou l'absence de désinfection des équipements (Raybaudi-Massilia et al., 2009).

I.2.3.3. Mauvaises pratiques d'hygiène en milieu artisanal ou commercial

Une contamination fréquente est observée dans les lieux de vente artisanaux ou de rue, comme à Mexico, où des échantillons de jus d'orange frais ont révélé la présence de coliformes fécaux et d'*E. coli*. Cette contamination provient généralement de l'utilisation d'eau insalubre pour le lavage des fruits, d'ustensiles mal nettoyés, ou encore du manque d'hygiène du personnel (absence de lavage des mains, chiffons sales). Les chercheurs alertent sur le risque élevé de toxi-infections alimentaires liées à ces pratiques (Figueroa-Ducoing et al., 2022).

I.2.3.4. Résistance de *E. coli* aux conditions acides des jus

À l'inverse des idées préconçues, l'acidité des jus de fruits ne parvient pas à détruire *E. coli* O157:H7. Cette variante a une tolérance à l'acidité qui lui permet de persister

plusieurs jours dans des liquides acides tels que le jus d'ananas, même lorsqu'elle est réfrigérée. L'analyse souligne l'importance de procédures supplémentaires (telles que la pasteurisation) pour assurer la sûreté des jus, car l'environnement acide à lui seul ne suffit pas à éliminer le micro-organisme nuisible (**Little et al., 2024**).

I.2.3.5. Conséquences sanitaires et épidémiologiques

La présence d'*E. coli*, marqueur de la contamination fécale, dans l'eau potable signifie un danger majeur pour la santé publique dans les régions rurales. Une étude menée au Bangladesh a mis en évidence une forte corrélation entre la présence d'*E. coli* et des cas de diarrhée, notamment chez les enfants de moins de cinq ans (**hasan et al., 2022**). En Afrique subsaharienne, les mauvaises conditions d'accès à l'eau potable et à l'assainissement ont causé 829 000 décès dus à des maladies diarrhéiques en 2016 (**Prüss-Ustün et al., 2019**).

La pratique de la défécation à l'air libre et l'utilisation de sources non protégées, courantes dans les zones étudiées, favorisent cette contamination (**Gizaw et al., 2022**). Par ailleurs, le stockage domestique de l'eau sans les normes d'hygiène appropriées favorise la multiplication des agents pathogènes. Ces facteurs mettent en évidence le besoin urgent d'améliorer l'accès à de l'eau potable sûre et à des installations sanitaires (**Wright et al., 2004**).

I.3. Méthodes classiques de conservation des jus et leurs limites

I.3.1. Traitements thermiques

Il est important de noter que chaque produit alimentaire possède ses propres caractéristiques physico-chimiques, ce qui implique qu'il nécessite un traitement thermique spécifique. La température et la durée optimales varient selon la nature du jus, sa teneur en sucre, en acide, et sa charge microbienne initiale. Un traitement trop intense peut altérer la qualité nutritionnelle et sensorielle du produit, tandis qu'un traitement insuffisant peut ne pas garantir la sécurité microbiologique souhaitée (**Kharat et al., 2023**).

I.3.1.1. Pasteurisation à basse température et longue durée (LTLT)

Elle est effectuée à 63 °C pendant 30 minutes, la pasteurisation LTLT permet de préserver la qualité sensorielle des produits, mais peut entraîner une perte notable de vitamines sensibles à la chaleur comme la C, B6 et B9. Cette réduction a été notamment observée dans le lait maternel, affectant ainsi sa valeur nutritionnelle (**MacDonald et al., 2011**).

I.3.1.2. Pasteurisation à haute température et courte durée (HTST)

Le traitement HTST est réalisé à 72–74 °C pendant 15 à 20 secondes. Il est spécifiquement conçu pour inactiver *Coxiella burnetii*, une bactérie très résistante à la chaleur, considérée comme le microorganisme de référence pour ce procédé (Rabbani et al., 2025).

I.3.1.3. La stérilisation

La stérilisation est un traitement intensif effectué à 110–125 °C pendant 10 à 20 minutes ou à 125 °C pendant 5 minutes. Elle élimine toutes les bactéries non sporulées, mais n'est pas toujours suffisante contre les spores très résistantes (Rabbani et al., 2025).

I.3.1.4. UHT - Traitement à ultra-haute température

- Chauffage indirect

Ce procédé chauffe le produit à des températures de 130 à 145 °C pendant 5 à 20 secondes. Il permet de détruire des agents pathogènes très résistants comme *Clostridium botulinum*, *Coxiella burnetii* et les endospores bactériennes, tout en limitant le contact direct avec la source de chaleur (Rabbani et al., 2025).

- Chauffage direct

Dans ce cas, les aliments sont exposés directement à une vapeur très chaude, entre 142 et 150 °C, pendant 2 à 6 secondes. Ce traitement élimine les spores bactériennes thermorésistantes tout en réduisant la dégradation chimique du produit, notamment au niveau du goût et des nutriments (Rabbani et al., 2025).

I.3.1.5. ISI – Innovative Steam Injection

Ce procédé innovant repose sur l'injection de vapeur à très haute température (160–180 °C) pendant une durée extrêmement courte (0,1 seconde). Il est spécifiquement conçu pour détruire les spores très résistantes à la chaleur tout en préservant la qualité du produit. (Rabbani et al., 2025).

I.3.1.6. Pasteurisation ESLP (Extended Shelf Life Pasteurization)

Cette pasteurisation vise à prolonger la durée de conservation des produits alimentaires. Elle est effectuée à des températures très élevées, entre 125 et 140 °C, pendant 1 à 10 secondes. Elle cible un large spectre de microorganismes, notamment les bactéries psychrotrophes, mésophiles et non sporulées (Rabbani et al., 2025).

I.3.1.7. Flash pasteurisation

Ce procédé consiste à chauffer le produit à une température élevée, entre 72 et 80 °C, pendant une courte durée de 15 à 30 secondes. Il permet de détruire efficacement les bactéries pathogènes non sporulées et les psychrotrophes, tout en limitant les altérations organoleptiques du produit (**Rabbani et al., 2025**).

I.3.1.8. Thermisation

La thermisation est un traitement thermique doux appliqué à des températures comprises entre 57 et 68 °C pendant 5 secondes à 30 minutes. Elle vise à réduire la charge microbienne en éliminant principalement les bactéries pathogènes non sporulées ainsi que les bactéries psychrotrophes (**Rabbani et al., 2025**).

I.3.2. Les inconvénients de la pasteurisation

Bien que la pasteurisation soit cruciale pour la sécurité microbiologique des aliments, elle peut induire plusieurs modifications indésirables. Parmi celles-ci figurent la réduction de certaines vitamines hydrosolubles (**Samaržija et al., 2012**), l'altération des protéines et une possible baisse de leur digestibilité (**Lorenzen et al., 2021**), l'augmentation du potentiel allergénique (**Abbring et al., 2019**), la perte de composés bioactifs bénéfiques (**Brodziak et al., 2018**) ainsi que des modifications des propriétés sensorielles telles que le goût, l'odeur et la texture (**Tian et al., 2021**).

I.3.3. Besoin d'alternatives innovantes

Face à l'augmentation des cas d'intoxications alimentaires et aux exigences intensifiées des consommateurs pour des produits « légèrement transformés », le besoin de solutions autres que la pasteurisation thermique s'impose désormais comme une nécessité. Effectivement, les méthodes de chauffage traditionnelles comme la pasteurisation ou la stérilisation peuvent affecter la couleur, les saveurs distinctives et la valeur nutritive des aliments. Pour surmonter ces limitations, des technologies innovantes sans chaleur (Figure 2), telles que les ultrasons, ont été étudiées afin de garantir la sécurité microbiologique tout en maintenant les propriétés organoleptiques des produits alimentaires (**Lauteri et al., 2023**).

Ces méthodes autorisent un traitement à température ambiante ou sublétales, ce qui minimise l'effet sur les nutriments et la texture, tout en allongeant la durée de vie des produits alimentaires (Lauteri et al., 2023).

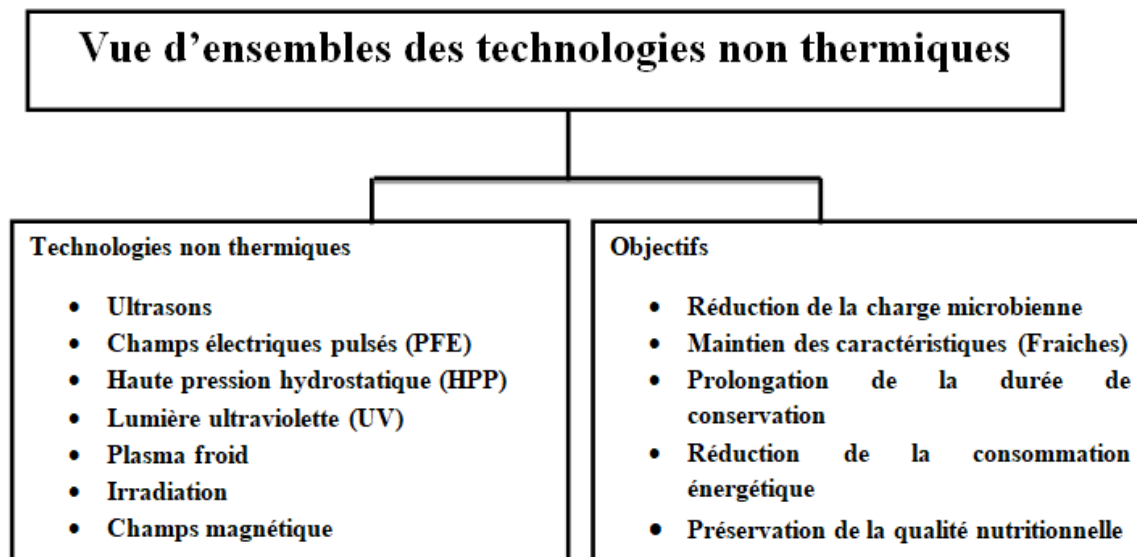


Figure 2 : Vue d'ensemble des technologies non thermiques (Lauteri et al., 2023).

I.4. Principe et applications des ultrasons

I.4.1. Historique des ultrasons

La découverte des ultrasons revient à Pierre Curie en 1880 pendant son étude sur l'effet piézoélectrique (Shankar et Pagel, 2011).

Depuis leur découverte, les ultrasons ont trouvé de nombreuses applications dans divers domaines, notamment la communication animale, la détection de défauts dans les structures, la chimie et la médecine (Dolatowski et al., 2007; Mason., 2003).

Leur utilisation s'appuie sur le phénomène de cavitation, observé pour la première fois en 1894 par Thornycroft et Barnaby, qui ont constaté la formation de bulles d'implosion causées par les vibrations lors de la propulsion de projectiles en mer (Martines et al., 2000).

I.4.2. Définition et principe

Les ultrasons sont induits par des ondes sonores mécaniques générées par des mouvements moléculaires vibrants à travers un milieu de transmission. Leur fréquence est extrêmement élevée, atteignant une fréquence supérieure ou égale à 20 KHz. Les ultrasons dits « de puissance », fonctionnant entre 20 et 100 kHz (figure 3), sont suffisamment

énergétiques pour induire un phénomène de cavitation, un mécanisme exploité pour inactiver les bactéries (Gallo *et al.*, 2018 ; Piyasena *et al.*, 2003).

Ultrasons haute fréquence : Également connus sous le nom d'ultrasons à fréquence élevée, ceux-ci sont principalement utilisés pour des tâches de diagnostic et de nettoyage, grâce à leurs fréquences généralement supérieures à 1 MHz (Yu *et al.*, 2014).

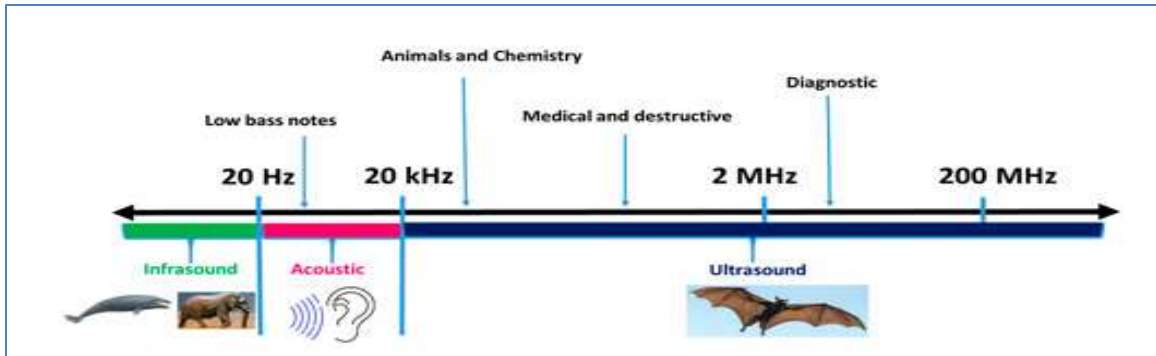


Figure 3 : Diagramme des gammes d’ultrasons (Prasad chavan *et al.*, 2022).

I.4.3. Mécanismes d’action sur la matière

Les ultrasons exercent leurs effets principalement par un phénomène appelé cavitation acoustique, lorsqu’une onde ultrasonique traverse un liquide, elle engendre la formation, la croissance puis l’implosion des microbulles de gaz. Cette implosion libère une énergie considérable sous forme de hautes températures ayant jusqu’ à 5000 °C et de fortes pressions de 1000 atm, créant ainsi un microenvironnement hautement réactif cela engendre une perturbation de la membrane cellulaire favorisant la lyse bactérienne (figure 4 ,5) (Chemat *et al.*, 2011).

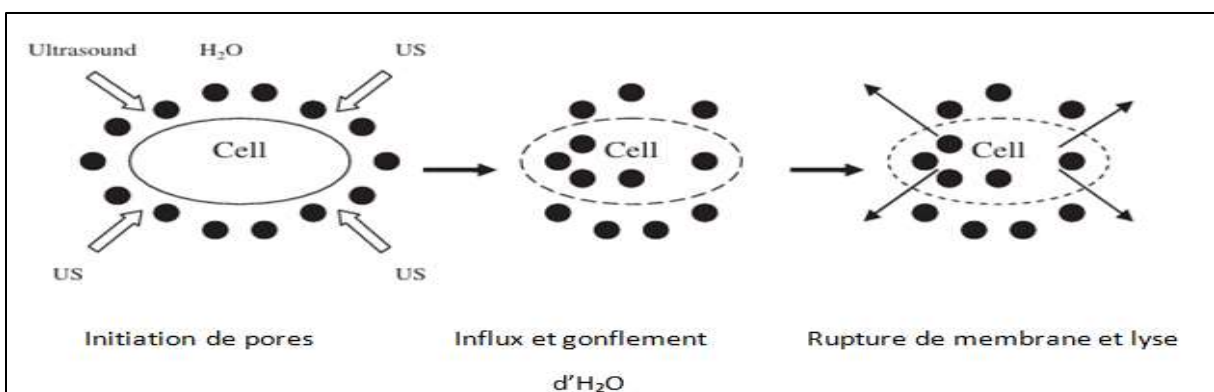


Figure 4 : Mécanisme des dommages cellulaires induits par les ultrasons (Chemat *et al.*, 2011).

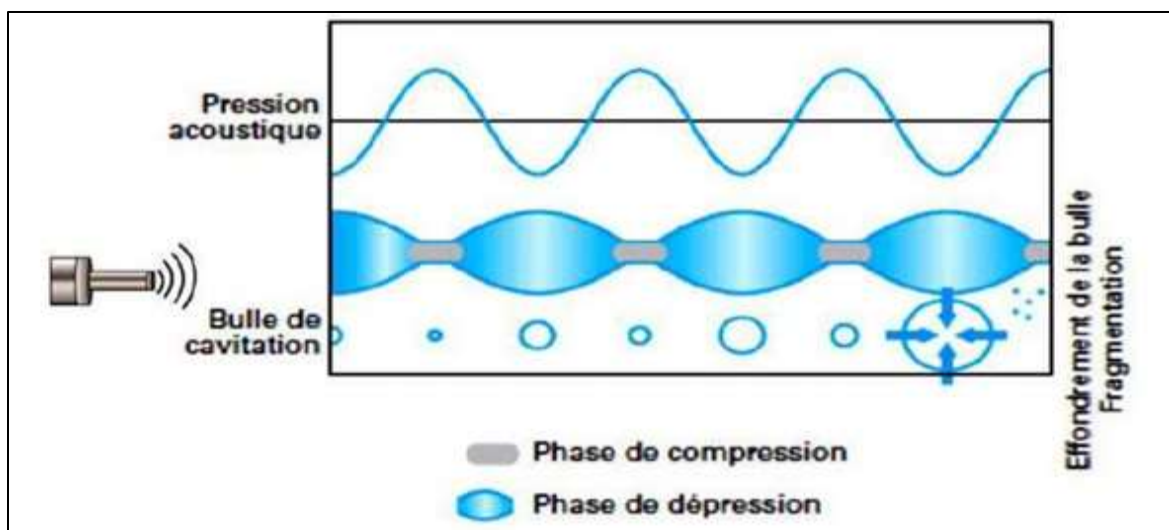


Figure 5 : La croissance de l'implosion d'une bulle de cavitation (Behling et al., 2016).

I.4.4. Applications industrielles dans l'agroalimentaire

Les ultrasons constituent une technologie innovante aux multiples applications dans l'agroalimentaire, notamment pour la transformation, la conservation et l'extraction. Ils agissent par des mécanismes physiques (cavitation, agitation) et chimiques (formation de radicaux libres), offrant ainsi une meilleure efficacité que les méthodes conventionnelles (Chemat et al., 2011).

Ils sont particulièrement efficaces pour l'extraction de composés bioactifs comme les polyphénols (Toma et al., 2013), la réduction de viscosité ou l'amélioration des textures (Ashokkumar et al., 2009). Dans l'agro-industrie, l'extraction assistée par ultrasons permet aussi de valoriser les coproduits, tels que les graines de dattes, en extrayant rapidement des antioxydants à l'aide de solvants sûrs comme l'eau ou l'éthanol (Barba et al., 2016 ; Chemat et al., 2019 ; Lucas-González et al., 2024).

Cette méthode est facilement industrialisable grâce aux sonotrodes, plus puissants que les bains ultrasonores (Aznar-Ramos et al., 2022 ; Kumar et al., 2021).

I.4.5. Effets des ultrasons sur les microorganismes

I.4.5.1. Mécanismes d'inactivation microbienne

L'inactivation microbienne par ultrasons repose principalement sur le phénomène de cavitation, qui implique la formation, la croissance et l'effondrement de microbulles de gaz dans un liquide. Cette cavitation génère des forces de cisaillement, des turbulences, des températures extrêmes et des pressions très élevées, ce qui entraîne la formation de

radicaux libres. Ces derniers peuvent se recombinaison pour former du peroxyde d'hydrogène, capable d'endommager les structures cellulaires et d'inactiver certaines enzymes (Dolas et al., 2019 ; Yang et al., 2011).

D'après Dolas et al (2019), divers processus expliquent cette inactivation : l'altération des éléments cellulaires par des impacts micromécaniques, la génération de radicaux libres qui s'attaquent à l'ADN, ainsi que la création de peroxyde d'hydrogène. Tous ces facteurs ont un effet bactéricide et freinent le développement microbien. La figure 6 démontre ces processus.

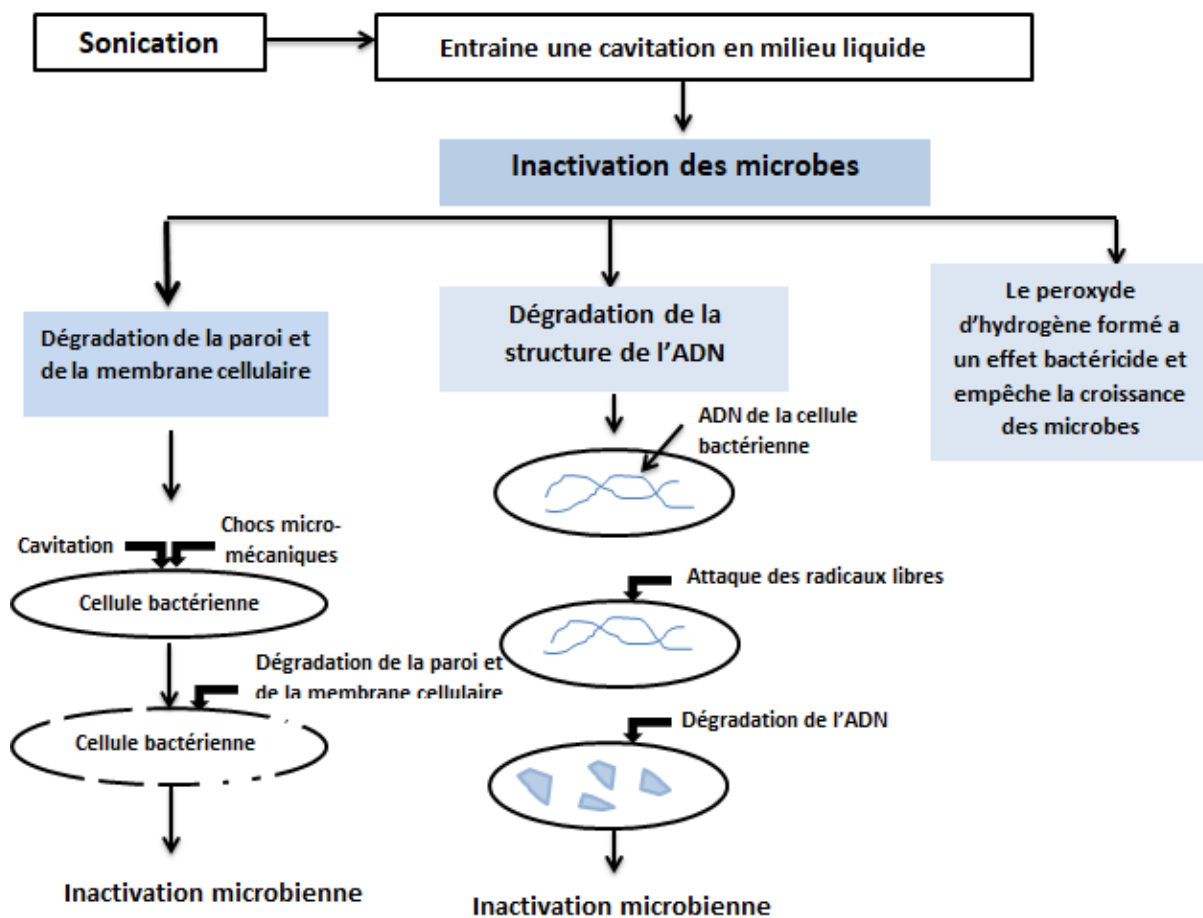


Figure 6 : Mécanisme d'inactivation microbienne par ultrasons (Dolas et al.,2019).

Le tableau II résume les effets des ultrasons sur les cellules microbiennes (Piyasena et al.; 2003).

Tableau II: Effets des ultrasons sur les cellules microbiennes (Piyasena et al.; 2003)

Ultrasons	Effets sur les cellules bactériennes
Cavitation	<ul style="list-style-type: none"> - Amincissement des bactéries - Formation de pores et perturbation des membranes cellulaires - Rupture de la structure de la paroi cellulaire et libération du contenu cytoplasmique
Destruction par les radicaux libres	- Rupture et fragmentation de l'ADN

I.4.5.2. Facteurs influençant l'efficacité des ultrasons

Plusieurs facteurs contribuent à l'efficacité des ultrasons dans la destruction des micro-organismes, à savoir :

Caractéristiques des micro-organismes : il est communément admis que la sensibilité de certains micro-organismes augmente avec la taille des cellules. Par exemple, les bacilles sont plus sensibles à différents types de bactéries qu'aux cocci. D'autre part, les bactéries aérobies sont plus susceptibles d'être résistantes à certains types de bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Sala et al., 1995).

La composition du milieu de traitement joue un rôle déterminant par exemple le lait exerce un effet protecteur tandis qu'un Ph acide peut augmenter l'inactivation microbienne (Pagan et al., 1999).

Durée du traitement : comme pour la majorité des procédés physique plus la durée d'application est longue plus la réduction microbienne est importante suivant une relation exponentielle (Patil et al., 2009).

Amplitude : une augmentation de l'amplitude du signal améliore significativement l'inactivation microbienne (Pagan et al., 1999).

Température et pression : Bien que l'élimination des germes lors de la production alimentaire ne puisse pas encore être réalisée à l'aide d'ultrasons, elle peut être efficace lorsqu'elle est combinée à la pression et à la chaleur (Wrigley et lorca., 1992).

I.4.5.3. Effet sur la qualité des produits

Les ultrasons de puissance, via le phénomène de cavitation, sont largement utilisés en agroalimentaire pour leurs effets antimicrobiens (**Knorr et al., 2004 ; Villamiel et al., 2000 ; Yu et al., 2012**) et leur rôle dans divers procédés technologiques. Ils améliorent notamment la cristallisation (**Luque et al., 2007**), l'extraction de composés bioactifs (**Chemat et al., 2017 ; Vinatoru et al., 2001**), la filtration (**Tao et al., 2015**), la congélation (**Kiani et al., 2011**), ainsi que le mélange et l'homogénéisation (**Mason et al., 2005**).

Ils permettent aussi de stabiliser les émulsions (**Wu et al., 2000**), d'inactiver certaines enzymes (**Delgado et al., 2015 ; Huang et al., 2017**) et d'assurer le nettoyage efficace des équipements dans les industries alimentaires (**Allan et al., 2008 ; Kouba et al., 2018**). Ces applications contribuent à améliorer la qualité et la conservation des aliments.

Chapitre II
Matériels et méthodes

II.1. Lieu de réalisation des expériences

Les expériences ont été réalisées au sein du Laboratoire de Microbiologie du département de Biotechnologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, à l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa.

II.2. Préparation du jus de carotte

La préparation du jus de carotte a été réalisée selon un protocole rigoureux, intégrant des mesures d'hygiène strictes pour minimiser la contamination microbienne initiale. Les carottes fraîches (variété *Daucus carota*) ont été soumises à un lavage initial à l'eau, suivi d'un épluchage mécanique. Un second lavage à l'eau distillée a été effectué afin de réduire davantage la charge microbienne superficielle. Les carottes ont ensuite été découpées en fragments de 1–2 cm³ à l'aide d'un couteau stérilisé, puis broyées à l'aide d'une centrifugeuse électrique fruit et légumes (Maxipower) à vitesse maximale. Le broyat a été filtré à travers un filtre stérile en acier inoxydable.

Une dilution au rapport volumique de 80:20 (jus: eau distillée) a été réalisée pour standardiser la matrice. Le jus dilué a été pasteurisé à 80 ± 1 °C pendant une durée de 6 à 8 minutes dans un bain-marie thermostaté (Negri Rodríguez et al., 2021) puis conditionné aseptiquement dans des flacons en verre couvert de papier aluminium. Les échantillons ont été stockés à une température de 4 ± 1 °C pendant huit jours.



Figure 7 : Centrifugeuse utilisée pendant l'extraction du jus de carotte.

II.3. Cultures d' *Escherichia coli* et inoculation

Cinq colonies d'*Escherichia.coli* ATCC 25922 ont été prélevées à partir d'une boîte de Pétri contenant du milieu EMB (Éosine Bleu de Méthylène), puis transférées dans 9 mL de bouillon nutritif et incubées pendant 24 heures à 37 °C. Une pré-culture a ensuite été préparée en inoculant 5 % (v/v) de cette culture dans du jus de carotte, suivie d'une incubation à 37 °C pendant 18 heures. Par la suite, 10 mL de cette pré-culture ont été inoculés dans 90 mL de jus de carotte pasteurisé, répartis dans des flacons. Cette procédure visait à atteindre une concentration bactérienne finale de 10^{12} UFC/mL (AMIR *et al.* , 2021), confirmée par des dénombrements cellulaires précis.

Bien que cette concentration dépasse les valeurs généralement rapportées dans la littérature pour la croissance naturelle d'*E. coli* ATCC 25922 en milieu liquide (Madigan *et al.*, 2021), cette approche a permis d'étudier l'impact d'une charge bactérienne élevée sur la qualité microbiologique et la stabilité du jus de carotte pasteurisé. De plus, un scénario extrême a été retenu pour évaluer l'efficacité des ultrasons, afin de garantir la robustesse des résultats obtenus. Ce choix méthodologique vise à simuler des conditions extrêmes de contamination, rarement rencontrées en pratique mais essentielles pour évaluer la capacité du procédé à garantir la sécurité microbiologique du produit même dans les situations les plus défavorables.



Figure 8 : Prélèvement *E. coli* sur milieu EMB.

II.4. Traitement à ultrason

Le jus inoculé a été traité à l'aide d'un appareil de sonication VC750 (Sonics & Materials, Inc., 53 Church Hill Rd, Newtown, CT, U.S.A.), d'une puissance de 750 W et fonctionnant à une fréquence de 20 kHz. En appliquant la méthode de **Cruz-Cansino et al (2016)** avec quelques ajustement, nous avons opté à des niveaux d'amplitudes de 60 %, 70 %, 80 % et 90 % pendant 1, 3 , 5 et 7 minutes avec des pulsations de 5 secondes en marche suivies de 5 secondes d'arrêt.



Figure 9 : Image de l'appareil à ultrason utilisée pendant les expériences d'inactivation.

Des aliquotes de 1 ml de jus ont été réparties dans des eppendorfs de 1,5 ml et analysées pour déterminer la survie microbienne immédiatement après le traitement par ultrasons (jour 0). Un échantillon inoculé non traité a servi de témoin. Les échantillons ont été ensuite conservés à 4 °C jusqu'à leur analyse après 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8 jours de stockage. Les températures avant et après le traitement par ultrasons ont été également mesurées.

Tableau III: Conditions du traitement par ultrasons de jus de carotte inoculé avec *Escherichia coli* .ATCC 25922.

Traitement		Températures	
Amplitude	Temps (min)	Température d'entrée (°C)	Température de sortie (°C)
60%	1	23,6	28,4
	3	23,6	33,3
	5	23,6	38,0
	7	23,6	45,6
70%	1	23,6	28,1
	3	23,6	35,4
	5	23,6	41,4
	7	23,6	48,7
80%	1	23,6	28,8
	3	23,6	37,4
	5	23,6	44
	7	23,6	52,6
90%	1	23,6	30
	3	23,6	39,4
	5	23,6	47,2
	7	23,6	55,8

II.5. Incubation des échantillons traités et estimation de la survie

Immédiatement après l'application du traitement par ultrasons, les flacons contenant 100 mL de suspension bactérienne ont été immergés dans un bain de glace pour stopper instantanément l'effet résiduel de la température sur la cellule bactérienne. Le dénombrement microbien a été réalisé selon un protocole standardisé : des prélèvements aseptiques ont été effectués post-traitement, suivis de dilutions décimales en série dans une solution physiologique stérile (NaCl 0,9 %).

Chaque dilution a été étalée sur milieu EMB (Éosine Bleu de Méthylène). Après une incubation de 24 heures à 37 °C, le comptage des unités formant colonies (UFC) a été effectué.

II.6. Détermination des paramètres physico-chimiques

II.6.1. Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre, calibré avec une solution tampon. Un volume suffisant de jus de carotte a été prélevé pour permettre l'immersion de l'électrode, et la valeur du pH a été notée. Trois lectures ont été réalisées pour chaque essai immédiatement après le traitement par ultrasons (jour 0) et à la fin du stockage (jour 8).

II.6.2. Matières solides solubles (Brix)

Le réfractomètre est un appareil de mesure qui permet de déterminer l'indice de réfraction de la lumière d'une matrice solide ou liquide. Cet indice dépend de la nature du milieu dans lequel il se propage et se manifeste par la déviation d'un faisceau lumineux du milieu dans lequel il se propage. L'angle de déviation du faisceau dépend de la concentration en matière sèche soluble (saccharose) dans le milieu : plus cette concentration est élevée, Plus la réfraction est importante (**Zentile et al., 2024**). Les solides solubles ont été mesurés à l'aide d'un réfractomètre, et l'indice de réfraction a été enregistré et converti en °Brix. Ce dernier a été mesuré juste après le traitement par ultrason (jour0) et à la fin du stockage (jour8).

II.6.3. Acidité Titrable

Il consiste en un titrage de l'acidité par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) en présence de phénolphthaléine, qui sert d'indicateur coloré (**NF V05-101, 1974**).

Tout en agitant, prélever 10 ml de jus et 40ml d'eau distillée dans un bécher, puis ajouter 1 ml (2 %) de solution de phénolphthaléine. Tout en agitant, Verser ensuite la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1 N à l'aide d'une burette, jusqu'à obtention d'une couleur rose. L'acidité titrable a été mesurée immédiatement après le traitement à ultrason (jour 0) et à la fin du stockage (jour 8).

L'acidité titrable a été calculée à l'aide de la formule générale suivante :

$$\text{Acidité (g/L)} = (V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times F \times 1000) / V_{\text{échantillon}}$$

où :

V_NaOH : volume de NaOH utilisé (mL)

N_NaOH : normalité de la solution de NaOH (mol/L)

F : facteur de conversion en acide citrique (0,64 g/mol)

V_échantillon : volume de l'échantillon analysé (mL)

Dans le cadre de cette étude, la formule a été simplifiée comme suit :

$$\text{Acidité(g/L)} = V \times 0,64$$

où V représente le volume de NaOH (en mL) utilisé lors du titrage.

0.64 : est le coefficient d'acidité

II.6.4. Dosage de la vitamine C

La teneur en acide ascorbique est mesurée par la méthode de titration au 2,6-dichlorophénol-indophénol (2,6-DCPIP). La méthode consiste en une réduction du 2,6-DCPIP et en une oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique. Elle permet donc une détermination de la teneur en vitamine C sous sa forme réduite (acide ascorbique). Une fois que l'oxydation de l'acide ascorbique est terminée, le 2,6-DCPIP sert d'indicateur coloré et sa présence en solution donne une couleur rose caractéristique (AOAC, 1984). La vitamine C a été mesurée immédiatement après le traitement à ultrason (jour 0) et à la fin du stockage (jour 8).

Un volume de 5 ml de jus a été prélevé et versé dans un bécher, puis dilué avec 10 ml d'eau distillée. La solution a ensuite été titrée en ajoutant progressivement la solution de DCPIP jusqu'à l'apparition d'un changement de couleur persistant, indiquant la fin de la réaction.

II.7. Observation microscopique d'*E. Coli* ATCC 25922

Une coloration simple au bleu de méthylène a été effectuée conformément à la méthode décrite par **Cheesbrough (2006)** sur les échantillons témoins, immédiatement après traitement, puis aux jours 4 et 7 j du stockage.

Cette étape permet de vérifier l'intégrité cellulaire et la morphologie des bactéries après traitement.

Un frottis a été préparé en déposant une goutte du jus de carotte inoculé sur une lame de verre propre. La goutte a été soigneusement étalée à l'aide d'une anse stérile pour obtenir une couche mince. Le frottis a été fixé en le passant brièvement à la flamme d'un bec bunsen.

Après refroidissement, la lame a été recouverte de bleu de méthylène pendant 2 à 3 min éliminé en rinçant délicatement à l'eau distillée. La lame a ensuite été séchée à l'air libre et observée au microscope optique à l'objectif $\times 100$ avec huile à immersion.

II.8. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type de trois essais. L'analyse statistique est effectuée pour identifier la présence ou l'absence de différences significatives dans les cinétiques de croissance bactérienne, paramètres physicochimiques. Pour cela, le logiciel JMP 18 est utilisé, notamment pour réaliser l'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA) entre ces différents échantillons. L'analyse comparative des cinétiques de croissance au cours du stockage a été réalisée à l'aide du test post hoc HSD de Tukey, tandis que la comparaison par rapport au témoin a été effectuée par ANOVA suivie du test post hoc de Dunnett ; les résultats sont classés par ordre croissant : $a > b > c$. Les valeurs partagées par la même lettre ne présentent aucune différence statistique significative, et les barres verticales représentent les écarts types.

Les corrélations entre les paramètres étudiés sont calculées en utilisant la matrice de corrélation ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$).

Chapitre III
Résultats et discussion

III.1. Impact de la charge microbienne initiale sur la cinétique de croissance d'*E. coli* ATCC 25922 dans le jus de carotte.

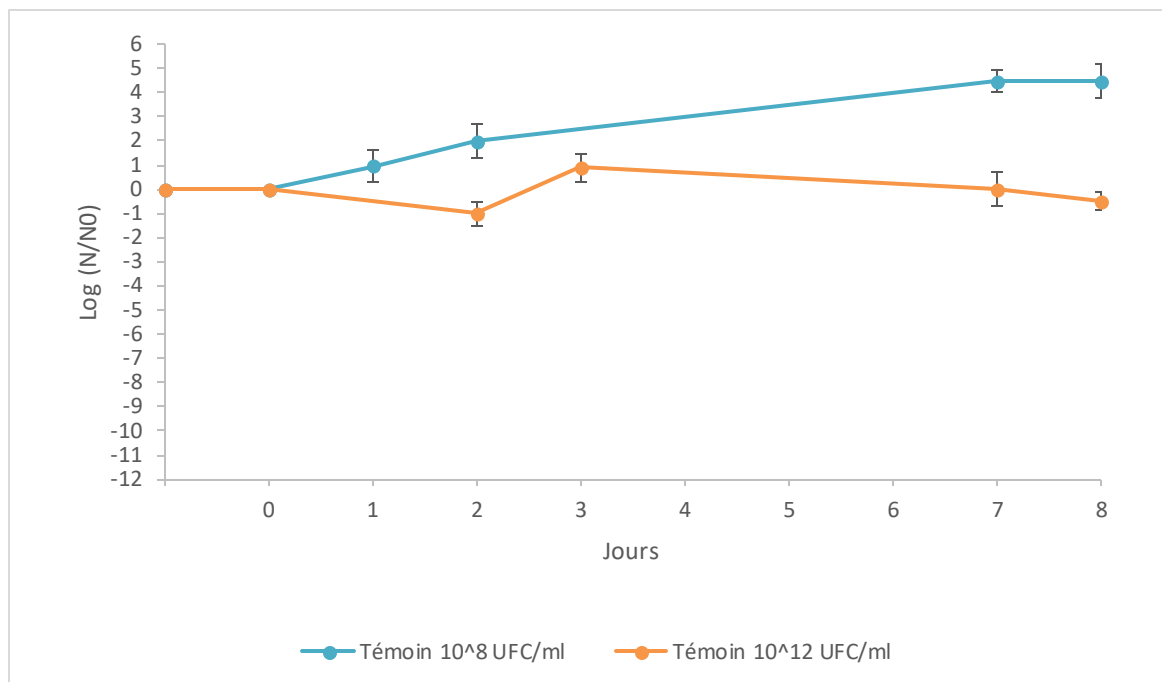


Figure 10 : Évolution de la croissance d'*E. coli* ATCC 25922 en fonction de la charge initiale dans le jus de carotte pendant le stockage.

L'analyse des échantillons témoins en fonction de la charge microbiologique initiale révèle deux dynamiques de croissance distinctes (Figure 10). Le témoin faiblement contaminé (10^8 UFC/ml) présente une croissance exponentielle continue, avec une augmentation de 5 log après 8 jours de stockage, ce qui indique que le jus de carotte fournit un environnement riche en nutriments propice à la croissance d'*E. coli* (Charfi et al., 2023 ; Nasilowska et al., 2022). D'autre part, le témoin fortement contaminé (10^{12} UFC/mL) maintient une population stable qui oscille autour de 1 log, puis diminue légèrement à la fin du stockage, démontrant l'effet de limitation de la densité cellulaire élevée par l'épuisement des nutriments et l'accumulation de métabolites inhibiteurs (Nasilowska et al., 2022).

III.2. Traitement à ultrasons

III.2.1. Traitement à 60% d'amplitude

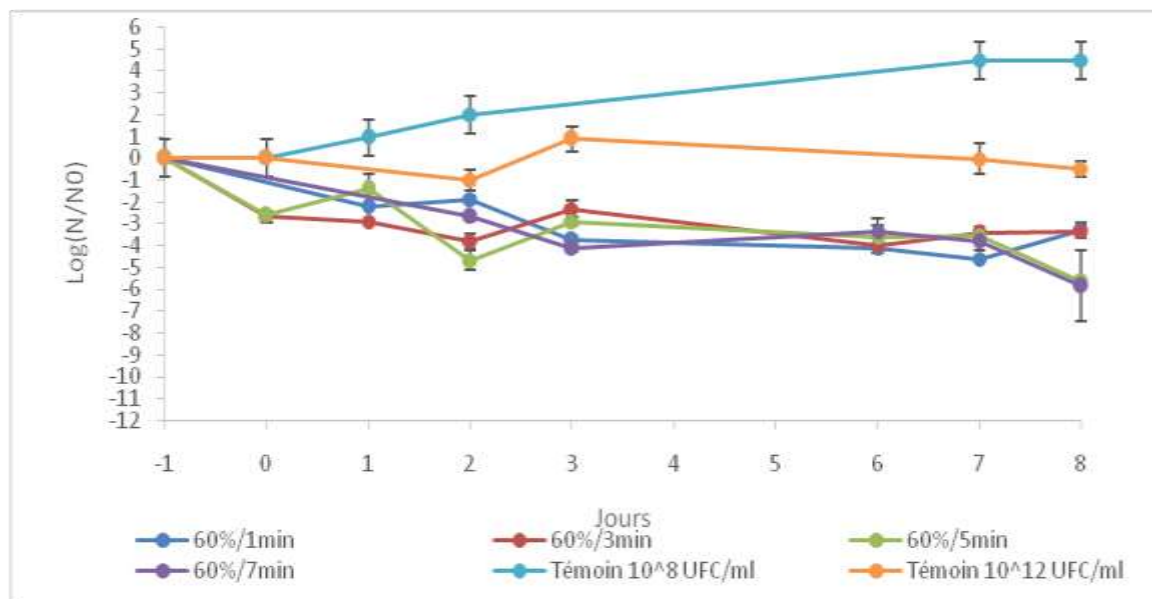


Figure 11 : Survie et croissance *d'E. coli* ATCC 25922 pendant le stockage de jus de carotte traité par ultrasons à un niveau d'amplitude 60 % pendant 1 , 3, 5 et 7 minutes.

L'analyse de la figure 11 révèle que les durées de traitement de 3, 5 et 7 min permettent une réduction bactérienne de l'ordre de 3 à 4 logs justes après traitement. Cette réduction se maintient de manière stable, voire s'accroît légèrement, jusqu'au huitième jour de stockage. Le traitement de 7 min présente l'efficacité la plus marquée avec une tendance à la poursuite de l'inactivation au cours du stockage.

En revanche, le traitement de 1 minute s'est effectivement révélé insuffisant, montrant une réduction initiale limitée à environ 1 log suivie d'une relative stabilisation de la croissance d'*E.coli*. La température d'entrée avant le traitement était de 23,6 °C. Après le traitement, une élévation progressive de la température a été observée, atteignant respectivement 28,4 °C, 33,3 °C, 38 °C et 45,6 °C pour des durées de 1, 3, 5 et 7 minutes respectivement.

Ces résultats diffèrent de ceux rapportés par **Cruz-Cansino et al (2016)**, qui ont également appliqué des ultrasons à 60 % d'amplitude sur des jus de figue de barbarie.

Dans leur étude, les traitements de 1 à 5 minutes n'ont permis qu'une réduction modérée (1 à 3 log UFC/mL), accompagnée d'une reprise de croissance bactérienne dès le premier jour de stockage.

Cette divergence pourrait être attribuée aux différences de matrice (carotte vs figue de barbarie), de température atteinte après traitement (45,6 °C dans la présente étude contre >50 °C dans leur cas), ou encore à des interactions spécifiques entre le jus et les cellules bactériennes.

Néanmoins, nos résultats suggèrent que, dans le jus de carotte, un traitement de 5 à 7 minutes à 60 % d'amplitude constitue une stratégie efficace pour la maîtrise d'*E. coli* sur le moyen terme. (Obtention d'efficacité avec des températures plus basse).

III.2.2. Traitement à 70% d'amplitude

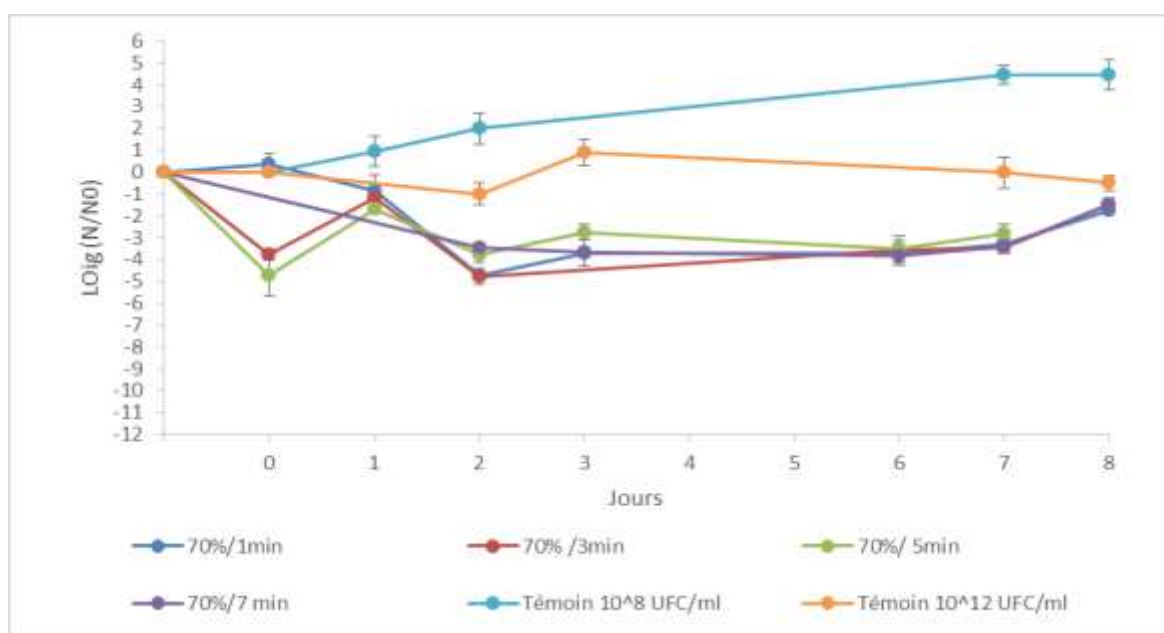


Figure 12 : Survie et croissance d'*E. coli* pendant le stockage de jus de carotte traité par ultrasons à un niveau d'amplitude 70 % pendant 1, 3, 5 et 7 minutes.

Les données de la figure 12 montrent que le traitement d'une minute entraîne une réduction d'environ 2 log, avec une stabilité observée lors du stockage. En prolongeant la durée à 3 minutes, la réduction atteint un maximum d'environ 4,5 log, ce qui correspond à l'efficacité la plus élevée parmi les traitements testés à cette amplitude.

Un traitement de 5 minutes permet une réduction d'environ 4 log, tandis qu'une exposition de 7 minutes aboutit à une diminution d'environ 3,5 log, se révélant ainsi moins efficace que les traitements de 3 min 4.5 Log et 5 min (4 log). Ce fait est dû, en partie, à l'effet de declumping provoqué par les ultrasons : autour de 3 min et 5 min, les amas bactériens sont efficacement dispersés, ce qui permet une meilleure exposition individuelle des cellules aux ondes ultrasonores.

Cette dispersion favorise une inactivation plus uniforme et plus efficace, expliquant pourquoi cette durée donne les meilleurs résultats.

La température d'entrée avant le traitement était de 23,6 °C. Après le traitement, une élévation progressive de la température a été observée, atteignant respectivement 28,1 °C, 35,4 °C, 41,4 °C et 48,7 °C pour des durées de 1, 3, 5 et 7 minutes respectivement.

Cet effet a également été rapporté dans d'autres travaux, notamment par **Joyce et al (2003)** et **Kernou et al (2022)**, qui ont souligné l'importance du declumping dans l'amélioration de l'efficacité des traitements ultrasoniques.

Dans l'article de **Cruz-Cansino et al (2016)**, les traitements à 70 % d'amplitude ont permis des réductions plus faibles : environ 1–2 log après 1 minute, 3 log après 3 minutes, et 4 log après 5 minutes. Toutefois, les bactéries ont recommencé à se développer dès le 1er ou 2e jour de stockage. Malgré des températures de traitement plus élevées dans leur étude, l'inactivation s'est révélée moins durable que dans notre expérience.

Cette observation met en évidence le fait que l'efficacité et la stabilité du traitement ultrasonique sont davantage déterminées par l'effet de declumping que par la température ou la durée de l'application.

III.2.3. Traitement à 80% d'amplitude

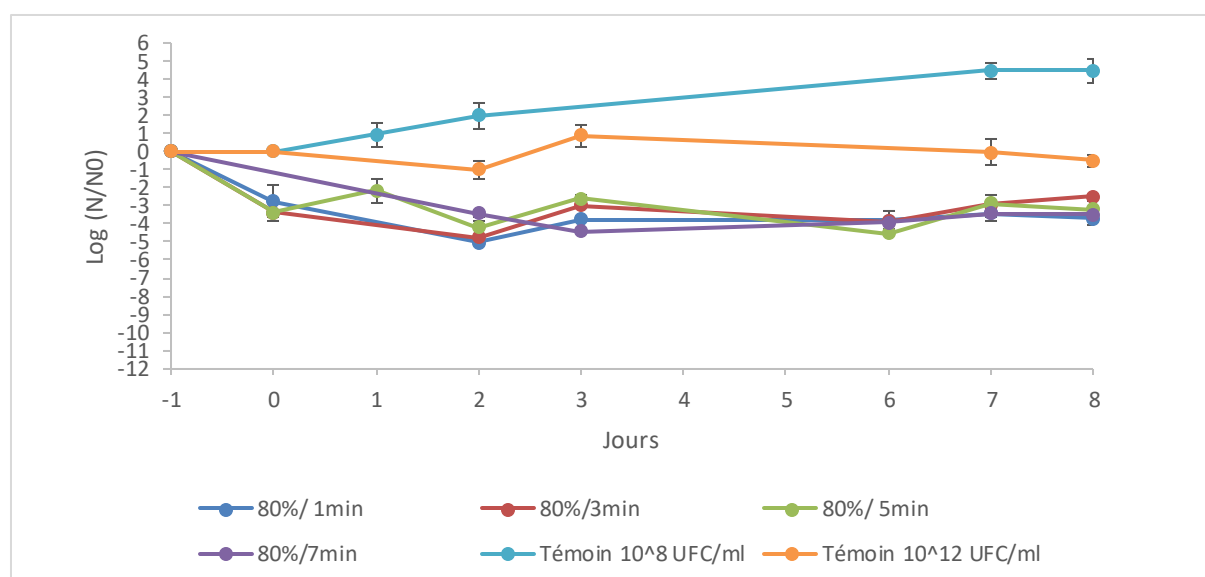


Figure 13 : Survie et croissance d'*E. coli* ATCC 25922 pendant le stockage de jus de carotte traité par ultrasons à un niveau d'amplitude 80 % pendant 1, 3, 5 et 7 minutes.

D'après la figure 13, Le traitement par ultrasons à 80 % d'amplitude entraîne une réduction significative de la charge microbienne d'*E. coli* dans le jus de carotte, avec des diminutions allant de -3 jusqu'à -4 log selon la durée d'exposition (1, 3, 5 ou 7 minutes). Cependant, cette réduction n'est pas suffisante pour assurer une inactivation totale des bactéries.

La température d'entrée avant le traitement était de 23,6 °C. Après le traitement, une élévation progressive de la température a été observée, atteignant respectivement 28,8 °C, 37,4 °C, 44 °C et 52 °C pour des durées de 1, 3, 5 et 7 minutes respectivement.

Un effet rebond est observé entre les jours 2 et 6, en particulier pour les traitements de 1 et 3 minutes, avec une stabilisation de la population microbienne autour de -3 à -4 log à partir du cinquième jour.

Après cet effet rebond observé dans les populations microbiennes, une phase de stabilisation est généralement constatée. Cette stabilité peut s'expliquer par le fait que certaines bactéries, affaiblies mais non totalement détruites par les ultrasons, parviennent à se réactiver.

Elles reprennent leur croissance après avoir été inactivées, puis atteignent un certain équilibre lorsque les conditions du milieu (quantité de nutriments, espace disponible, accumulation de déchets, etc.) ne permettent plus une multiplication rapide.

Ce phénomène a été clairement observé par **Cruz-Cansino et al (2016)**, qui ont montré que *E. coli* traitée par ultrasons dans du jus de figue de barbarie pouvait reprendre sa croissance après quelques jours de stockage, avant de se stabiliser. Cette reprise de croissance indique que l'efficacité du traitement à 80 % reste limitée et temporaire car il s'agit d'un effet bactériostatique qui ne permettrait donc pas de garantir une sécurité microbiologique sur le long terme.

Ce comportement est confirmé par d'autres travaux, notamment ceux de **Cruz Cansino et al (2016)**, où un traitement à 80 % à 1, 3, et 5 minutes de traitement dans le jus de figue de barbarie n'a pas empêché la réapparition des bactéries après quelques jours de stockage.

III.2.4. Traitement à 90% d'amplitude

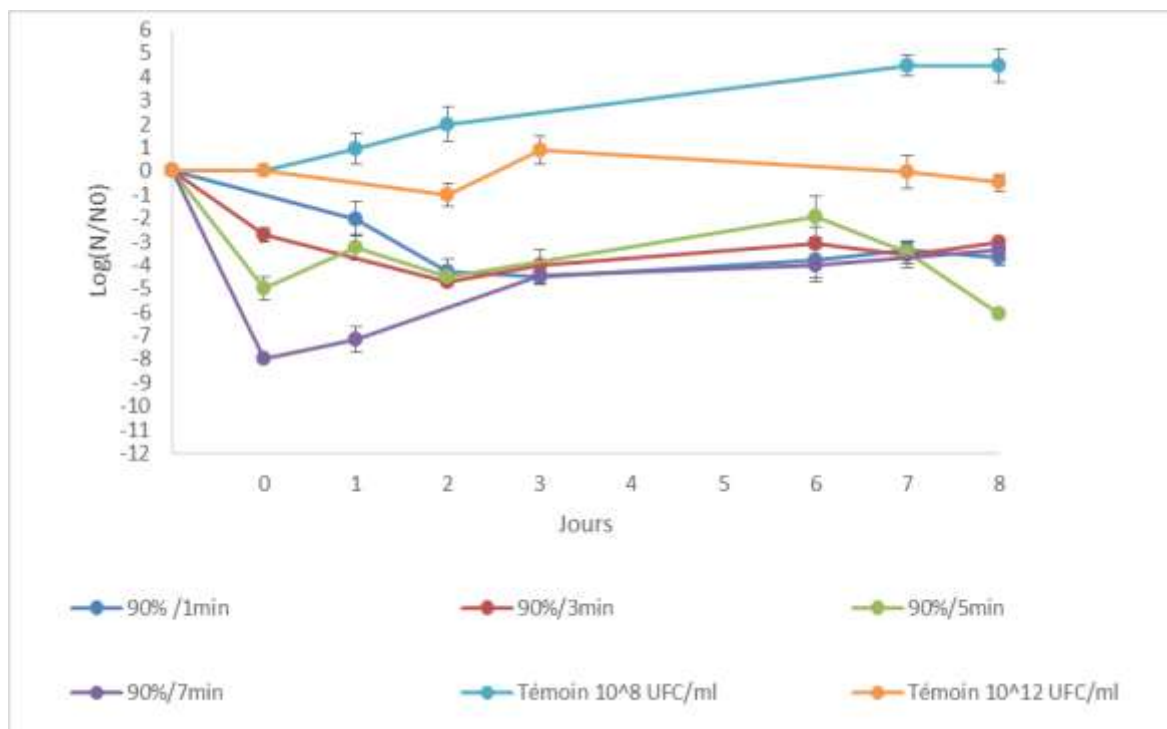


Figure 14 : Survie et croissance d'*E.coli* ATCC 25922 pendant le stockage de jus de carotte traité par ultrasons à un niveau d'amplitude 90 % pendant 1 , 3, 5 et 7 minutes.

Le traitement à 90% d'amplitude montre une efficacité variable selon la durée d'exposition. Le traitement de 7 min présente la réduction la plus importante avec environ - 8 log juste après traitement, suivi du traitement de 5 min (-5 log), du traitement de 3 min (- 3 log) et du traitement de 1 minute à environ -2,5 log.

La température d'entrée avant le traitement était de 23,6 °C. Après le traitement, une élévation progressive de la température a été observée, atteignant respectivement 30 °C, 39,4 °C, 47,2 °C et 55 ,8 °C pour des durées de 1, 3, 5 et 7 minutes respectivement.

Ces résultats sont en accord avec les critères d'innocuité recommandés par la FDA, qui exigent une réduction d'au moins 5 log de la population bactérienne Pour les traitements de 5mi et 7 min.

L'observation de l'effet rebond pour tous les traitements ultrasonores à 90% d'amplitude suggère que l'effet des ultrasons est principalement bactériostatique plutôt que bactéricide. Ce phénomène se manifeste par une diminution significative initiale de la population d'*E. coli*, en particulier pour le traitement de 7 minutes qui atteint -8 log après

traitement, suivi d'une récupération progressive et systématique de la charge microbienne dès le deuxième jour de stockage.

Cette tendance de récupération est motivée par divers mécanismes biologiques : les cellules bactériennes subissent des altérations subcellulaires réversibles (telles qu'une altération temporaire de la membrane plasmique, une perturbation des organites) sans une destruction totale de leur matériel génétique, ce qui favorise la réparation cellulaire et la reprise de la division une fois que les conditions redeviennent favorables (He et al., 2021).

En outre, les ultrasons induisent la formation de sous-populations de cellules blessées mais viables (VBNC - Viable But Non Culturable) qui ne peuvent pas être détectées par les méthodes de comptage traditionnelles, mais qui maintiennent leur capacité de régénération (Li et al., 2018).

Des travaux antérieurs, comme ceux de Cruz Cansino et al (2016) sur le jus de figue de Barbarie, confirment cette efficacité élevée des ultrasons à 90 %, d'une durée de 5min sans reprise bactérienne après traitement.

III.3. Analyse statistique

Tableau IV: Analyse statistique de l'étude.

		Inactivation Log (N/N0)
Témoins		-0,1057±0,3554 ^{Aaa}
Amplitudes	Temps (min)	
60%	1	-2,8455 ± 0,1792 ^{bBAB}
	3	-2,8125±0,2580 ^{cBAB}
	5	-3,0539±0,2496 ^{cBAB}
	7	-3,3033±0,4962 ^{cBAB}
70%	1	-2,2117±0,3659 ^{bBAB}
	3	-2,5968±0,3883 ^{bBAB}
	5	-2,7557±0,3951 ^{bBAB}
	7	-2,6471±0,2909 ^{bBAB}
80%	1	-3,2199±0,3265 ^{bBAB}
	3	-2,9083±0,2099 ^{bBAB}
	5	-2,8584±0,3333 ^{bBAB}
	7	-3,1060±0,2268 ^{bBAB}
90%	1	-3,67631±0,3457 ^{aBAB}
	3	-3,0150±0,3212 ^{aBAB}
	5	-4,143±0,3594 ^{aBB}
	7	-3,7893±0,4005 ^{aBAB}

^{a, b} différence significative par rapport au control (ANOVA followed by Dunnett's post hoc test).

^{A,B} différence significatif entre les traitement (test HSD de tukey) de la même amplitude.

^{A,B} Les mêmes lettres d'indice indiquent que les valeurs moyennes ne sont pas significativement différentes à un niveau de confiance de 95 % ($P \leq 0,05$) entre les deux amplitudes.

Les données présentées dans le tableau IV révèlent des tendances significatives dans l'efficacité antibactérienne des ultrasons selon l'amplitude et la durée de traitement. L'analyse statistique (ANOVA suivie des tests post-hoc de Dunnett et Tukey) met en évidence que l'amplitude à 90% produit les réductions bactériennes les plus importantes, avec une inactivation maximale de $-8 \log$ après 7 minutes de traitement. Cette performance dépasse significativement ($p \leq 0,05$) les autres amplitudes testées, confirmant que l'amplitude est un facteur déterminant dans l'efficacité antimicrobienne.

Notre étude se distingue par l'utilisation de durées de traitement ultrasonique allant jusqu'à 7 minutes, ce qui représente une approche innovante, rarement explorée dans la littérature. La majorité des travaux antérieurs, comme celui de **Cruz-Cansino et al (2016)**, se limitent à des durées maximales de 5 minutes. À notre connaissance, aucune étude n'a évalué l'effet d'un traitement de 7 minutes sur *E. coli* dans le jus de carotte ou d'autres matrices similaires.

Nos résultats montrent que ce traitement a permis une inactivation notable et stable dans le temps, ce qui en fait une piste intéressante à explorer. Cette contribution permet ainsi d'élargir les connaissances existantes et de proposer de nouveaux paramètres d'optimisation pour l'inactivation microbienne par ultrasons.

III.4. Observation microscopique

L'observation microscopique permet de voir directement les changements dans la forme, la taille et l'organisation des cellules bactériennes, tout en donnant un aperçu de leur viabilité après une exposition à différentes intensités d'ultrasons.

L'observation microscopique des échantillons traités par ultrasons (grossissement $\times 100$) révèle un rétrécissement notable des cellules bactériennes, suggérant une altération de leur structure. En comparaison, les cellules du témoin non traité apparaissent intactes, conservant leur morphologie initiale. Cette différence visuelle entre les échantillons

témoins et traités témoigne de l'effet destructeur des ultrasons sur l'intégrité cellulaire bactérienne.

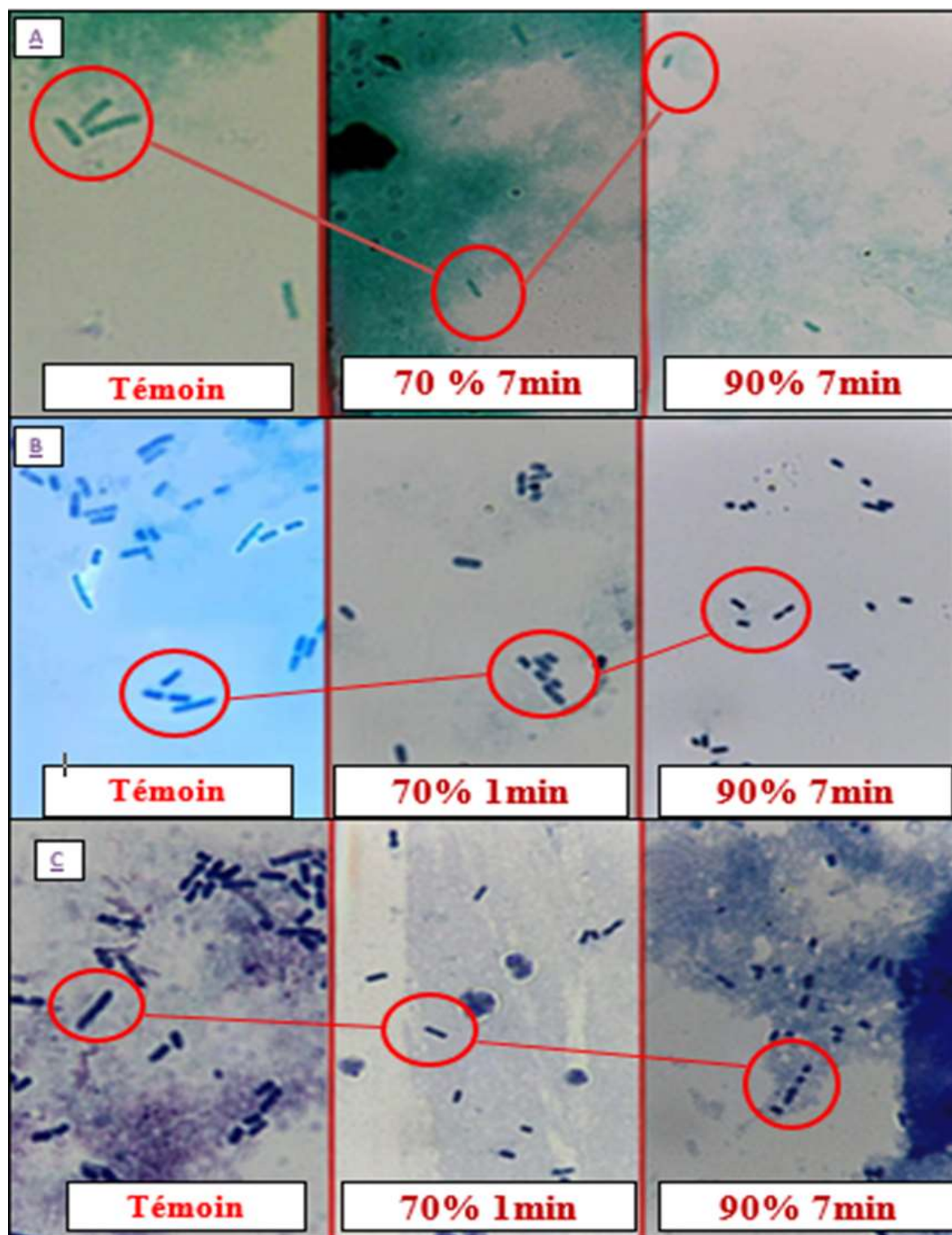


Figure 15 : Différentes observation microscopique d'*E.coli* ATCC 25922 . A : observation de J0 juste après traitement ; B : observation du quatrième jour après traitement (J4) ; C : observation du septième jour (J7).

Les ultrasons créent de petites bulles qui implosent près des cellules. Cette implosion génère des ondes de choc et des jets microscopiques qui altèrent la membrane de *E. coli*, provoquant déformations, trous et parfois destruction complète de la cellule, expliquant le rétrécissement observé au microscope (yang et al., 2021).

Les ultrasons induisent des pores temporaires dans la membrane, ce qui permet à l'eau et aux nutriments de s'échapper, entraînant un effondrement ou aplatissement visible de la cellule. De plus, une mort programmée de type apoptose peut être déclenchée à forte intensité (Li et al., 2018).

III.5. Paramètres physico-chimiques

III.5.1. Potentiel d'hydrogène (pH)

Tableau V: Variation de la valeur du pH pendant le stockage de jus de carottes

Paramètre	Jours		60%			70%			80%			90%		
		Contrôle	1min	5min	7min	1min	5min	7min	1min	5min	7min	1min	5min	7min
pH	0	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00	5,26±0,00
	8	5,30±0,00	5,19±0,00	5,20±0,04	5,18±0,01	5,3±0,00	5,12±0,01	5,09±0,02	5,21±0,00	5,18±0,04	5,15±0,00	5,27±0,00	5,14±0,03	5,11±0,01

Le pH joue un rôle essentiel dans la stabilité microbiologique des jus. Un environnement acide (pH inférieur à 4,5) limite efficacement le développement de nombreux micro-organismes pathogènes, tels que *E.Coli*. Selon Cruz-Cansino et al (2016) le pH constitue un paramètre clé pour évaluer l'efficacité des traitements non thermiques, comme les ultrasons, dans leur capacité à maintenir des conditions défavorables à la croissance microbienne.

La mesure du pH au jour 0 montre une stabilité à $5,26 \pm 0,00$ dans tous les échantillons, indiquant que les ultrasons, dans les conditions testées, n'ont pas d'effet immédiat sur le pH du jus de carotte. Ce résultat est cohérent avec Cruz-Cansino et al (2016), qui n'ont observé aucune variation significative du pH dans un jus de figue de Barbarie traité par ultrasons. Toutefois, une légère baisse du pH a été notée au 8^e jour, notamment dans les échantillons traités à haute amplitude (70–90 %) pendant 5 à 7 minutes. Cette diminution pourrait s'expliquer par une activité microbienne résiduelle ou la

libération de composés acides, comme observé aussi par **Alam et al (2023)** dans le jus de litchi.

III.5.2. Matières solides solubles (Brix)

Tableau VI: Variation de la valeur du Brix pendant le stockage de jus de carottes.

Matières solides solubles (°Brix)	Jours	Contrôle	60%		70%		80%		90%	
			1min	7min	1min	7min	1min	7min	1min	7min
	0	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a
	8	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	6,00±0,00 ^a	5,80±0,00 ^b	5,80±0,00 ^{b*}	5,80±0,00 ^{b*}	5,80±0,00 ^{b*}

^{a, b}Les lettres différentes dans la même ligne indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

*Différences significatives entre les jours 0 et 5 de stockage pour le même traitement ($p < 0,05$).

La mesure du °Brix permet d'évaluer la teneur en sucres, un indicateur clé de la maturité, de la saveur et de la qualité du jus de carotte. Ce paramètre est aussi utile pour surveiller la stabilité du produit pendant le stockage, une baisse pouvant signaler une dégradation (**Chiu-Chu Hwang et al., 2023**). Dans notre étude, la teneur en °Brix est restée stable à $(6,00 \pm 0,00)$ pendant 8 jours dans l'échantillon témoin, traduisant une stabilité naturelle des sucres solubles (**Zou et Jiang, 2016**).

Après traitement par ultrasons, aucune variation du °Brix n'a été observée aux amplitudes modérées (60–70 %), même après 7 minutes, ce qui rejoint les résultats de **Chen et al (2019)**. En revanche, à 80 % et 90 %, une légère diminution jusqu'à $5,80 \pm 0,00$ a été notée après 7 minutes, probablement due à la dégradation partielle des glucides simples sous l'effet de la cavitation et des radicaux hydroxyles (**Abid et al., 2013**).

III.5.3. Acidité Titrable

L'acidité titrable (AT) reflète la teneur en acides organiques du jus, ce qui influence sa stabilité et sa sécurité microbiologique. Un AT élevé aide à inhiber les bactéries (**Chiu-Chu Hwang et al., 2023**) et son suivi permet de détecter d'éventuelles altérations chimiques pendant le stockage (**Naik et al., 2023**).

Tableau VII: Variation de l'acidité titrable durant le stockage du jus de carottes.

Paramètre	Jours	Contrôle	60%		70%		80%		90%	
Acidité titrable (%)	0		1min	5min	1min	5min	1min	5min	1min	5min
		0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00
	8	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00	0.64±0,00

Dans notre étude, l'AT est restée parfaitement stable à $(0,64 \pm 0,00 \%)$ dans tous les échantillons, qu'ils soient témoins ou traités par ultrasons (60 à 90 %, 1 à 7 min), et ce, du jour 0 au huitième jour de stockage (tableau VII).

Cette stabilité indique que les ultrasons n'ont pas modifié la teneur en acides organiques du jus de carotte. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Cruz-Cansino et al. (2016)**, qui n'ont observé aucune variation significative de l'AT dans un jus de figue de Barbarie traité par ultrasons pendant 5 jours. Selon eux, les ultrasons n'induisent ni dégradation ni formation secondaire d'acides organiques dans les conditions testées.

III.5.4. Mesure de la Vitamine C

La vitamine C est un bon indicateur de la qualité nutritionnelle des jus, car elle est très sensible à la chaleur et à l'oxydation. Les traitements non thermiques, comme les ultrasons, permettent généralement de mieux la préserver que la pasteurisation classique (**Mieszczakowska-Fraç et al., 2021**).

Tableau VIII: Variation de la vitamine C pendant le stockage du jus de carottes.

Paramètre	Jours	Contrôle	60%		70%		80%		90%	
Vitamine C (mg/l)	0		1min	5min	1min	5min	1min	5min	1min	5min
		0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00
	8	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00	0.075±0,00

La teneur en vitamine C dans l'échantillon témoin est restée stable à $0,075 \pm 0,00$ pendant les 8 jours de stockage, confirmant les observations d'**Adekunte et al (2010)** sur la stabilité de cette vitamine dans des jus peu transformés. Les échantillons traités par ultrasons (60 à 90 % d'amplitude, 5 à 7 min) n'ont montré aucune perte de vitamine C (tableau 8).

Ce résultat, similaire à celui rapporté par **Adekunte et al (2010)** dans le jus de tomate, peut s'expliquer par l'absence d'élévation thermique notable pendant le traitement,

ainsi que par un possible effet protecteur de la cavitation sur les molécules d'acide ascorbique, limitant leur oxydation (**Aguilar et al., 2017**).

Conclusion et Perspectives

Ce travail s'est inscrit dans une démarche visant à explorer les effets d'un traitement par ultrasons sur la survie et la croissance d'*Escherichia coli* dans le jus de carotte au cours du stockage. À travers une approche expérimentale rigoureuse, nous avons évalué l'impact de différentes amplitudes (60, 70, 80 et 90 %) et durées d'exposition (1,3,5 et 7 minutes) sur la réduction microbienne, tout en suivant l'évolution des paramètres physico-chimiques du jus.

Les résultats obtenus ont permis de confirmer que les ultrasons constituent une technologie non thermique prometteuse, capable de réduire significativement la charge bactérienne. Le traitement le plus efficace a été obtenu avec une amplitude de 90% pendant 7 min, entraînant une réduction maximale de la population d'*E.Coli*. Toutefois, nos observations ont également révélé un phénomène de reprise de croissance microbienne après quelques jours de stockage « effet rebond », même à des amplitudes élevées. Cela met en évidence que l'effet des ultrasons, bien que notable, reste majoritairement inhibiteur et bactériostatique.

Ainsi, pour assurer une sécurité microbiologique durable, il serait pertinent de combiner les ultrasons à d'autres méthodes de conservation douces, telles que l'acidification, l'incorporation d'agents antimicrobiens naturels ou encore des traitements combinés comme les micro-ondes. Une telle approche permettrait non seulement d'augmenter l'efficacité du procédé, mais aussi de limiter la consommation énergétique.

Enfin, ce travail ouvre des perspectives intéressantes pour le développement de stratégies innovantes, respectueuses de la qualité des aliments à l'échelle industrielle. Des recherches complémentaires portant sur des tests à plus grande échelle (quantitatifs) ainsi que des analyses qualitatives (impact sur les vitamines, pigments et arômes) seraient nécessaires. Par ailleurs, l'étude d'autres pathogènes et de la flore d'altération permettrait d'élargir le champ d'application des ultrasons dans le secteur agroalimentaire.

Références bibliographiques

A

- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Hu, B., Lei, S., Zhang, X., & Zeng, X. (2013).** Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1182–1187.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.02.010>
- Adekunte, A. O., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., Scannell, A. G. M., & O'Donnell, C. P. (2010).** Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122(3), 500–507.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.026>
- Aguilar, K., Garvín, A., Ibarz, A., & Augusto, P. E. D. (2017).** Ascorbic acid stability in fruit juices during thermosonication. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 88–96.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.029>
- Alam, S. M. S., Akther, S., Islam, M. R., Islam, M. R., & Akhtaruzzaman, M. (2023).** Effects of ultrasound, microwave, and their combined treatments on the shelf life and quality characteristics of fresh litchi juice. *Future Foods*, 100254.
<https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100254>
- Allen, V. M., Whyte, R. T., Burton, C. H., Harris, J. A., Lovell, R. D., Atterbury, R. J., & Tinker, D. B. (2008).** Effect of ultrasonic treatment during cleaning on the microbiological condition of poultry transport crates. *British Poultry Science*, 49(4), 423–428. <https://doi.org/10.1080/00071660802262068>
- Amir-Tahi, A., Sousa, S., Silva, C. L., Madani, S., & Miller, F. A. (2021).** Ultrasound and heat treatment effects on *Staphylococcus aureus* cell viability in orange juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 80, 105812.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105812>
- AOAC International. (1984).** Official Methods of Analysis, 16^e édition, Arlington, VA.
- Ashokkumar, M., & Mason, T. J. (2009).** Sonochemistry: Theory, applications and uses of ultrasound in chemistry. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA
- Aznar-Ramos, M. J., Razola-Díaz, M. del C., Verardo, V., & Gómez-Caravaca, A. M. (2022).** Comparison between ultrasonic bath and sonotrode extraction of phenolic

compounds from mango peel by-products. *Horticulturae*, 8(11), 1014.
<https://doi.org/10.3390/horticulturae8111014>

B

Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. S., & Orlie, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 49, 96–109. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.006>

Behling, Ronan, Araj, Nahla, & Chatel, Grégory. (2016). Qu'est-ce que la sonochimie ? *L'Actualité Chimique*, n° 410, septembre 2016, pages 6–10.

C

Campos, F. C., Castilho, I. G., Rossi, B. F., Bonsaglia, É. C. R., Dantas, S. T. A., Dias, R. C. B., ... Camargo, C. H. (2022). Genetic and antimicrobial resistance profiles of mammary pathogenic *Escherichia coli* (MPEC) isolates from bovine clinical mastitis. *Pathogens*, 11(12), Article 1435.
<https://doi.org/10.3390/pathogens11121435>

Chapman, P. M. J. E. I. (2007). Determining when contamination is pollution—weight of evidence determinations for sediments and effluents. 33(4), 492-501.

Charfi, S., Boujida, N., Bouyahya, A., El-Shazly, M., Khamlichi, A., Abrini, J., & Senhaji, N. S. (2023). Mathematical modeling of *Escherichia coli* O157:H7 growth in carrot juice influenced by *Thymbra capitata* essential oil, heat treatment, and storage temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 386, 110044.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.110044>

Chavan, P., Sharma, P., Sharma, S. R., Mittal, T. C., & Jaiswal, A. K. (2022). Application of high-intensity ultrasound to improve food processing efficiency: A review. *Foods*, 11(1), 122. <https://doi.org/10.3390/foods11010122>

Cheesbrough, Monica. (2005). *District Laboratory Practice in Tropical Countries*. 2nd ed. Cambridge ; New York: Cambridge University Press.

- Chemat, F., Abert Vian, M., Ravi, H. K., Khadhraoui, B., Hilali, S., Perino, S., & Xiao, J. (2019).** Review of alternative solvents for green extraction of food and natural products: Panorama, principles, applications and prospects. *Molecules*, 24(16), 3007. <https://doi.org/10.3390/molecules24163007>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2017).** Ultrasound-assisted extraction of food and natural products: Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560.
- <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2011).** Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813-835. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>
- Chen, L., Bi, X., Guo, D., Xing, Y., & Che, Z. (2019).** The effect of high-power ultrasound on the quality of carrot juice. *Food Science and Technology International*, 25(5), 394–403. <https://doi.org/10.1177/1082013219825736>
- Choi, G.-H., Holzapfel, W. H. and Todorov, S. D. (2023).** Diversity of the bacteriocins, their classification and potential applications in combat of antibiotic resistant and clinically relevant pathogens. *Critical Reviews in Microbiology*, 49: 578-597. DOI: <https://doi.org/10.1080/1040841X.2022.2090227>
- Cody, S. H., Glynn, M. K., Farrar, J. A., Cairns, K. L., Griffin, P. M., Kobayashi, J., Fyfe, M., Hoffman, R., King, A. S., Lewis, J. H., Swaminathan, B., Bryant, R. G., & Vugia, D. J. (1999).** An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection from unpasteurized commercial apple juice. *Annals of Internal Medicine*, 130(3), 202–209. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-130-3-199902020-00005>
- Cruz-Cansino, N. del S., Reyes-Hernández, I., Delgado-Olivares, L., Jaramillo-Bustos, D. P., Ariza-Ortega, J. A., & Ramírez-Moreno, E. (2016).** Effect of ultrasound on survival and growth of *Escherichia coli* in cactus pear juice during storage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(2), 431–437.
- <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.014>

D

- Dasan, B. G., & Boyaci, I. H. (2018).** Effect of cold atmospheric plasma on inactivation of *Escherichia coli* and physicochemical properties of apple, orange, tomato juices, and sour cherry nectar. *Food and Bioprocess Technology* 11(2), 334-343. doi: <https://doi.org/10.1007/s11947-017-2014-0>
- Delgado-Povedano, M.M., & de Castro, M.L. (2015).** A review on enzyme and ultrasound: A controversial but fruitful relationship. *Analytica Chimica Acta*, 889, 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.05.004>
- Ding, H., & Liu, M. (2024).** From root to seed: Unearthing the potential of carrot processing and comprehensive utilization. *Food Science & Nutrition*, 12(11), 8762–8778. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4542>
- Dolas, R., Saravanan, C., & Kaur, B. P. (2019).** Emergence and era of ultrasonic's in fruit juice preservation: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 58, 104609. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104609>
- Dolatowski, Z. J., Stadnik, J., & Stasiak, D. (2007).** Applications of ultrasound in food technology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(3), 89-99.
- Dungan, R. S., & Leytem, A. B. (2013).** The characterization of microorganisms in dairy wastewater storage ponds. *Journal of Environmental Quality*, 42(5), 1583–1588. <https://doi.org/10.2134/jeq2013.03.0095>.

F

- Ferrario, M., Alzamora, S. M., & Guerrero, S. (2015).** Study of the inactivation of spoilage microorganisms in apple juice by pulsed light and ultrasound. *Food Microbiology*, 46, 635-642. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.017>
- Figuerola-Ducoing, B.K., Carrillo-Sanchez, A.K., Rivera-Gutierrez, S., Rios-Muñiz, D., Estrada-Garcia, T., & Cerna-Cortes, J.F. (2022).** In Mexico City, fresh-squeezed street-vended orange juice is contaminated with fecal coliforms, *Escherichia coli*, and Shiga toxin-producing *E. coli*: A potential risk for acquiring

foodborne diseases. *Food Science and Technology (Campinas)*, 42(2), e52022.
<https://doi.org/10.1590/fst.52022>.

G

Gallo, M., Ferrara, L., & Naviglio, D. (2018). Application of Ultrasound in Food Science and Technology: A Perspective. *Foods*, 7(10), 164.
<https://doi.org/10.3390/foods7100164>

Gizaw, Z., Yalew, A. W., Bitew, B. D., Lee, J., & Bisesi, M. (2022). Fecal indicator bacteria along multiple environmental exposure pathways (water, food, and soil) and intestinal parasites among children in the rural northwest Ethiopia. *BMC Gastroenterology*, 22, Article 84. <https://doi.org/10.1186/s12876-022-02174-4>

Gomes, T. A. T., Elias, W. P., Scaletsky, I. C., Guth, B. E., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M., Ferreira, L. C., & Martinez, M. B. (2016). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(Suppl 1), 3–30.
<https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>

Govindarajan, D. K., Viswalingam, N., Meganathan, Y., & Kandaswamy, K. (2020). Adherence patterns of *Escherichia coli* in the intestine and its role in pathogenesis. *Medical Microecology*, 5, Article 100025.
<https://doi.org/10.1016/j.medmic.2020.100025>

Gurtler, J. B., Rivera, R. B., Zhang, H. Q., & Gevecke, D. J. (2010). Selection of surrogate bacteria in place of *E. coli* O157: H7 and Salmonella Typhimurium for pulsed electric field treatment of orange juice. *International Journal of Food Microbiology* 139(1-2), 1-8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.023>

H

Hankar, H., & Pagel, P. S. (2011). Potential adverse ultrasound-related biological effects: A critical review. *Anesthesiology*, 115(5), 1109–1124.
<https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e31822fd1bf>

Hasan, M. M., Hoque, Z., Kabir, E., & Hossain, S. (2022). Differences in levels of *E. coli* contamination of point-of-use drinking water in Bangladesh. *PLOS ONE*, 17(5), e0267386. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267386>

- Hassan, M., Shehata, A. G. and Abdel-Wahed, G. (2023).** Efficacy of some chemicals on controlling pear fruit rot and fruit quality under storage condition. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 51: 47-64. DOI: <https://doi.org/10.21608/ejp.2023.189113.1084>
- Hazeefa, U., Hassan, A., Numan, M., Waqar, A., Hajra, Z., & Sajid, I. (2023).** Microbiological Quality and Safety Assessment of Freshly Prepared Fruit Juices Sold in Different Areas of Lahore, Pakistan. *The Journal of Microbiology and Molecular Genetics*, 4(3), 77–85. <https://doi.org/10.52700/jmmg.v4i3.133>
- He, Q., Liu, D., Ashokkumar, M., Ye, X., Jin, T. Z., & Guo, M. (2021).** Antibacterial mechanism of ultrasound against *Escherichia coli*: Alterations in membrane microstructures and properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105509. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105509>
- Henderson, J. C. (2019).** Wastewater Effluent Transport and Contamination: A Model for Groundwater Contamination in the Central West Bank: Drexel University.
- Huang, G., Chen, S., Dai, C., Sun, L., Sun, W., Tang, Y., Xiong, F., He, R., & Ma, H. (2017).** Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.12.018>
- Hwang, C.-C., Chien, H.-I., Lee, Y.-C., Lin, C.-S., Hsiao, Y.-T., Kuo, C.-H., Yen, F.-L., & Tsai, Y.-H. (2023).** Effect of high-pressure processing on the qualities of carrot juice during cold storage. *Foods*, 12(16), 3107. <https://doi.org/10.3390/foods12163107>

J

- James, V. S., & Panchal, H. (2021).** Estimation of microbial contamination in fresh and commercial fruit juices: A comparative study. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(50A), 145–153. <https://doi.org/10.9734/jpri/2021/v33i50A33389>
- Joyce, E., Phull, S., Lorimer, J., & Mason, T. (2003).** The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions: A study of frequency, power

and sonication time on cultured *Bacillus* species. *Ultrasonics Sonochemistry*, 10(6), 315–318. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(03\)00101-9](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(03)00101-9)

K

Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123–140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>

Kernou, O.-N., Azzouz, Z., Belbahi, A., Kerdouche, K., Kaanin-Boudraa, G., Amir, A., Madani, K., & Rijo, P. (2023). Inactivation of *Escherichia coli* in an orange juice beverage by combined ultrasonic and microwave treatment. *Foods*, 12(3), 666. <https://doi.org/10.3390/foods12030666>

Kiani, H., Zhang, Z., Delgado, A., & Sun, D. W. (2011). Ultrasound-assisted nucleation of some liquid and solid model foods during freezing. *Food Research International*, 44(9), 2915–2921. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.051>

Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., & Lee, D. U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15(5), 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.001>

Koubaa, M., Mhemdi, H., & Fages, J. (2018). Recovery of valuable components and inactivating microorganisms in the agro-food industry with ultrasound-assisted supercritical fluid technology. *Journal of Supercritical Fluids*, 134, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.12.012>

Kuhnert, P., Nicolet, J., & Frey, J. (1995). Rapid and accurate identification of *Escherichia coli* K-12 strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(11), 4135–4139. <https://doi.org/10.1128/AEM.61.11.4135-4139.1995>

Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, Article 105325. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>

L

- Lauteri, C., Ferri, G., Piccinini, A., Pennisi, L., & Vergara, A. (2023).** Ultrasound Technology as Inactivation Method for Foodborne Pathogens: A Review. *Foods*, 12(6), 1212. <https://doi.org/10.3390/foods12061212>
- Levy, C. (2010).** Principaux facteurs influençant l'efficacité de la lumière pulsée pour la décontamination des microorganismes pathogènes et d'altération des denrées alimentaires. Université d'Avignon
- Li, J., Ma, L., Liao, X., Liu, D., Lu, X., Chen, S., Ye, X., & Ding, T. (2018).** Ultrasound-Induced *Escherichia coli* O157:H7 Cell Death Exhibits Physical Disruption and Biochemical Apoptosis.* *Frontiers in Microbiology*, 9*, 2486. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02486>
- Lim, J.-S. and Ha, J.-W. (2021).** Growth-inhibitory effect of X-ray irradiation on Gram-negative and Gram-positive pathogens in apple, orange, and tomato juices. *Food and Bioprocess Technology*, 14: 1909-1919. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02686-z>
- Little, A., Mendonca, A., Dickson, J., Fortes-Da-Silva, P., Boylston, T., Lewis, B., Coleman, S., & Thomas-Popo, E. (2024).** Acid adaptation enhances tolerance of *Escherichia coli* O157:H7 to high-voltage atmospheric cold plasma in raw pineapple juice. *Microorganisms*, 12(6), 1131. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061131>
- Lucas-González, R., Viuda-Martos, M., Pérez-Álvarez, J. Á., & Fernández-López, J. (2024).** Screening factors to affect ultrasound-assisted extraction of (poly)phenols from date palm seeds. *Frontiers in Chemistry*, 12, 1409393. <https://doi.org/10.3389/fchem.2024.1409393>
- Luque de Castro, M. D., & Priego-Capote, F. (2007).** Ultrasound-assisted crystallization (sonocrystallization). *Ultrasonics Sonochemistry*, 14(6), 717–724. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2006.12.004>

M

- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021).** Brock biology of microorganisms (16th ed.). Pearson. ISBN 9781292404790
- Maltby, R., Leatham-Jensen, M. P., Gibson, T., Cohen, P. S., & Conway, T. (2013).** Nutritional basis for colonization resistance by human commensal *Escherichia coli* strains HS and Nissle 1917 against *E. coli* O157:H7 in the mouse intestine. *PLoS ONE*, 8(1), e53957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053957>
- Market Research Future. (2024).** Global Carrot Juice Market Report. www.marketresearchfuture.com
- Martines, M. A. U., Davolos, M. R., & Jafelicci Júnior, M. (2000).** O efeito do ultrassom em reações químicas. *Química Nova*, 23(2), 251-256. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000200017>
- Mason, T. J. (2003).** Sonochemistry and sonoprocessing: The link, the trends and (probably) the future. *Ultrasonics Sonochemistry*, 10(3), 175-179. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(03\)00086-5](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(03)00086-5)
- Méthode 967.21 – «Ascorbic Acid in Vitamin Preparations and Juices by 2,6-Dichlorophenol-Indophenol Titrimetric Method» .
- Mieszczakowska-Frąc, M., Celejewska, K., & Plochanski, W. (2021).** Impact of innovative technologies on the content of vitamin C and its bioavailability from processed fruit and vegetable products. *Antioxidants*, 10(1), 54. <https://doi.org/10.3390/antiox10010054>

N

- Naik, B., Kohli, D., Walter, N., Gupta, A. K., Mishra, S., Khan, J. M., Saris, P. E. J., Irfan, M., Rustagi, S., & Kumar, V. (2023).** Whey-carrot based functional beverage: Development and storage study. *Journal of King Saud University – Science*, 35(6), 102775. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.102775>
- Nasilowska, J., Sokolowska, B., & Fonberg-Broczek, M. (2022).** *Escherichia coli* and *Listeria innocua* stability in carrot juice preserved by high hydrostatic pressure. *AIMS Agriculture & Food*, 7(3), 623-636. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2022039>

Negri Rodríguez, L. M., Arias, R., Soteras, T., Sancho, A., Pesquero, N., Rossetti, L., Tacca, H., Aimaretti, N., Rojas Cervantes, M. L., & Szerman, N. (2021). Comparison of the quality attributes of carrot juice pasteurized by ohmic heating and conventional heat treatment. *LWT – Food Science and Technology*, 145, 111255. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111255>

Noumavo, A. D. P., Glodjinon, N. M., Ohin, M. A. B., Dognon, d'Avila Y., Salako, V., Hossou, E., Baba-Moussa, L. and Baba-Moussa, F. (2023). Diversity and microbiological quality of fruit juices produced in Southern Benin. *African Journal of Microbiology Research*, 17: 21-28. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR2022.9663>

Q

Osakuade, O. T., Ajibade, V. A., Adedeji, A. J., Ajiboye, R. O., & Ajayi, A. O. (2023). Effect of storage condition and preservatives on the microbial, physicochemical and sensory quality of cucumber juice and carrots juice. *Magna Scientia Advanced Biology and Pharmacy*, 9(2), 33–47. <https://doi.org/10.30574/msabp.2023.9.2.0043>

P

Pagán, R., Mañas, P., Álvarez, I., & Condón, S. (1999). Resistance of *Listeria monocytogenes* to ultrasonic waves under pressure at sublethal (manosonication) and lethal (manothermosonication) temperatures. *Food Microbiology*, 16(2), 139–148. <https://doi.org/10.1006/fmic.1998.0231>

Patil, S., Bourke, P., Kelly, B., Frías, J. M., & Cullen, P. J. (2009). The effects of acid adaptation on *Escherichia coli* inactivation using power ultrasound. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(4), 486–490. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.06.005>

Piyasena, P., Mohareb, E., & McKellar, R. C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 207–216. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8)

Prüss-Ustün, A., Wolf, J., Bartram, J., Clasen, T., Cumming, O., Freeman, M. C., Gordon, B., Hunter, P. R., Medlicott, K., & Johnston, R. (2019). Burden of disease from inadequate water, sanitation and hygiene for selected adverse health outcomes: An

updated analysis with a focus on low- and middle-income countries. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 222(5), 765–777. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.05.004>

R

Rabbani, A., Ayyash, M., D’Costa, C. D. C., Chen, G., Xu, Y., & Kamal-Eldin, A. (2025). Effect of heat pasteurization and sterilization on milk safety, composition, sensory properties, and nutritional quality. *Foods*, 14(8), Article 1342. <https://doi.org/10.3390/foods14081342>

Ratajczak, K., Piotrowska-Cyplik, A., & Cyplik, P. (2023). Analysis of the effect of various potential antimicrobial agents on the quality of the unpasteurized carrot juice. *Molecules*, 28(17), 6297. <https://doi.org/10.3390/molecules28176297>

Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Bellosó, O. (2009). Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh-cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(3), 157–180. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00076.x>

S

Sala, F., Burgos, J., Condon, S., López, P., & Raso, J. (1995). Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In G. W. Gould (Ed.), *New methods of food preservation* (pp. 176–204). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2105-1>

Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Król, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: Recent reports. *Gut Pathogens*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>

Sharma, K. D., Karki, S., Thakur, N. S., & Attri, S. (2012). Chemical composition, functional properties and processing of carrot—a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(1), 22–32. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0310-7>

- Sora, V. M., Meroni, G., Martino, P. A., Soggiu, A., Bonizzi, L., & Zecconi, A. (2021). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: Virulence factors and antibiotic resistance. *Pathogens*, 10(11), Article 1355. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111355>

T

- Tao, Y., & Sun, D. W. (2015). Enhancement of food processes by ultrasound: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(4), 570–594. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.667849>

- Toma, M., Vinatoru, M., & Paniwnyk, L. (2013). Enhanced extraction of bioactive compounds from plants using ultrasonic irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 282–290. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.06.001>

V

- Villamiel, M., & de Jong, P. (2000). Influence of high-intensity ultrasound and heat treatment in continuous flow on fat, proteins, and native enzymes of milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 472–478. <https://doi.org/10.1021/jf990181s>

W

- Walker, M., & Phillips, C. A. (2007). The growth of *Propionibacterium cyclohexanicum* in fruit juices and its survival following elevated temperature treatments. *Food Microbiology*, 24(3), 313–318. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.08.002>
- Wright, J. A., Gundry, S. W., & Conroy, R. M. (2004). Household drinking water in developing countries: A systematic review of microbiological contamination between source and point-of-use. *Tropical Medicine & International Health*, 9(1), 106–117. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2003.01160.x>
- Wrigley, D. M., & Llorca, N. G. (1992). Decrease of *Salmonella typhimurium* in skim milk and egg by heat and ultrasonic wave treatment. *Journal of Food Protection*, 55(9), 678–680. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-55.9.678>
- Wu, H., Hulbert, G. J., & Mount, J. R. (2000). Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innovative Food Science &*

Emerging Technologies, 1(3), 211–218. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(00\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00020-5)

Y

Yang, F.-Y., Lin, Y.-S., Kang, K.-H., & Chao, T.-K. (2011). Reversible blood–brain barrier disruption by repeated transcranial focused ultrasound allows enhanced extravasation. *Journal of Controlled Release*, 150(1), 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.11.009>

Yang, S., Yuan, Z., Aweya, J. J., Huang, S., Deng, S., Shi, L., Zheng, M., Zhang, Y., & Liu, G. (2021). Low-intensity ultrasound enhances the antimicrobial activity of neutral peptide TGH2 against *Escherichia coli*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 77, 105676. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105676>

Yu, H., Chen, S., & Cao, P. (2012). Synergistic bactericidal effects and mechanisms of low-intensity ultrasound and antibiotics against bacteria: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3), 377–382. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.11.010>

Yu, Z.-L., Zeng, W.-C., Zhang, W.-H., Liao, X.-P., & Shi, B. (2014). Effect of ultrasound on the activity and conformation of α -amylase, papain and pepsin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(3), 930–936. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.11.002>

Z

Zentile, M. A., Offermans, P., Young, D., & Zhang, X. U. (2024). Fibre refractometry for minimally invasive sugar content measurements within produce. *Sensors*, 24(19), 6336. <https://doi.org/10.3390/s24196336>

Zou, Y., & Jiang, A. (2016). Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science and Technology (Campinas)*, 36(1), 111–115. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.0061>

Annexes

ANNEXES 01

Solutions

-Eau physiologique (9g/1L)

Dissoudre 9 g de NaCl dans 500 mL d'eau distillée.

Compléter à 1 L avec de l'eau distillée.

Homogénéiser.

-Bleu de méthylène (0.5g/100 ml)

Dissoudre 0,5 g dans 100 mL d'eau distillée et Agiter.

Conserver à l'abri de la lumière.

-DCPIP (2,6-dichlorophénol-indophénol) (0.5 g/1L)

Dissoudre 0,5 g dans 1 L d'eau distillée et Agiter.

Conserver dans un flacon opaque à l'abri de la lumière.

-Phénolphthaléine (1g/100 ml)

Dissoudre 1 g dans 100 mL d'éthanol à 95 %

-Acide ascorbique (vitamine C) (0.1g/1L)

Dissoudre 0,1 g dans 1 L d'eau distillée.

Agiter puis conserver dans un flacon opaque et hermétique.

-NaOH (hydroxyde de sodium) (80g/1L)

Dissoudre 80 g de NaOH dans 500 mL d'eau distillée et Agiter.

Compléter à 1 L avec de l'eau distillée et Homogénéiser.

ANNEXE 02**Milieux de culture****-EMB (Eosin Methylene Blue)****Composition**

Hydrogène phosphate
 Dipotassique.....2g/l
 Bleu de méthylène.....0,065g/l
 Peptone.....10g/l
 Lactose.....5g/l
 Saccharose.....5g/l
 Agar.....13,5g/l
 PH=7,2±0,2

Préparation

Mélanger 35,96g du milieu déshydraté dans 1L d'eau distillée, agitation et chauffage sur l'agitateur à plaque chauffante et enfin stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

-Bouillon Nutritif (BN)**Composition**

Peptone.....5 g
 extrait de viande.....3g
 chlorure de sodium (NaCl).....5g
 pH ajusté à 7,2 ± 0,2 à 25 °C

Préparation

Les composants du BN sont pesés avec précision, puis dissous dans environ 800 mL d'eau distillée sous agitation. Le volume est complété à 1 L avec de l'eau distillée. Le pH est ajusté si nécessaire. La solution est ensuite répartie dans des flacons ou tubes, puis stérilisée à l'autoclave à 121 °C pendant 15 à 20 minutes. Le bouillon obtenu est prêt à être utilisé après refroidissement.

Effet des ultrasons sur la survie et la croissance d'*Escherichia coli* dans le jus de carotte au cours du stockage

Résumé

La contamination microbienne des jus de fruits, notamment par *Escherichia coli*, représente un enjeu majeur en matière de santé publique. Pour sa richesse en nutriments et antioxydants, le jus de carotte est particulièrement exposé à des altérations microbiennes en raison de sa grande teneur en eau, de son pH légèrement acide et de ses propriétés nutritives.

Les méthodes thermiques classiques, comme la pasteurisation, assurent la sécurité mais peuvent altérer le goût et les nutriments du produit, d'où l'intérêt pour des alternatives non thermiques comme les ultrasons.

L'expérimentation a consisté à inoculer le jus avec une forte charge d'*E. coli* ATCC 25922, puis à appliquer des traitements ultrasoniques à différentes amplitudes (60 à 90 %) et durées (1 à 7 minutes). Les résultats montrent que les ultrasons permettent une réduction bactérienne immédiate allant jusqu'à -8 log à 90 % d'amplitude pendant 7 minutes, ce qui répond aux exigences de sécurité de la FDA. Cependant, un phénomène de rebond bactérien a été observé après quelques jours de stockage, indiquant que l'effet reste principalement bactériostatique : les bactéries affaiblies peuvent reprendre leur croissance si les conditions redeviennent favorables.

Sur le plan de la qualité, les ultrasons n'ont pas modifié le pH ni l'acidité titrable du jus, et la teneur en vitamine C est restée stable, même après 7 jours de stockage. Le °Brix n'a montré qu'une légère diminution à haute amplitude, traduisant une préservation quasi totale de la qualité nutritionnelle et sensorielle du jus.

En effet, le traitement par ultrasons s'avère prometteur pour réduire la charge microbienne dans le jus de carotte sans altérer ses qualités, mais il doit être combiné à d'autres méthodes pour garantir une sécurité microbiologique durable. Ce travail ouvre la voie à des solutions de conservation innovantes, respectueuses des attentes des consommateurs et des industriels.

Mots clés : Ultrasons, *Escherichia coli* ATCC25922, Jus de carotte.

Abstract

Microbial contamination of fruit juices, particularly by *Escherichia coli*, is a major public health issue. Due to its high nutrient and antioxidant content, carrot juice is particularly susceptible to microbial spoilage because of its high water content, slightly acidic pH and nutritional properties.

Conventional thermal methods, such as pasteurisation, ensure safety but can alter the taste and nutrients of the product, hence the interest in non-thermal alternatives such as ultrasound.

The experiment consisted of inoculating the juice with a high load of *E. coli* ATCC 25922, then applying ultrasonic treatments at different amplitudes (60 to 90%) and durations (1 to 7 minutes). The results show that ultrasound achieves immediate bacterial reduction of up to -8 log at 90% amplitude for 7 minutes, which meets FDA safety requirements. However, a bacterial rebound phenomenon was observed after a few days of storage, indicating that the effect remains mainly bacteriostatic: weakened bacteria can resume growth if conditions become favourable again.

In terms of quality, ultrasound did not alter the pH or titratable acidity of the juice, and the vitamin C content remained stable even after 7 days of storage. The °Brix showed only a slight decrease at high amplitude, reflecting almost total preservation of the nutritional and sensory quality of the juice.

Ultrasound treatment shows promise in reducing the microbial load in carrot juice without altering its qualities, but it must be combined with other methods to ensure long-term microbiological safety. This work paves the way for innovative preservation solutions that meet the expectations of consumers and manufacturers.

Keywords: Ultrasound, *Escherichia coli* ATCC25922, carrot juice.

المخلص

تُعد التلوثات الميكروبية لعصائر الفواكه، وخاصة بواسطة الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)، مسألة هامة تتعلق بالصحة العامة. ويُعتبر عصير الجزر، المعروف بغناه بالعناصر الغذائية ومضادات الأكسدة، عرضة بشكل خاص للتلف الميكروبي بسبب محتواه العالي من الماء، ودرجة حموضته المعتدلة، وخصائصه الغذائية الغنية. تؤمن الطرق الحرارية التقليدية مثل البسترة السلامة الميكروبية، لكنها غالباً ما تؤثر سلباً على النكهة والقيمة الغذائية، مما يدفع للاهتمام بالبدائل غير الحرارية مثل المعالجة بالموجات فوق الصوتية.

في هذه الدراسة، تم تلويث عصير الجزر عمداً بتركيز عالٍ من بكتيريا الإشريكية القولونية (ATCC 25922)، ثم تعريضه لمعالجات بالموجات فوق الصوتية بترددات مختلفة (60-90%) ولفترات زمنية متفاوتة (1-7 دقائق). أظهرت النتائج أن الموجات فوق الصوتية قادرة على تقليل عدد البكتيريا فوراً حتى 8 لوغ عند تردد 90% لمدة 7 دقائق، وهو ما يلبي معايير السلامة الخاصة بإدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA). ومع ذلك، لوحظ حدوث "ارتداد" بكتيري بعد عدة أيام من التخزين، مما يشير إلى أن التأثير يكون في الغالب تثبيطياً للنمو: إذ يمكن للبكتيريا الضعيفة أن تستعيد نشاطها إذا توفرت الظروف الملائمة.

أما من ناحية جودة العصير، فلم تؤثر المعالجة بالموجات فوق الصوتية بشكل ملحوظ على درجة الحموضة أو الحموضة المعيارية، كما بقيت مستويات فيتامين "سي" مستقرة حتى بعد 7 أيام من التخزين. وأظهر تركيز السكريات (°Brix) انخفاضاً طفيفاً فقط عند الترددات العالية، مما يدل على أن الخصائص الغذائية والحسية للعصير بقيت محفوظة إلى حد كبير.

خلاصة القول، تُعد المعالجة بالموجات فوق الصوتية وسيلة واعدة لتقليل الحمل الميكروبي في عصير الجزر دون التأثير على جودته، لكنها تحتاج إلى دمجها مع طرق حفظ أخرى لضمان السلامة الميكروبية على المدى الطويل. وتفتح هذه النتائج آفاقاً جديدة لحلول حفظ مبتكرة تلبي تطلعات المستهلكين والصناعيين.

Effet des ultrasons sur la survie et la croissance d'Escherichia coli dans le jus de carotte au cours du stockage

الكلمات المفتاحية: الموجات فوق الصوتية، *Escherichia coli* ATCC25922، عصير الجزر.