

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



UNIVERSITÉ BLIDA 1
Faculté des Sciences de la Nature et la Vie
Département Sciences biologiques

Projet de FIN d'étude MASTER 2 en Microbiologie

Thème:

**Caractérisation microbiologiques et physico-chimiques de la
Spiruline autochtone isolée et son antagoniste à l'égard des
germes utiles, pathogènes et d'altération**

Présenté par :
MAHDID Djouher Insaf

Devant le jury :

Président	GUETARNI D. (Pr)	Université de Blida 1
Examinatrice	BENHOUNA I. (MCB)	Université de Blida 1
Promotrice	Pr DOUMANDJI A. (Pr)	Université de Blida 1

Année Universitaire 2024 - 2025

RESUMER

Ce projet s'inscrit dans une démarche d'enrichissement nutritionnel en explorant l'ajout de spiruline autochtone dans la fabrication de biscuits. L'objectif principal est d'améliorer leur teneur en protéines tout en maintenant une bonne acceptabilité sensorielle. Après une étude bibliographique sur *Arthrospira fusiformis*, des biscuits ont été formulés avec différents taux de spiruline (1 %, 3 % et 5 %), puis analysés sur les plans microbiologique (milieux PCA, VRBG, VF, OGA), physico-chimique et sensoriel.

Les résultats ont mis en évidence un effet positif de la spiruline sur la qualité hygiénique des produits, avec une baisse des charges microbiennes. Du point de vu Sensoriel, les formulations à 1 % et à 3 % ont été mieux appréciées par les dégustateurs, tandis que le taux de 5 % a montré des limites gustatives.

Ces données confirment le potentiel de la spiruline comme ingrédient fonctionnel. Pour aller plus loin, des analyses ciblées sur des germes pathogènes spécifiques, ainsi que des études de conservation, permettraient d'évaluer plus finement la stabilité et la sécurité des produits enrichis en spiruline.

Les mots clés: *Arthrospira fusiformis*, Biscuit protéiné, analyses microbiologiques, analyses physicochimiques, antagonisme

تلخيص

هذا المشروع جزء من نهج إثراء غذائي قائم على استكشاف إضافة سبيروولينا محلية الصنع في صناعة البسكويت. الهدف الرئيسي هو تحسين محتواها البروتيني مع الحفاظ على قبولها الحسي الجيد. بعد مراجعة الأدبيات المتعلقة بـ *Arthrospira fusiformis*، صُنعت البسكويت بمستويات مختلفة من سبيروولينا (1%، 3%، و5%)، ثم حُللت ميكروبيولوجيًا (وسائط PCA، VRBG، VF، OGA) وتحليلًا حسيًا. أظهرت النتائج تأثيرًا إيجابيًا للسبيروولينا على الجودة الصحية للمنتجات، مع انخفاض في الحمل الميكروبي. من منظور حسي، حظيت تركيبات 1% و3% بتقدير أفضل من قبل المتذوقين، بينما أظهرت تركيبة 5% قيودًا على التدفق. تؤكد هذه البيانات إمكانات السبيروولينا كمكون وظيفي. وللمضي قدمًا، ستنجح التحليلات الموجهة لجراثيم ممرضة محددة، بالإضافة إلى دراسات الحفظ، تقييمًا أكثر تفصيلًا لاستقرار وسلالة المنتجات المخصبة بالسبيروولينا.

الكلمات المفتاحية: سبيروولينا، *Arthrospira fusiformis*، بسكويت البروتين ، سلامة الغذاء ، الاختبار الحسي.

ABSTRACT

This study focuses on enhancing the nutritional value of biscuits by incorporating locally isolated spirulina (*Arthrospira fusiformis*). The main goal is to boost the protein content while maintaining good sensory quality. Following a literature review on cyanobacteria and spirulina properties, biscuits were prepared with 1%, 3%, and 5% spirulina. Microbiological analyses (PCA, VRBG, VF, and OGA media), physico-chemical analyses and sensory evaluations were then carried out.

The results revealed a significant reduction in microbial loads with the addition of spirulina. The 1% and 3% formulations were best accepted in terms of taste and appearance, while the 5% showed some sensory limitations.

These findings highlight spirulina's potential as a functional food ingredient. Further investigations into specific pathogens and product shelf life could provide a more comprehensive assessment of its benefits and safety.

Keywords: spirulina, *Arthrospira fusiformis*, protein biscuit, food safety, sensory acceptability.

Remerciements

Avant tout, nous remercions « Allah » Le Tout Puissant qu'il nous a guidé tout au long de notre vie, qu'il nous a donné courage et patience pour passer tous les moments difficiles, qu'il nous a permis d'achever ce travail et de pouvoir le mettre entre vos mains aujourd'hui.

Un travail de recherche, nécessite le concours d'un certain nombre de personnes. Ce mémoire est aujourd'hui l'occasion de remercier toutes les personnes qui ont collaboré à ce travail.

Je souhaite remercier vivement en premier lieu ma promotrice Pr DOUMANDJI Amel pour son excellent encadrement, sa vision objective, tout au long de ce mémoire, ses conseils pertinents avec écoute, amabilité et patience ont permis à notre travail d'aboutir et de voir le jour.

Je souhaite également adresser mes remerciements les plus sincères aux membres du jury, qui ont accepté de juger ce travail :

- Mr. GUETARNI Djamel, Professeur à l'Université Saad Dahlab Blida1,
- Mme. BENHOUNA Insaf, Docteur à l'Université Saad Dahlab Blida1,

J'exprime toute ma gratitude à Mr. Bahlouli Belaid, Directeur de l'école **ILYA** pour m'avoir permis de réaliser mes recherches dans leur laboratoire. Leur accueil, les moyens mis à ma disposition et le cadre professionnel ont été précieux pour la réalisation de cette étude.

Je n'oublie pas de remercier **l'ensemble des enseignants** que j'ai eu durant mon parcours universitaire, pour la qualité de leur enseignement, leur disponibilité et leur accompagnement.

Enfin, je remercie chaleureusement mes **collègues et camarades**, pour leur soutien, leur bonne humeur et les échanges enrichissants qui ont marqué ces années de formation.

Djouher Insaf

DEDICACE

Grâce à Dieu, le Tout-Puissant, ce travail a pu être mené à son terme.

Je dédie cet accomplissement important de ma vie :

Aux **Martyres** de ma chère Patrie l'**Algérie**, à qui je dois toute ma profonde reconnaissance, sans leurs sacrifices, je n'aurai jamais atteint le but de mes ambitions, sur une terre indépendante et souveraine.

A la mémoire de mes chers grands-pères

A mes tes chères grands-mères

À **mes parents bien-aimés**, pour votre amour inépuisable, vos sacrifices silencieux et votre soutien constant. Vous avez toujours été ma source de force et de motivation.

C'est grâce à vous que j'ai pu franchir cette étape essentielle de mon parcours.

Je vous en suis profondément reconnaissante.

À **mes frères et ma sœur**, encore petits mais qui, par leur innocence, leurs sourires et leur joie de vivre, ont allégé mes journées les plus stressantes. Vous êtes ma lumière quotidienne.

À **Imad**, mon fiancé, Merci d'avoir été là, chaque jour, dans le silence comme dans les tempêtes. Tu rends mes journées plus belles, tu apaises mes doutes, et tu donnes un sens profond à ce que je vis.

Je ne saurais comment te remercier assez pour tout ce que tu fais, pour tout ce que tu es.

À **Sawsen**, ma meilleure amie, ta présence a fait toute la différence. Tu as toujours été là pour moi, avec ton cœur, tes mots, ton énergie. Tu m'as portée, motivée, et jamais laissée tomber.

Ton amitié est un cadeau précieux que je chéris chaque jour, Merci.

À **Insaf, Maroua et Lina**, merci du fond du cœur pour votre aide précieuse, vos conseils, et votre présence constante tout au long de ce projet.

À **Joseph, Immy et Azizi**, merci pour votre aide précieuse, votre bonne humeur et votre soutien tout au long de ces années. Votre amitié a rendu cette expérience plus légère, plus riche, et bien plus belle. Je suis vraiment reconnaissante de vous avoir rencontrés.

À toute ma famille, mes copines et mes amies, pour leur soutien et leur confiance, je vous dédie cette réussite.

Djouher Insaf

Table des matières

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHYQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION 1

1^{ère} PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 Les Cyanobactéries 3

1.1. Cyanobactéries, premiers organismes photosynthétiques..... 3

1.2. Écologie et biologie..... 3

1.3. Reproduction 3

1.4. Toxicité 4

CHAPITRE 02 : *Arthrospira fusiformis* 5

2.1 Définition d'*Arthrospira fusiformis*..... 5

2.2 Distribution géo naturelle 5

2.3 Morphologie 5

2.4 Cycle biologique et reproduction..... 6

2.5 Description historique..... 7

2.6 Taxonomis 7

2.7 Souches d'*Arthrospira fusiformis*..... 8

2.8 Culture de la spiruline..... 9

2.9 Conditions de la culture 9

2.9.1 Température..... 9

2.9.2 pH... 9

2.9.3 Lumière..... 10

2.9.4 Salinité..... 10

2.10 Techniques de culture 10

2.10.1 Ensemencement 10

2.10.2 Mesure de la concentration d'une culture de Spiruline 10

2.11 Agitation 10

2.12 Ombrage..... 11

2.13 Récolte 11

2.14 Séchage..... 11

2.15	Principales applications de la spiruline	12
2.15.1	En cosmétique.....	12
2.15.2	En alimentation humaine	12
2.15.3	En alimentation animale	12
2.15.4	En médecine	12
2.16	Système de culture	12
2.16.1	Culture artisanale	12
2.16.2	Production industrielle.....	13
2.17	Composition de spiruline	14
2.17.1	Protéines	15
2.17.2	Lipides	15
2.17.3	Glucides	16
2.17.4	Acides nucléiques (ADN et ARN)	16
2.17.5	Pigments	17
2.17.6	Chlorophylle	17
2.17.7	Phycocyanine	18
2.17.8	Beta-carotène	18
2.17.9	Minéraux et Oligoéléments.....	18
2.17.10	Vitamines.....	18
2.17.10.1	Vitamines liposolubles	19
2.17.10.2	Vitamines hydrosolubles	19
2.18	L'importance de spiruline dans la Santé	19

DEUXIEME PARTIE : Partie pratique

CHAITRE 3. MATERIEL ET METHODES	20
3.1 Présentation du lieu de stage.....	20
3.2 Présentation du laboratoire	20
3.3 Matériel algal et végétal.....	21
3.4 Analyses microbiologiques	21
3.5 Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.....	22
3.6 Les dilutions décimales réalisées sur le produit fini	23
3.7 Recherche et dénombrement de la flore microbienne.....	23
3.8 Recherche et dénombrement de la flore mésophile totale	23

3.8.1 But	23
3.8.2 Principe	23
3.8.3 Mode opératoire.....	24
3.8.4 Lecture.....	24
3.9 Recherche et dénombrement de la flore anaérobie mésophile totale sur gélose Viande-Foie..	25
3.9.1 But	25
3.9.2 Principe.....	25
3.9.3 Mode opératoire.....	26
3.10 Recherche des germes pathogènes : Entérobactéries, Salmonelles, E. coli sur milieu VRBG....	26
3.10.1 But	26
3.10.2 Principe.....	26
3.10.3 Mode opératoire.....	26
3.10.4 Lecture.....	27
3.11 Recherche des levures et des moisissures.....	27
3.11.1 Technique	27
3.11.2 Lecture.....	27
3.12 Méthodes appliquées	27
3.12.1 Préparation des biscuits d'énergies.....	28
3.12.2 Préparation de la pâte à biscuit.....	28
3.12.3 La mise en forme	30
3.12.4 La cuisson	31
3.13 Analyse sensorielle	31
3.14 Analyse statistique	32
3.15 L'explication du questionnaire	33
3.16 Méthode de la diffusion des puits.....	33
3.17. Les analyses physicochimiques	34
3.17.1 Teneur en eau.....	34
3.17.2 Teneur en cendres	34
3.17.3 Teneur en protéines.....	35
Chapitre 4 Résultats et discussions	37
4.1 Résultats des analyses microbiologiques	37
4.2 Résultat du test sensoriel	42

4.3 Observation visuelle des cultures microbiennes	44
4.3.1 Milieu PCA.....	44
4.4.2 Milieu VRBG... ..	46
4.3.3 Milieu OGA.....	48
4.3.4 Milieu VF	50
4.4 Résultat de méthode de la diffusion des puits	52
4.5 Résultats des analyses physicochimiques	54
4.5.1 Teneur en eaux.....	54
4.5.2 Teneur en cendres	55
4.5.3 Teneur en protéines.....	55
4.5 Discussion.....	56
Conclusion et perspective	57
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 1 : La systématique de la Spiruline	6
Tableau 2 : Composition des glucides	16
Tableau 3 : Teneur en pigment exprimée en mg pour 10g de matière <i>Spirulina platensis</i> séchée	17
Tableau 4 : Composition en minéraux de la spiruline (en µg/g de matière sèche)	18
Tableau 5 : Quantités des ingrédients utilisés dans le mélange	27
Tableau 6 : Les résultats du dénombrement des coliformes fécaux sur milieu PCA pour chaque échantillon	33
Tableau 7 : Les résultats du dénombrement des coliformes totaux sur gélose VRBG pour chaque échantillon	35
Tableau 8 : Les résultats du dénombrement des levures et des moisissures sur gélose OGA pour chaque échantillon	36
Tableau 9 : Les résultats du dénombrement des coliformes totaux sur gélose VF pour chaque échantillon	37
Tableau 10 : La moyenne du questionnaire des 5 participants	38

Liste des figures

Figure 1 : Aspects morphologiques des parois transversales évidentes chez <i>Arthrospira fusiformis</i> isolé du lac soude Kailala (Tchad). Trichome clonal frais cultivé en laboratoire.....	6
Figure 2 Variabilité morphologique chez <i>Arthrospira fusiformis</i> dans deux lacs sodiques à la frange irrégulière nord-est du lac Tchad. Trichomes frais sauvages du lac Kailala.....	6
Figure 3 : Cycle biologique de la Spiruline	7
Figure 4 : Variabilité morphologique chez <i>Arthrospira fusiformis</i> dans deux lacs de soude à la frange irrégulière nord-est du lac Tchad. Sauvage trichomes frais du lac Kailala	9
Figure 5 : A : bassin en parpaing revêtue en plastique, B: bassin en bâche plastique	13
Figure 6 : Bassins améliorés à Hawaïi.....	14
Figure 7 : Valeurs nutritionnelles moyennes de la spiruline	14
Figure 8 : Situation géographique du Ilya international school.....	20
Figure 9 : Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales	22
Figure 10 : Préparation de la pâte de biscuit	28
Figure 11 : L'ajout de la farine dans les différentes pâtes	28
Figure 12 : Les boules 35g du biscuit.....	29
Figure 13 : Les biscuits après la cuisson	29
Figure 14 La séance de dégustation.....	30
Figure 15 : Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de pétri.....	32
Figure 16 : Évolution de la charge microbienne en fonction de la concentration en spiruline sur milieu PCA (\log_{10} UFC/ml).....	34
Figure 17 : Évolution de la charge microbienne en fonction de la concentration en spiruline sur milieu VRBG (\log_{10} UFC/ml).....	35
Figure 18 : Évolution de la charge microbienne en fonction de la concentration en spiruline sur milieu OGA (\log_{10} UFC/ml).....	36
Figure 19 : Évolution de la charge microbienne en fonction de la concentration en spiruline sur milieu VF (\log_{10} UFC/ml).....	37
Figure 20 : Graphique radar met en évidence les différences de perception sensorielle entre les différents échantillons	38
Figure 21 : Test de l'activité antimicrobienne à l'égard de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC.....	48
Tableau 22 : Test de l'activité antimicrobienne à l'égard de <i>Clostridium perfringens</i> ATCC.....	48
Figure 23 : Test de l'activité antimicrobienne à l'égard d' <i>Escherichia coli</i>	49
Figure 24 : Test de l'activité antimicrobienne à l'égard de <i>Salmonella typhi</i>	49

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les algues sont des organismes capables de pratiquer la photosynthèse et vivants majoritairement dans un milieu aquatique. On connaît actuellement environ 25 000 espèces d'algues sur la planète Terre. Parmi elles, on peut distinguer une algue bleue microscopique, apparue avec les premiers êtres vivants il y a environ 3,5 milliards d'années et considérée comme l'aliment naturel le plus complet de notre planète. [1]

Arthrospira fusiformis est une cyanobactérie filamenteuse de la famille des *Oscillatoriaceae*, morphologiquement caractérisée par ses trichomes en spirale [2]. Elle se distingue génétiquement et physiologiquement d'*Arthrospira platensis*, avec une teneur accrue en certains acides aminés essentiels comme la phénylalanine [3]. Son habitat naturel alcalin (lacs africains) lui confère une résistance aux contaminants, favorisant son utilisation en alimentation humaine [4].

Cette algue bleu-vert connaît par sa valeur nutritive élevée en protéines (60-70% en poids sec), vitamines, minéraux, acides gras essentiels, constitué une bonne source de chlorophylle, de caroténoïdes et surtout de phycocyanine qui ont des avantages pour la santé humaine.

L'objectif de notre travail est l'augmentation de la part protéinique du biscuit par addition de la Spiruline en développant une nouvelle habitude culinaire en proposant au consommateur un produit alimentaire enrichi et satisfaisant.

Malgré son potentiel nutritionnel, l'intégration de la spiruline dans les produits céréaliers comme les biscuits se heurte à des défis techniques (goût, couleur, texture) et à un manque d'optimisation des formulations pour maximiser la teneur protéique sans altérer l'acceptabilité des consommateurs. [5]

Notre approche combine une revue bibliographique sur les cyanobactéries et les propriétés de *A. fusiformis* et les formulations existantes ; des expérimentations pratiques (protocoles de fabrication de biscuits avec des taux variables de spiruline : 1 %, 3 %, 5 %) ; et des analyses microbiologiques, physicochimique et sensorielles. Dans cette perspective, une question centrale se pose : les analyses microbiologique et physicochimiques permettront-elles de garantir l'obtention d'une spiruline salubre, adaptée à une utilisation technologique ? Nous formulons l'hypothèse que le contrôle microbiologique contribue effectivement à vérifier que le produit algal obtenu est propre, exempt de germes pathogènes, d'agents d'altération et d'autres contaminants, et donc apte à être incorporé dans des formulations alimentaires en toute sécurité.

Le présent document est structuré comme suit :

L'introduction donne une vue d'ensemble sur le contexte et l'intérêt du thème, l'objectif ainsi que la problématique et l'hypothèse de recherche.

La première section présente la partie théorique (Bibliographique), elle est divisée en trois (2) Chapitres : le chapitre 1 représente des généralités sur les cyanobactéries et le chapitre 2 porte sur l'espèce étudiée *Arthrospira fusiformis*.

La deuxième section présente les matériels et méthodes utilisés dans ce travail.

La troisième section présente les résultats de notre étude. Une discussion de ses résultats est ensuite établie.

En dernier lieu, la Conclusion résume les principaux résultats retenus de notre étude et des perspectives.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE1 : CYANOBACTERIES

1.1. CYANOBACTERIES, PREMIERS ORGANISMES PHOTOSYNTHETIQUES

Les cyanobactéries sont des bactéries Gram –négatifs photosynthétiques et non des algues. Ce sont les cyanobactéries qui ont produit l’oxygène que nous respirons sur Terre et permis la formation de la couche d’ozone qui nous protège contre les rayons nocifs du soleil. [6]

Ces organismes photo autotrophes présentent des adaptations évolutives et une diversité remarquables, résultant de l’évolution des conditions environnementales à la surface de la terre. Ce groupe microbien physiologiquement et écologiquement diversifié a survécu et s’est adapté à toute une gamme des changements géochimiques marquant l’évolution de la biosphère terrestre. Également connues sous le nom d’algues bleues ou d’algues bleu-vert, les cyanobactéries ont longtemps été classées dans le règne végétal du fait de leur capacité à réaliser la photosynthèse. [7]

1.2 ÉCOLOGIE ET BIOLOGIE

Les cyanobactéries présentent des caractéristiques écologiques très variées qui leur ont permis de coloniser la plupart des habitats, aquatiques ou terrestres. Elles sont libres ou vivent en symbiose avec d’autres organismes. Un grand nombre d’entre elles sont adaptées à des environnements extrêmes (glaciers, sources chaudes, cendres volcaniques), grâce à des capacités qui leur permettent de supporter des températures élevées, des pH faibles. En milieu aquatique, les cyanobactéries sont planctoniques, c’est-à-dire en suspension dans la colonne d’eau, ou benthiques quand elles se développent fixées sur les sédiments. [8]

1.3 REPRODUCTION

La multiplication des cyanobactéries est végétative, c’est-à-dire asexuée, et s’effectue par division binaire d’une cellule mère en deux cellules filles, par bourgeonnement ou par divisions multiples. Selon les espèces et les conditions environnementales, les temps de doublement des populations varient de quelques heures à plusieurs jours. Les genres unicellulaires peuvent produire des baeocytes (minicellules) à l’intérieur de la cellule maternelle. Les individus coloniaux se multiplient également par fragmentation. Ainsi, les formes filamenteuses produisent des hormogonies (minifilaments mobiles) qui, après détachement du filament, participent à la colonisation. [9]

1.4 TOXICITE

Les toxines de cyanobactéries également nommées « cyanotoxines ». Sont des métabolites dont les effets sont avérés sur la santé animale ou humaine. La diversité des métabolites de cyanobactéries, dont les cyanotoxine.[10]

En fonction de leur mode d'action, les cyanotoxines sont classées en hépatotoxines (organe cible principal : le foie), en neurotoxines (organe cible : le système nerveux) ou en dermatotoxines (organe cible : la peau). Les toxines de cyanobactéries peuvent être considérées essentiellement comme des endotoxines libérées dans le milieu au cours de lyse algale, lorsque les cellules vieillissent ou à la suite d'un traitement algicide qui les font éclater.
[11]

CHAPITRE 2 : *Arthrospira fusiformis*

2.1 DEFINITION D'*Arthrospira fusiformis*

La spiruline, *Arthrospira fusiformis* est considérée comme une riche source de protéines, de vitamines, de minéraux, d'acides aminés essentiels et d'acides gras [acide gamma-linolénique (AGL)], de pigments antioxydants tels que les caroténoïdes et la vitamine E et d'oligo-éléments. En outre, il est efficace comme immuno- modulateur. Plusieurs études ont été menées avec la spiruline séchée comme complément alimentaire. [12]

Arthrospira est une cyanobactérie non toxique, bien connue comme additif alimentaire et aliment pour animaux. Il a été démontré qu'elle est riche en vitamines, minéraux, protéines et acides gras, ce qui active la réponse immunitaire et produit des substances anticarcinogènes et ainsi que des antiviraux. [13]

2.2 Distribution géo naturelle

Le genre *Arthrospira* est naturellement présent dans les zones intertropicales : les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou) et en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande). L'espèce *Arthrospira fusiformis* (syn. *Spirulina platensis*) est la plus répandue, avec une distribution large (Afrique, Asie, Amérique du Sud) alors qu'*Arthrospira maxima* (syn. *Spirulina maxima*) est localisée en Amérique centrale (Mexique, Californie). [14]

2.3 Morphologie

La principale caractéristique morphologique d'*Arthrospira* est l'arrangement typique de ses trichomes cylindriques multicellulaires dans une hélice ouverte généralement de diamètre relativement grand, parfois atténuée aux extrémités et avec des parois transversales évidentes (fig1).

En revanche, la Spiruline présente un trichome, généralement avec des formes presque fermées, uniformes et étroites vis de diamètre (0,5 à 3 mm), cellules avec des parois transversales généralement invisible au microscope optique, sans vacuoles à gaz et avec granules proéminentes. [15]



Figure 1 : Aspects morphologiques des parois transversales évidentes chez *Arthrospira fusiformis* isolé du lac soude Kailala (Tchad). (a) Trichome clonal frais cultivé en laboratoire [16]

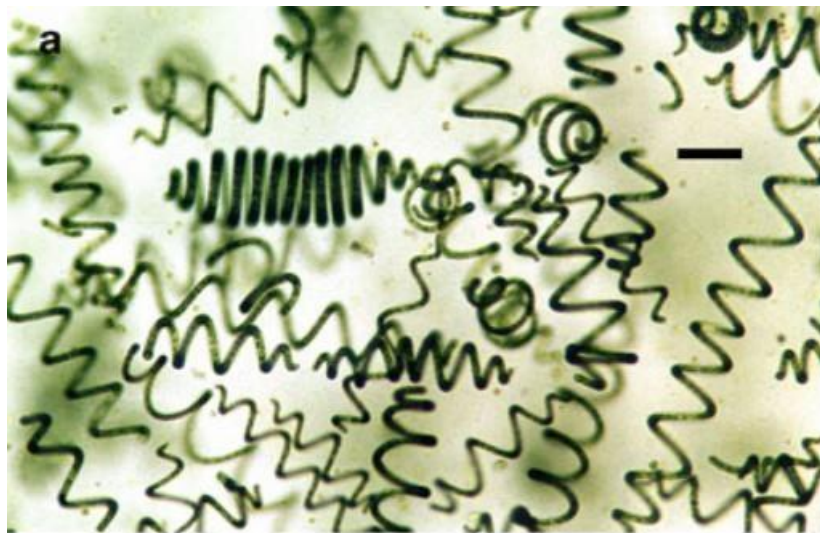


Figure2 : Variabilité morphologique chez *Arthrospira fusiformis* dans deux lacs sodiques à la frange irrégulière nord-est du lac Tchad. Trichomes frais sauvages du lac Kailala[16]

2.4 Cycle biologique et reproduction

La reproduction est végétative, c'est à dire asexuée, et s'effectue par scission simple, par fragmentation de filament.

Le filament de *Spiruline* à maturité forme des cellules spéciales appelées nécridies. Elles se différencient des autres cellules par leur aspect biconcave et sont assimilées à des disques de séparation. A partir de ces derniers, le trichome se fragmente pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés hormogonies qui vont croître en longueur par division binaire et prendre la forme typique hélicoïdale. [17]

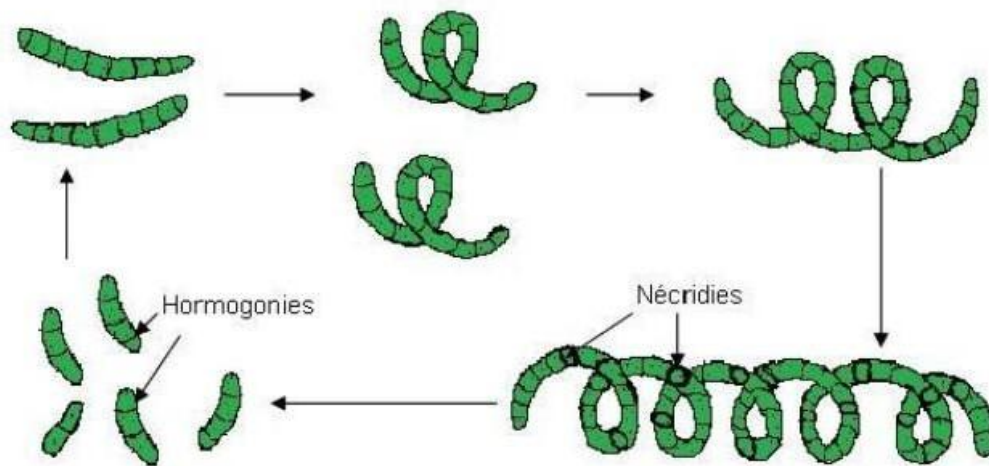


Figure 3. Cycle biologique de la Spiruline [18]

2.5 Description historique

La taxonomie et la nomenclature d'*Arthrospira* et de *Spirulina* ont été débattues pendant presque tout le Xxe siècle. Plusieurs questions n'ont été résolues qu'au cours des dernières décennies avec l'aide de la microscopie électronique.

Le phycologue français Dangeard a été le premier à identifier la Spiruline à partir d'un échantillon de « dihe » (aliment fabriqué à partir de Spiruline séchée au soleil) Cependant, ce rapport est passé inaperçu jusqu'à environ 25 ans plus tard lorsque J. Leonard a redécouvert « dihe » et a confirmé qu'il était composé presque exclusivement de nattes séchées de *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*. A peu près à la même époque, des travailleurs français de l'Institut Française du Pétrole avaient commencé à étudier une autre espèce, la spiruline (*Arthrospira*) *maxima*, qui poussait abondamment dans une usine industrielle de production de cendres de soude du lac Texcoco, près de Mexico (Cifferi, 1983). DainipponInk & Chemicals Inc. (DIC) a été le pionnier de la première production commerciale de spiruline dans des étangs artificiels dès 1978 à son usine de Bangkok, en Thaïlande. Aujourd'hui, la spiruline est produite dans au moins 22 pays : le Bénin, le Brésil, le Burkina Faso, le Tchad, le Chili, la Chine, le Costa Rica, la Côte d'Ivoire, Cuba, l'Équateur, la France, l'Inde, Madagascar, le Mexique, le Myanmar, le Pérou, l'Israël, l'Espagne, la Thaïlande, le Togo, les États-Unis d'Amérique et le Vietnam (FAO, 2008). [19]

2.6 Taxonomie

Le placement taxonomique correct de tout organisme est essentiel pour toute recherche ou application. En ce qui concerne *Arthrospira*, cela a été entravé par les différentes désignations taxinomiques des taxonomistes au cours du siècle dernier. [19]

La Spiruline est une cyanobactérie (anciennement désignée par le terme « algue bleue » puis cyanophycée). Elle appartient donc au domaine des bactéries (Bacteria) et se classe parmi les bactéries gram négatives. Les cyanobactéries forment l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène et peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires. La Spiruline appartient à l'ordre des Nostocales (= Oscillatoriales), la famille des Oscillatoriaceae, le genre Oscillatoria et le sous genre Spirulina ou Arthrospira. [20]

Tableau 1 : la systématique de la Spiruline est comme suit : [21]

Règne	<i>Monera</i>
Sous règne	<i>Procaryota</i>
Phylum	<i>Cyanophyta</i>
Classe	<i>Cyanophyceae</i>
Ordre	<i>Nostocales</i>
Famille	<i>Oscillatoriaceae</i>
Genre	<i>Arthrospira.</i>
Espèce	<i>A. plantensis, A. maxima, A. toliara</i> <i>A. lonar</i> et autres

2.7 Souche d'*Arthrospira fusiformis*

Arthrospira fusiformis est une cyanobactérie filamenteuse, non ramifiée et sans hétérocyste caractérisée par sa forme cylindrique, sa visibilité en croix et son aspect hélicoïdal (Figure 4). La forme hélicoïdale de *A. fusiformis* diffère entre les espèces et au sein d'une même espèce et est contrôlée par des conditions environnementales telles que la température. Par exemple, *A. fusiformis* présente une grande plasticité morphologique vis-à-vis de facteurs environnementaux comme la température et d'autres facteurs physiques et chimiques. [22]



Figure 4 : Variabilité morphologique chez *Arthrospira fusiformis* dans deux lacs de soude à la frange irrégulière nord-est du lac Tchad. Sauvage trichomes frais du lac Kailala[16]

2.8 La culture de la spiruline

La spiruline est présente principalement dans les lacs chauds tropicaux et subtropicaux possédant un pH alcalin, une quantité élevée de sel. Elle est également présente dans les systèmes marins ainsi que terrestres comme les sols désertiques et les glaciers. Elle est retrouvée dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Éthiopie, Tunisie) en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande) et en Amérique Latine (Mexique, Pérou). On retrouve les algues dans les zones marines et d'eau douce. En Irak l'espèce *A. Jenner* a été découverte.[23]

2.9 Conditions de la culture

2.9.1 pH

La Spiruline se développe dans des milieux alcalins, avec un pH optimal entre 8 et 11, si cette variation non respectée peuvent inhiber sa croissance. Le pH du milieu de culture doit être surveillé et ajusté régulièrement. [24]

2.9.2 Température

Les premiers repères concernant les températures sont à peu près les mêmes que pour l'homme 37°C, température idéale pour pousser la vitesse de croissance de la Spiruline [25]. Des températures supérieures à 40°C ne lui conviennent pas, et, elle meurt lorsqu'elle est exposée à 43°C. Par ailleurs, à 20°C, sa croissance est pratiquement nulle. [26]

2.9.2 Lumière

La lumière influence directement la croissance de la Spiruline qui est assurée par la photosynthèse ainsi qu'une forte intensité lumineuse peut conduire à la photolyse et pour l'éviter, il est convenable de vérifier deux conditions nécessaires. [26]

2.9.3 Salinité :

La salinité représente également un facteur abiotique restrictif dans la culture de la spiruline, et elle favorise sa croissance, à condition qu'elle ne dépasse pas la plage optimale de développement, qui est de 30 grammes de sel par litre avec une salinité minimale de 13 grammes de sel par litre comme l'a rapporté [27]

2.10. Technique de culture

2.10.1.1 Ensemencement

Dans un site dépourvu de la Spiruline, ou pour redémarrer avec une nouvelle souche, il doit démarrer avec un gramme de Spiruline concentré dans un volume de culture, si on veut travailler avec un volume important il s'agit de multiplier le volume de semence initiale, il est convenable de faire des cultures successives, si la concentration de culture est plus faible, il faut ombrer avec une agitation continue sinon la Spiruline va s'agglomérer. [28]

2.10.2 Mesure de la concentration d'une culture de Spiruline

La concentration d'une culture peut être évaluée par l'intensité de sa couleur. On utilise pour cela un « disque de Secchi » : il s'agit d'une règle graduée à l'extrémité de laquelle se trouve fixé (perpendiculairement) un petit disque blanc. On plonge cet instrument dans la culture, jusqu'au point où le disque cesse d'être visible. La profondeur du disque est alors lue sur la règle graduée. Une culture est diluée si le disque de Secchi reste visible au-delà de 5-6 cm de profondeur ; une valeur de 2-3 cm correspond à une culture prête à la production. Des valeurs inférieures à 2 cm indiquent qu'il est nécessaire de diluer la culture, ou de récolter fortement. [25]

2.11 Agitation

L'agitation du milieu de culture permet une bonne répartition de la lumière et favorise les échanges gazeux (élimination du dioxygène et absorption du gaz carbonique. [29]

La fréquence d'agitation est aussi un paramètre important, une agitation discontinue et énergique est préférable à une agitation continue mais faible. L'agitation continue des cultures à petits récipients (bouteilles, seaux ou bassines), se fait au moyen d'un petit bullage d'air comme dans un aquarium. [30]

2.12 Ombrage

L'ombrage est nécessaire quand la température de la culture est très basse inférieure de 10C°, avec une forte intensité lumineuse pour éviter la destruction de la Spiruline par la photolyse, ainsi une culture sous ombrage est plus facile à récolter et la qualité de la Spiruline est améliorée. [28]

2.13 Récolte

La récolte doit être organisée de façon à maintenir un flux continu entre matières premières et produit fini ; ainsi, une récolte régulière (tous les deux jours) permet à la culture de garder un rythme de croissance exponentielle. [31]

On récolte de manière à maintenir la concentration en spiruline entre 0,4 et 0,6 g/l. En l'absence de récolte, avec suffisamment de nutriments, la concentration en spiruline croît jusqu'à l'équilibre entre photosynthèse et respiration, il n'est pas bon pour la culture de rester longtemps sans être récoltée, à très haute concentration, celle-ci peut même être une cause de mortalité. [28]

2.14 Séchage

Sur quatre claies rectangulaires, chacune composée d'un cadre en bois avec un grillage en nylon permettant le passage de l'air, on place l'échantillon de spiruline à sécher. Les principaux éléments du dispositif de séchage comprennent une unité en bois de forme parallélépipédique (pour la capture de données) et un micro-ordinateur, qui permet de surveiller la température tout au long de l'opération. Bien que l'atomisation (spray drying) soit utilisée dans l'industrie pour son avantage de rapidité, elle présente un risque d'altération du produit. En revanche, le séchage artisanal, bien que plus long, protège les cellules des gaz chauds. [32]

Ce mode de séchage nécessite cependant que la Spiruline soit protégée par une moustiquaire et qu'elle ne soit pas exposée directement aux rayons du soleil : un soleil intense et direct provoque une destruction de la chlorophylle par les rayons UV, ainsi qu'une altération sensible de son goût et de ses qualités nutritives. [33]

Le séchage au soleil est trop volatil pour être utilisé. Les producteurs de spiruline utilisent le séchage par ventilation à basse température pour empêcher la spiruline de se dénaturer et conserver ses propriétés d'origine. Le séchage par atomisation utilisé dans la grande industrie réduit la teneur en vitamines, en particulier la vitamine E. [34]

2.15 Principales applications de la spiruline

2.15.1 En cosmétique

La spiruline est utilisée dans les masques cryogéniques et crèmes anti-âge pour son action sur le renouvellement cellulaire, et elle est aussi utilisée en synergie avec d'autres algues comme agent cicatrisant et antiseptique. [35]

2.15.2 En alimentation humaine

La Spiruline est connue pour sa richesse en protéines, qui constituent entre 50 et 70% de son poids sec. Ces protéines ont en plus l'avantage d'être facilement assimilable par l'organisme, ce qui évite l'emploi de la cuisson qui altère les nutriments et les vitamines. Les acides aminés essentiels représentent 47% du poids total des protéines. [36]

2.15.3 En alimentation des animaux

Les chiens, les chats, les poissons et les chevaux sont des animaux chez lesquels la spiruline est couramment utilisée. Chez les chevaux, la consommation est très courante pendant la croissance, la compétition ou la récupération. Sachez également que les bons éleveurs de poulets n'hésitent pas à ajouter de la spiruline à leur alimentation. Il s'agit d'une pratique experte qui permet de produire des œufs de bien meilleure qualité. [37]

2.15.4 En médecine

Arthrospira fusiformis possède de nombreuses applications dans le domaine de la santé, et peut être utilisée comme complément de traitement pour plusieurs maladies comme le diabète, l'asthme, le syndrome néphrétique ou l'anémie [38]

2.16 Système de culture

2.16.1 Culture artisanale

Une culture artisanale de la spiruline, a pour but de satisfaire un nombre réduit de personnes, au sein d'une famille, d'une collectivité ou pour des fins humanitaires dans l'espoir de fournir un apport nutritionnel sûr, pour les pauvres, essentiellement les enfants de bas âge souffrant de malnutrition. [38]

La culture artisanale nécessite certainement la construction de bassins en dehors de zones de pollution, qui peuvent être soit en bâche plastique ou en dur (béton, parpaings ou briques), pour la culture de la spiruline, l'eau utilisée doit être de préférence potable, de pluie ou de source, avec une salinité de 13 g/l et un pH entre 9 et 11, les engrais ajoutés devraient assurer la croissance des spirulines comme en agriculture habituelle (N, P, K, S, Mg, Ca et Fer), les oligo-éléments (Brome, Zinc, Cobalt et cuivre) sont apportés par l'eau, le sel et les engrais. Le milieu de culture doit rester peu coloré et peu trouble (pauvre en matières

organiques) et l'eau de rejet peut être utilisée comme engrais pour les plantes halophiles ou en alimentation animale. [30]



Figure 05 : A : bassin en parpaing revêtu en plastique, B : bassin en bâche plastique [20]

Dans ce mode de culture, on utilise des systèmes qui consomment moins d'énergie, avec des moyens pas chers, simples et efficace. Selon les conditions locales, Elle est cultivée en petits bassins en bâches plastique, en dur, ou en argile couvrant avec des planches en bois, films en plastique ou tout autre type de toits (parfois sous serres), permettant de le protéger contre l'excès de pluies, le vent de sable, les feuilles d'arbres...etc. Ils doivent être installés d'une manière facile à vider et à nettoyer avec un système d'agitation électrique ou manuelle par roue à aubes. [17]

L'eau potable, de pluie, de puits, de forage, de mer et toutes autres sources propres et neutres peuvent être utilisées à ce niveau après avoir été filtrées, L'aliment principal de la spiruline est le carbone dont la source normale est le gaz carbonique (vient de l'air) et le bicarbonate de sodium, les autres nutriments peuvent n'être ajoutés qu'une fois par semaine. [30]

2.16.2 Production industrielle

La production à grande échelle de la spiruline pour la culture de masse doit être réalisée dans des zones où les conditions climatiques sont favorables, il est difficile d'avoir une croissance idéale en raison de différents facteurs environnementaux, en particulier la température et le soleil tout au long de l'année. Elle est souvent destinée vers la production de compléments alimentaires. [39]

La culture industrielle de la spiruline est basée sur la recherche scientifique, permettant l'élaboration des protocoles visant à optimiser le milieu de culture afin de maximiser le rendement de la production, en respectant les normes sanitaires et les conditions environnementales saines. [1]



Figure 06 : bassins améliorés à Hawaii [40]

2.17 Composition de *Spiruline*

La composition de la spiruline varie selon les conditions de culture, la période de récolte, l'origine géographique, le procédé de récolte, de séchage, de broyage, de conditionnement, mais aussi par le taux d'ensoleillement et par le fait que certains industriels supplémentent les milieux de culture afin que la spiruline produite soit plus riche en fer, en zinc ou encore en acides gras. En général la spiruline est composée de 65 % de protéines, 15% de glucides, 6 % de lipides, 7% 19 de minéraux et de 3 à 6 % d'eau. Cette composition est très complète et variée : avec un excellent apport en protéines, une bonne répartition des lipides, des glucides, des vitamines, des minéraux et des oligo-éléments.[41]

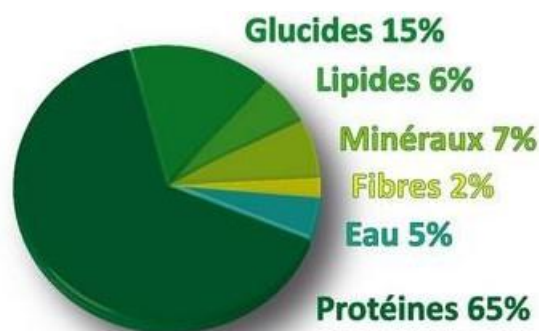


Figure 07 : valeurs nutritionnels moyennes de la spiruline [42]

2.17.1 Protéines

Indispensables à la vie, les protéines sont les molécules organiques les plus abondantes dans le corps humain – responsables de la structure et de la constitution chimique des individus – sous forme d'enzymes, d'hormones, d'anticorps, réparant les tissus, et essentiels à l'équilibre acidobasique. 20 acides aminés sont à la base des protéines, le corps étant capable d'en fabriquer 12, les 8 autres étant considérés comme essentiels et doivent être apportés par l'alimentation. La spiruline contient ces 8 acides aminés essentiels en proportions intéressantes et directement assimilables. Elle possède 50 à 70 % de son poids sec en protéines avec des variations de 10 à 15 % selon le moment de la récolte. Plus la luminosité est élevée, plus le pourcentage en protéines est élevé.

Elle représente 10 à 11% de la masse humide, soit 60 à 70% de sa matière sèche. Ce pourcentage est bien plus élevé que celui du poisson (25%), de la viande (20%) du soja (35%), de la poudre de lait (35%) et des céréales (14%). [43]

La spiruline ne possède pas de paroi cellulosique mais une enveloppe relativement fragile, constituée de polysaccharides. Cette faible teneur en cellulose explique sa digestibilité de l'ordre de 75 à 83% [44].

De ce fait, la spiruline ne nécessite pas de cuisson ni même l'administration d'un traitement spécial pour une bonne digestibilité protéique. Au bout de 18 h, 85% des protéines sont digérées et assimilées. La NPU (l'Utilisation Protéique Nette) de la spiruline est de 83% à 90% et est d'autant plus intéressante lorsqu'elle est comparée à celle des lentilles (30%), de la viande de bœuf (15%) ou du lait de vache (12%). [45]

2.17.2 Lipide

En totalité ils représentent moins de 10% du poids sec [46]. Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%) contenant essentiellement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols [47]

La Spiruline n'est pas un aliment gras, les lipides ne représentent, généralement, que à 8% de son poids sec, mais ce pourcentage peut atteindre 11% à 14% maximum selon les modes d'extraction ou la souche de SPIRULINE utilisée. Le contenu en acide gras de la spiruline peut être aussi modifié suivant les conditions de culture [48]

Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83 %) et une fraction insaponifiable contenant essentiellement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols. La fraction saponifiable est surtout composée de monogalactosyldiglycérides et de digalactosyldiglycérides, 23%, de sulfoquinovosyldiglycéride, 5%, et de phosphatidyl glycérol, 25.9% . On ne trouve ni

phosphatidyl choline, ni phosphatidyléthanolamine, ni phosphatidyl inositol en quantités appréciables. Les triglycérides sont rares 0.3%. On détecte en outre 4.6% de phospholipides indéfinis [49]

2.17.3 Glucides

Les glucides simples ne sont présents qu'en très faible quantité et sont le glucose, fructose et saccharose. Il existe également des polyols tels que le glycérol, le mannitol et le sorbitol [49] D'un point de vue nutritionnel, le seul glucide intéressant par la quantité qu'il contient La spiruline est un phosphate de miso-inositol et est une excellente source de phosphore organique Ainsi que l'inositol (350-850 mg/kg de matière sèche)

Tableau 02 : composition des Glucides. [50]

Eléments chimiques	Pourcentage
Glucide simple	Trace
Glucosane	1.9
Rhamnosame	9.7
Cyclitols	2_3
Immulina	0.5_2

Les glucides représentent entre 15 et 25% de la matière sèche. Les glucides simples sont en très faible quantité (glucose, fructose et le saccharose), l'essentiel des glucides assimilables est constitué de polymères tels que : glucosanes aminés (1.9% du poids sec) rhamnosannes aminés (9.7%) glycogène (0.5%) [51]

Du point de vue nutritionnel, la seule substance glucidique intéressante par sa quantité chez Arthrospira est le méso- inositol phosphate qui constitue une excellente source de phosphore organique ainsi que d'inositol (350- 850 mg/kg mat. Sèche) [52] [53]

Les polysaccharides présentent de multiples intérêts thérapeutiques, notamment dans la stimulation des mécanismes de réparation de l'ADN [54] dans son effet radio-protecteur et dans la neutralisation des radicaux libres [55]

2.17.4 Acides nucléiques

La Spiruline renferme 4,2 à 6% d'acides nucléiques totaux (30% ADN et 70% ARN) dans sa matière sèche. La richesse en acides nucléiques d'un aliment peut induire à terme une production importante d'acide urique par dégradation biochimique des purines. L'ARN en produit deux fois plus que l'ADN. L'excès de cet acide peut entraîner à la longue des calculs rénaux et des crises de gouttes. Il est admis que la dose maximale d'acides nucléiques

tolérables à long terme est de 4g/j pour un adulte. Il faudrait consommer 80 g de Spiruline sèche pour atteindre cette dose (la quantité de Spiruline usuellement consommée ne dépasse pas 10 g de matière sèche) [56]

2.17.5 Pigment

Les pigments sont des substances naturelles qui donnent des couleurs à un organisme. Ils apparaissent comme indispensables à la vie puisqu'ils interviennent dans diverses Réactions moléculaires et de synthèse d'enzymes, nécessaires à l'équilibre de l'organisme. Ces pigments peuvent provenir de sources animales, végétales ou minérales. La spiruline n'en contient pas moins d'une quinzaine et quatre se révèlent déjà particulièrement intéressants [57]

Tableau 03 : teneur en pigment exprimée en mg pour 10g de matière Spirulinaplatensis séchée [58]

Pigments	Teneur en mg/100g
Chlorophylles totales	115
Chlorophylle a	61-75
Caraténoides (orange)	37
Phycocyanine (bleu)	1500-2000
Phycoérythrine (rouge)	2900-10000

Les trois principaux pigments, contenus dans la Spiruline, responsables de sa couleur sont la chlorophylle, la phycocyanine et la β carotène [59]

2.17.6 La Chlorophylle

Le taux de chlorophylle contenu dans la Spiruline est d'environ 1%, l'un des plus élevés que l'on puisse trouver dans la nature [60]

Sa structure étroitement apparentée à celle de l'hémoglobine des mammifères lui confère parfois l'appellation de « sang vert », c'est à ce pigment photosynthétique que la Spiruline doit sa couleur verte : bien que ce ne soit pas le pigment le plus important en quantité, son fort pouvoir colorant l'emporte sur les autres [60]

Faisant l'objet de nombreuses études, la chlorophylle a démontré plusieurs qualités, par exemple, contribue à rétablir l'équilibre acido-basique, améliore le travail cardiaque, régule le transit intestinal, augmente le taux des globules rouges et stimule la cicatrisation interne comme externe [60]

2.17.7 La Phycocyanine

La phycocyanine est le plus exceptionnel pigment faisant partie de la composition de la Spiruline [59]

Responsable de sa couleur bleutée, c'est le plus puissant antioxydant et anti-radicalaire que l'on puisse trouver, véritable booster de nos défenses naturelles, il stimule la formation des globules rouges, favorise l'activité musculaire, inhibe la croissance des cellules cancéreuses et détoxifier l'organisme de tous produits chimiques nuisibles à notre corps [61]

2.17.8 La Bêta-carotène

La bêta-carotène, pigment orange, précurseur de la vitamine A, aussi présent dans la Spiruline en grande quantité, joue un rôle important dans le renouvellement des cellules et dans les défenses immunitaires [20]

2.17.9 Minéraux et oligo-éléments :

La composition en minéraux de la Spiruline apparaît dans le tableau N°5. On observe une grande variabilité dans les teneurs. Elle s'explique par le fait qu'elles concernent les spirulines en milieu naturel et celles cultivées. En outre, il est possible d'augmenter les teneurs en minéraux des organismes cultivés [49]

Tableau 04 : Composition en minéraux de la spiruline (en µg/g de matière sèche) [67]

Eléments	Quantités (mg/kg de biomasse sèche)
Cr	11,3 à 14,2
Fe	900 à 1176
Mn	554 à 592
Zn	21 à 375
Ca	4320
Cl	4890
K	9000
Mg	670 à 2700 ²
Na	4500 à 235000 ³
P	6700 à 9000 ⁴

2.17.10 Vitamines :

La SPIRULINE est une algue vitaminée, elle est la deuxième source de vitamine B1 derrière la levure de bière. Elle contient aussi une concentration relativement élevée de provitamine A, vitamine B 12 et β -carotène. [1]

2.17.10.1 Les vitamines liposolubles

Les vitamines A, D, E et K sont liposolubles. Elles sont retrouvées dans les aliments riches en graisse et sont stockées dans le foie ou dans le tissu adipeux d'où le risque de surdosage. Si la vitamine D est présente dans les corps gras (source exogène) elle est aussi produite par la peau (source endogène) suite à une exposition au soleil.

Le β -carotène représente 80 % des caroténoïdes contenu dans la spiruline, les 20 % restants sont de la physoxanthine et de la cryptoxanthine. Ces deux caroténoïdes sont convertis en vitamine A uniquement par les mammifères. La vitamine A est retrouvée dans les aliments d'origine animale (foie, huile de foie de morue, poissons, œufs et laitages) sous forme de rétinol, directement utilisable ; dans les végétaux c'est son précurseur, le β -carotène, ou provitamine A, uniquement transformé selon les besoins de l'organisme qui est retrouvé. 4 g de spiruline apportent autant de β -carotène que 100 g de légumes de couleurs. [62]

2.17.10.2 Les vitamines hydrosolubles

Les vitamines hydrosolubles B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12, C ne sont pas stockées par l'organisme mais éliminées par le rein et dans la sueur donc si les besoins journaliers ne sont pas satisfaits les réserves s'épuisent. Selon la provenance de la spiruline, la vitamine C est soit absente soit en quantité négligeable. [62]

2.18 L'importance de spiruline dans la Santé :

Ce micro-organisme contenant de nombreux éléments importants telle que les protéines, les vitamines, la phycocyanine le fer et le bêta-carotène avec des quantités exceptionnelles. De nombreux avantages pour la santé résultent de sa richesse, elle possède des propriétés anti-inflammatoire, immunomodulateurs, antiviral, antibactérien et antianémique, elle nous offre également des effets sur le cancer, le diabète et l'obésité [63].

MATERIELS ET METHODES

3. MATERIELS ET METHODES

3.1 Présentation du lieu de stage

Cette présente étude a été réalisée au niveau du laboratoire du centre de coaching et de consulting médical Ilya International. Ce centre, spécialisé dans l'accompagnement et le développement de projets dans le domaine de santé, offre un environnement adapté à la réalisation d'activités expérimentales et d'analyses en laboratoire.

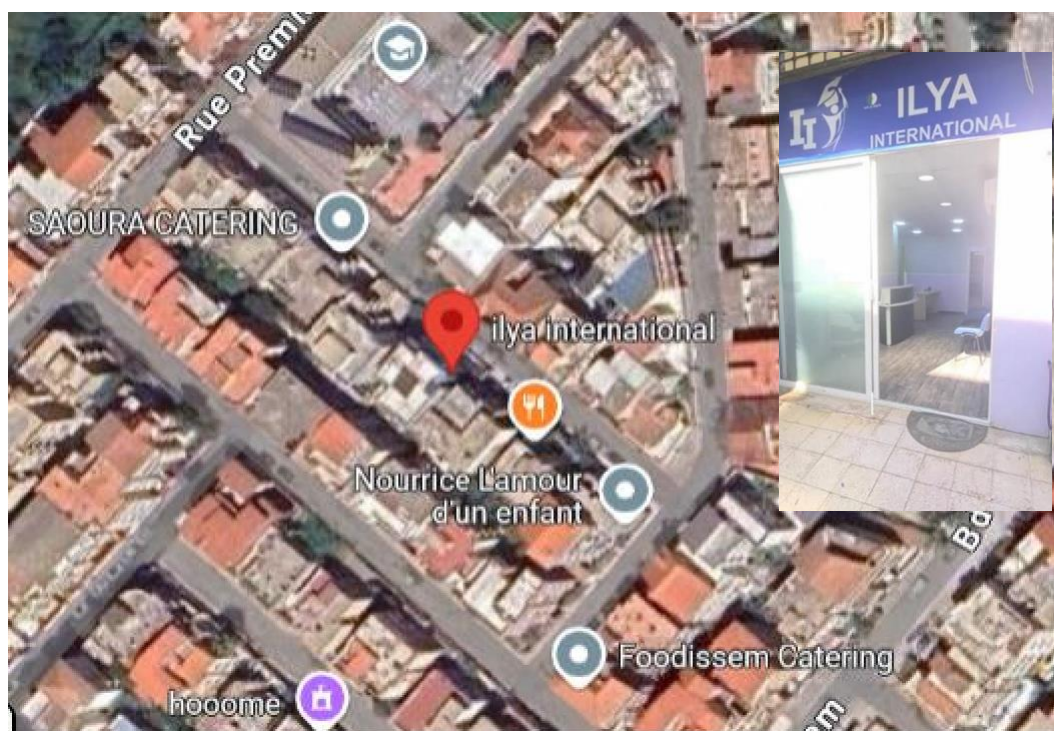


Figure 8 : Situation géographique de ILYA International School

3.2 Présentation du laboratoire

L'ensemble des analyses microbiologiques de ce travail ont été réalisées au sein du laboratoire de l'établissement ILYA International School, situé à Dar El Beïda (Alger). Ce laboratoire est équipé pour la réalisation d'analyses microbiologiques courantes, notamment celles destinées au contrôle de qualité de produits alimentaires.

3.3 Matériel algal et végétal

La souche mère de Spiruline Htam (**HiriTamanrasset**) provient de la région de Tamanrasset au niveau de la Guelta du Palmier situé à 1824 m d'altitude (23°N., 5°E.). Le

transport des échantillons de la poudre de la spiruline est réalisé dans des conditions aseptiques pour éviter toute contamination et pour éviter tout contact avec l'air extérieur les échantillons ont été mis dans des récipients stériles.

Le milieu de culture utilisé est celui de Hiri, un milieu standard constitué d'eau distillée et de plusieurs composées chimiques dans des proportions déterminé (Voir annexe 1).

La pratique de filtration [32], se fait sur une toile fine (maille 25 à 50 μ). L'essorage est nécessaire en l'absence de lavage, il se pratique avec uneessoreuse ou sur filtre à vide (pompe à vide).

La spiruline bien séchée est craquante contient moins de 9% d'eau, se détache toute seule du support de séchage et se laisse facilement piler ou broyer au moulin à café en une poudre plus ou moins fine selon le goût de chacun [32]

La réactivation de la poudre de spiruline se fait dans un milieu liquide constitué d'eau distillée (1000 mL), de bicarbonate (0,2%).

On prélève 100 mL de cette solution que l'on chauffe pendant 10 à 20 minutes à 50-60°C puis on ajoute 2 à 4 gramme de poudre sèche de Spirulina après quelques minute (20 à 30 min), on agite doucement jusqu'à homogénéisation totale [64]

Les biscuits fabriqués artisanalement des différents échantillons étudié est produit à partir d'une farine de blé tendre (farine SOSEMIE composée de blé tendre) en respectant les mêmes conditions physiques.

Les germes pathogènes et d'altération à ATCC proviennent de la collection de l'institut Pasteur.

3.4 Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologique, effectuées sur les échantillons de spiruline, comprimés, gélules visaient à contrôler la qualité hygiénique de ces produits : il s'agissait donc d'un contrôle de matière première et de produits finis.

3.5 Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales

La spiruline destine aux analyses microbiologiques dans notre étude est solides donc directement pipetables, de ce fait, ils nécessitent une fluidisation représentée par ce qu'on appelle : la suspension mère. Cette suspension doit être préparée dans des conditions d'asepsie

rigoureuse en manipulant sous hotte à flux laminaire, on a procédé à leurs préparations selon la norme **NF V 08-301,1983**.

Une masse de 25 g de l'échantillon est prélevée aseptiquement et homogénéisée dans 225 mL de solution physiologique stérile afin d'obtenir la dilution 10^{-1} . Des dilutions décimales successives (selon le besoin) sont ensuite réalisées en transférant 1 mL de la dilution précédente dans 9 mL d'eau physiologique stérile, avec un changement de pipette stérile à chaque étape. Toutes les manipulations sont effectuées dans des conditions strictement aseptiques afin d'éviter toute contamination croisée.

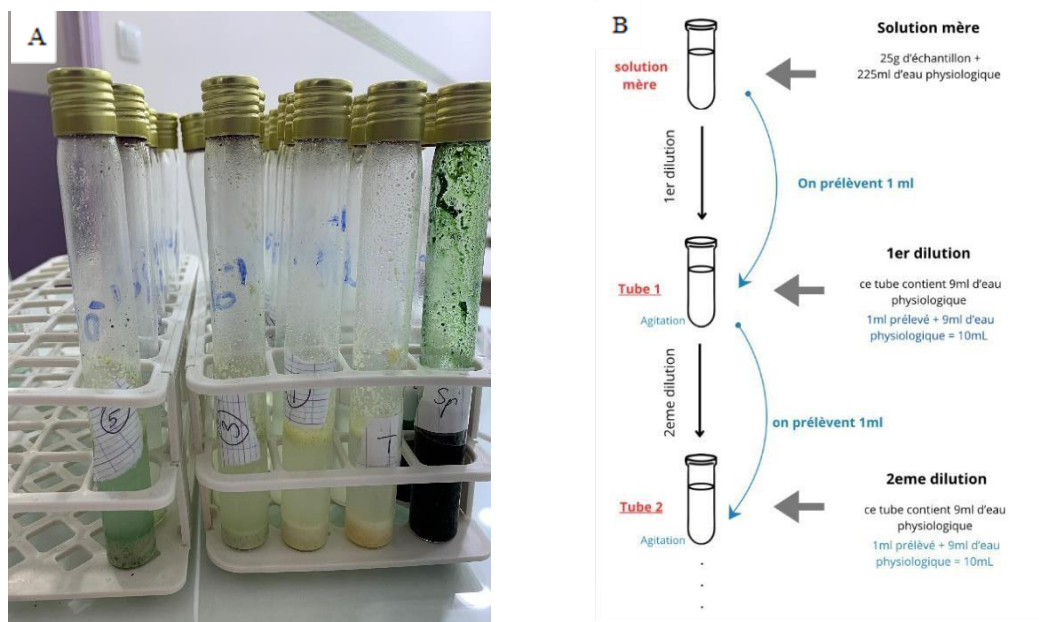


Figure 9 : Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales

A : les dilutions décimales réalisées sur chaque échantillon

B : schémas explicatif des dilutions à partir de la solution mère

3.6 Les dilutions décimales réalisées sur le produit fini

Les dilutions décimales sont faites à partir d'une solution mère préparée suivant la méthode suivante :

On met une pastille de 1 g dans 10ml d'eau physiologique et à partir de cette solution on prépare les autres dilutions jusqu'à 10^{-3} .

3.7 Recherche et dénombrement de la flore microbienne

Les analyses microbiologiques reposent sur la recherche et le dénombrement des germes les plus significatifs de l'état hygiénique de produit. Nous avons effectué :

- La recherche et le dénombrement de la flore mésophile totale qui est indicatrice de la qualité du produit.
- Recherche et dénombrement de la flore anaérobie mésophile totale.
- La recherche des germes pathogènes : Les Entérobactéries : Les salmonelles, E. coli ...
- La recherche des levures et moisissures.

3.8 Recherche et dénombrement de la flore mésophile totale

C'est l'ensemble des microorganismes aptes à se multiplier à l'air libre avec une température optimale située entre 25°C et 45°C. [65]

3.8.1 But

Le dénombrement de ces germes reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de qualité des aliments dans un contrôle.

Un aliment dont la flore totale est au-dessus des normes aura subi de mauvaises conditions de conservation et sera considéré comme impropre à la consommation

3.8.2 Principe

Le milieu utilisé est une gélose nutritive de type PCA, non sélective et riche en nutriments (peptone, extrait de levure, glucose). Après incubation (30 °C, 72 h), la flore mésophile totale apparaît sous forme de colonies bien délimitées, opaques ou de couleur paille typique des bactéries aérobies mésophiles. [66]

3.8.3 Mode opératoire

A partir des dilutions décimales allant de 10^0 à 10^{-3} nous avons mis aseptiquement 1ml dans une boîte de pétri vide et stérile. Nous avons complété ensuite avec environ 15ml de gélose PCA.

Puis nous avons effectué des mouvements circulaires en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger avec la gélose. Nous avons par la suite laissé se faire la solidification sur la paillasse ; les boîtes sont ensuite mises sous incubateur à 30 °C pendant 72 heures [67]

3.8.4 Lecture

Retenir les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 à 300 UFC/ml.

Les résultats sont exprimés en nombre de germes par ml ; elles sont données par la formule suivante :

$$N = \frac{\sum \text{compte}}{(n_1 d_1) + (n_2 d_2) + (n_3 d_3) + \dots \times V} \dots\dots\dots (1)$$

N : nombre de germes par ml de produit

∑ Comptes : somme des colonies comptées sur les boîtes retenues

n : nombre de boîtes utilisées pour chaque dilution.

D : facteur de dilution ou la dilution considérée.

V : volumeensemencé (en mL)

3.9 Recherche et dénombrement de la flore anaérobie mésophile totale sur gélose Viande-Foie

3.9.1 But

Le dénombrement de la flore totale anaérobie constitue un bon indicateur de la qualité microbiologique générale d'un produit, notamment alimentaire.

Il permet d'évaluer la charge microbienne globale, et donc l'hygiène de fabrication, les conditions de stockage et la durée de conservation potentielle d'un produit. [68].

3.9.2 Principe

Le milieu utilisé est une gélose **Viande-Foie**, milieu nutritif non sélectif, enrichi en extraits de viande et de foie, fournissant des acides aminés, vitamines et facteurs de croissance. Il favorise la croissance de bactéries exigeantes, notamment anaérobies ou microaérophiles. Les colonies de bactéries mésophiles apparaissent sous forme de points opaques bien délimités.[66]

3.9.3 Mode opératoire

À partir des dilutions décimales appropriées, 1 mL de la dilution choisie est transféré dans une boîte de Pétri stérile, puis ensemencé en profondeur en y ajoutant 15 à 20 mL de gélose Viande-Foie fondue, préalablement maintenue à 45 °C. Après homogénéisation et solidification du milieu, les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 72 heures. [69]

3.9.4 Lecture :

Retenir les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 à 300 UFC/mL. Les résultats sont exprimés en nombre de germes par mL ; elles sont données par la formule (1).

3.10 Recherche des germes pathogènes : Entérobactéries, Salmonelles, E. coli sur milieu VRBG

3.10.1 But

Cette recherche permet de détecter la présence de **bactéries pathogènes appartenant à la famille des Entérobactéries**, notamment *Salmonella spp.* et *Escherichia coli*, fréquemment impliquées dans les toxi-infections alimentaires collectives. Leur présence témoigne d'un défaut de sécurité microbiologique. [70]

3.10.2 Principe

Le milieu utilisé est la **gélose VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar)**. C'est un milieu **sélectif et différentiel** contenant de la bile et du violet de gentiane pour inhiber les bactéries Gram positives. Le glucose est la source de fermentation.

Après incubation (37 °C pendant 24 h), les entérobactéries apparaissent sous forme de **colonies rouges à centre sombre ou noircies**, typiques d'une fermentation du glucose avec acidification du milieu. [71]

3.10.3 Mode opératoire

1 ml de l'échantillon dilué est réparti en boîte de Pétri, puisensemencé avec 15 ml de gélose VRBG fondue à 45 °C. Après solidification, les boîtes sont incubées **en anaérobiose partielle** (boîte retournée) à 37 °C pendant 24 h.

Les colonies caractéristiques sont comptées, puis éventuellement confirmées par tests biochimiques. [72]

3.10.4 Lecture

Retenir les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 à 300 UFC/ml.

Les résultats sont exprimés en nombre de germes par ml ; elles sont données par la formule (1).

3.11 Recherche des levures et des moisissures

Ces champignons qui comprennent les levures et moisissures sont capables de se développer en milieu acide et au froid [67].

Leur croissance est moins rapide que celle des bactéries, mais très peu exigeante en éléments nutritifs (AFNOR, 1998). Ils provoquent des défauts de fabrication qui se traduisent par des altérations nutritionnelles et organoleptiques des produits. [67]

Le milieu utilise doit inhiber la croissance de toutes les bactéries, il doit renfermer donc une substance inhibitrice de leur développement (antibiotique) la substance choisie est donc l'oxytetracycline pour OGA

3.11.1 Technique

A partir de la dilution décimale 10, ensemercer aseptiquement 0.1ml dans une boîte de pétri contenant de la gélose OGA. Étaler cette suspension à l'aide d'un râtelier stérile, puis incubé à 25°C pendant 3 à 5 jours.

3.11.2 Lecture

Les colonies de levures ressemblent à celles des bactéries mais en plus grand ; elles sont brillantes, rondes, bombées et de couleurs différentes, alors que celles des moisissures, ont un aspect velouté, de couleur blanche ou pigmentée et de tailles plus grandes que les précédentes. Les résultats sont exprimés en nombre de germes par millilitre ou par gramme de produit.

Retenir les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 à 300 UFC/ml.

Les résultats sont exprimés en nombre de germes par ml ; elles sont données par la formule (1).

3.12. Méthodes appliquées

Pour la préparation des recettes à partir des quatre ingrédients, par rapport le témoin utilisé, nous a proposé 3 mixtures possibles (Tableau 05), lesquelles sont utilisées pour formuler nos biscuits d'énergie.

Les quantités des quatre ingrédients utilisés sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 05 : Quantités des ingrédients utilisés dans le mélange.

Mixtures	Poudre de spiruline	Farine complète	Beurre	Sucre
A	1g	100g	50g	30g
B	3g	100g	50g	30g
C	5g	100 g	50g	30g
Totale	8g	300g	150g	90g

Pour la préparation de notre mélange à chaque fois on a augmenté le pourcentage de la poudre de spiruline de 1% à 3% à 5% et on a complété 100 g avec d'autres ingrédients.

3.12.1 Préparation des biscuits d'énergies

La préparation des biscuits d'énergies a été réalisée en quatre étapes :

Taux d'incorporation de la spiruline séché consiste à mélanger 1g de biomasse sèche finement broyé avec 100g de farine.

3.12.2 Préparation de la pâte à biscuit

Les ingrédients ont été mélangés tout en commençant par dissoudre la poudre de spiruline et le sucre dans le beurre fondu (figure 11) puis on rajoute de la farine (figure 12).

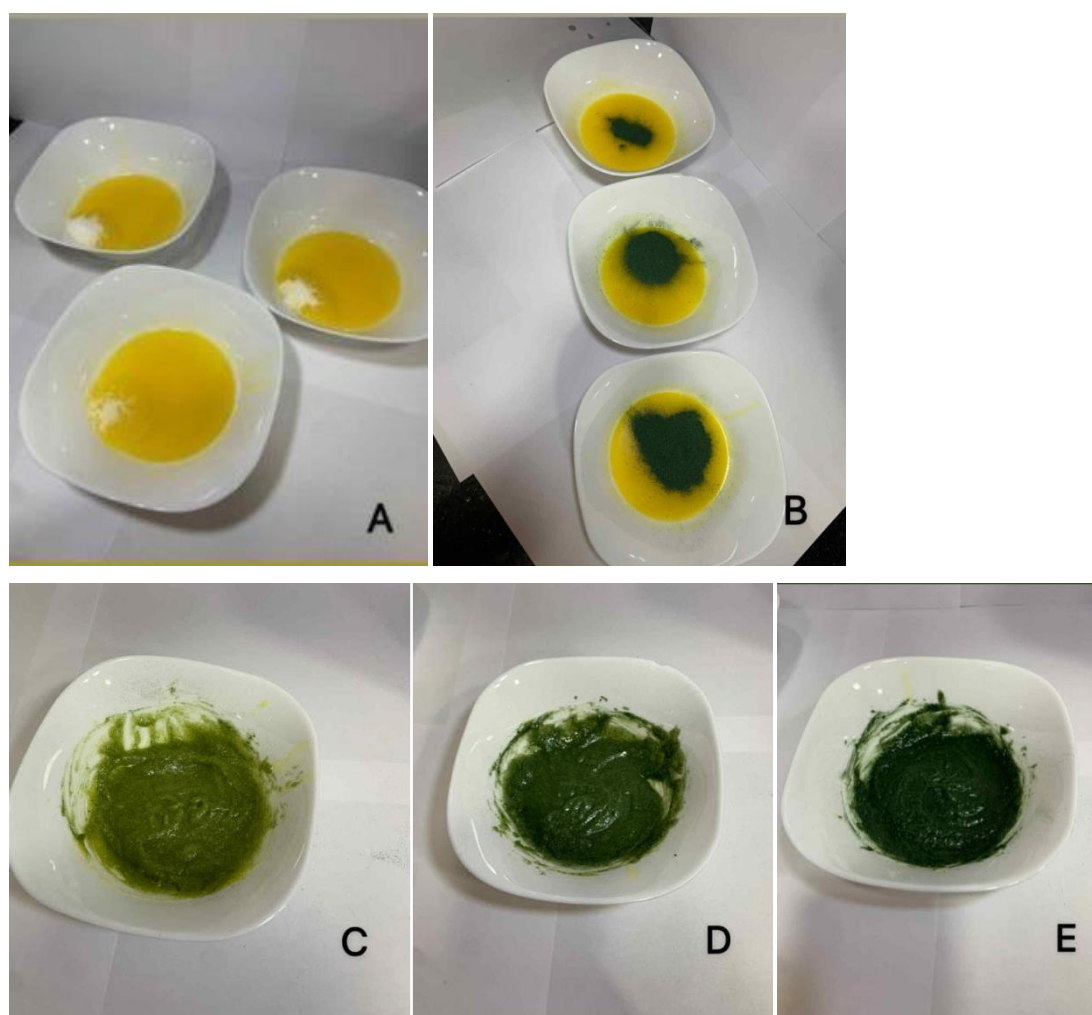


Figure 10 : Préparation de la pâte de biscuit. (A)beur fondu + sucre (B) l'ajout de spiruline (C) la pâte de biscuit 1g spiruline (D) la pâte de biscuit 3g de spiruline (E) la pâte de biscuit 5g de spiruline

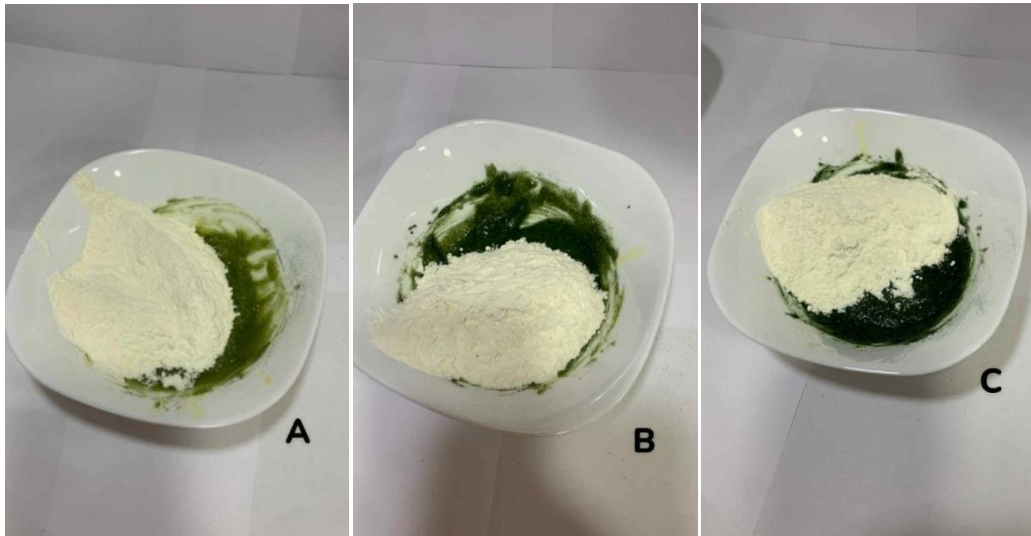


Figure 11 : l'ajout de la farine dans les différentes pâtes : (A) de 1g de spiruline (B) de 3g de spiruline (C) de 5g de spiruline.

3.12.3 La mise en forme :

Cette étape consiste à former des boules de poids et forme régulière, nous avons fait des boules de poids 35 g puis façonnés manuellement des ronds de biscuit. (Figure 13).



Figure 12 : Les boules 35g du biscuit

3.12.4 La cuisson :

Le four est préchauffé à 160-170°C. Les pâtons de biscuite sont placés sur les plateaux à cuisson puis enfournés à une température comprise entre 170 et 180°C. La température est réglée manuellement. Cette opération nous a permis d'obtenir des biscuits de bonne qualité par le réglage de la température de cuisson. La cuisson dure 20 à 25 minutes. Lorsque les biscuits sont cuits, les plateaux sont retirés du four et refroidis.



Figure 13 : les biscuits après la cuisson

3.13 Analyse sensorielle :

Concernant les biscuits d'énergies, les qualités organoleptiques les plus fréquemment étudiées avec cette technique sont : couleur, odeur, goût, granuleux, saveur, fondant, collant, glissant.

Le test de dégustation a été réalisé avec 5 personnes.

L'analyse sensorielle a été réalisée selon le test hédonique pour évaluer d'une façon générale, le degré d'appréciation du produit élaboré en réalisant des profils sensoriels.

La séance de dégustation s'est déroulée au niveau d'une salle de réunion dans le centre de coaching et de consulting médical **Ilya International**.

Cinq (05) dégustateurs ont participé à cette analyse des deux sexes dont 3 femmes et 2 hommes de 19 ans à 44 ans. Ils étaient des étudiants sélectionnés d'après leurs disponibilités et

volontés à participer à ces essais. Les sujets ne sont pas entraînés mais ils ont l'habitude de participer aux évaluations sensorielles. Celle-ci a été réalisée au premier jour de la production sur des échantillons. La séance a eu lieu de 11h à 12h.

Des échantillons de 35g (**Figure 15**) ont été présentés simultanément dans des assiettes en verre et étiquetés avec un code. Les sessions d'évaluation ont été effectuées de façon séparée pour qu'il n'ait pas influence entre les membres du panel.

Nous avons demandé aux dégustateurs d'évaluer chaque échantillon codé par entourer la réponse en se basant sur l'analyse organoleptique des produits : couleur, l'odeur, le gout, le granuleux, la saveur (Annexe 03).

Le but de cette analyse c'était de choisir le mélange le plus apprécié pour poursuivre la caractérisation des autres paramètres de notre produit fini et le témoin afin de réaliser une comparaison entre les deux.



Figure 14 : la séance de dégustation









3.14 Analyse statistique :

L'outil auto diagnostique a pour l'objectif d'évaluer les résultats de l'analyse sensorielle et organoleptique des produits grâce à des graphes radars à l'aide de logiciel « Excel 2013 ».

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne. L'outil auto diagnostique permet de :

- Faire une comparaison entre la qualité organoleptique des quatre produits.
- Découvrez ce sur quoi le consommateur se concentre lorsqu'il déguste les biscuits d'énergies, par le produit qu'il a choisi.

3.15 L'explication du questionnaire :

-  **Couleur** : peut influencer sur la perception du consommateur et son choix
-  **Odeur** : est perçue par le nez lors de l'inhalation des composés volatils du produit qui donne des indices sur la qualité.
-  **Saveur** : pour évaluer les goûts de bases.
-  **Gout** : c'est juger la sensation globale en bouche qui inclut : la texture la saveur et l'arrière-gout.
-  **Granuleux** : dans le produit il est possible de percevoir des grains : perception sous le palais.
-  **Fondant** : il correspond à la facilité avec laquelle le produit fond en totalité dans la cavité buccale.
-  **Glissant** : c'est la capacité du produit à glisser rapidement suite à la mastication du produit puis son évacuation à travers le palais.
-  **Collant** : capacité du produit à coller aux dents ou qu'il adhère plus au moins s'il ne colle pas.

3.16 La méthode de la diffusion des puits :

Méthode de diffusion en milieu solide :

L'activité antimicrobienne du surnageant brut actif ainsi que de l'extrait cellulaire est testée par la méthode de diffusion en milieu solide Le milieu gélosé approprié estensemencé à raison de 10% avec les souches cibles (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* , *Salmonella typhi* et *E.coli*) agée de 18h (préculture). 20 mL de cette gélose sont coulés dans des boîtes de Pétri. Des puits de 4 mm de diamètre sont creusés stérilement avec une pipette pasteur et seront remplis avec 50 uL du surnageant de la suspension algale. Ces boîtes de Pétri sont mises à une

température de +4°C/ 4h pour permettre la bonne diffusion de la substance antibactérienne. Les cultures seront mises dans leurs conditions optimales de croissance.

La lecture se fait par la mesure du diamètre en mm des zones d'inhibition formées autour des puits (Zi). Une inhibition est considérée positive si le diamètre est supérieur à 2 mm [73].

La mesure du diamètre d'inhibition Zi est effectuée selon la formule suivante

$$\text{Zi en (mm)} = \text{diamètre de la zone d'inhibition obtenue (mm)} - \text{diamètre de puits (6 mm)}$$

La diffusion de la spiruline sur la gélose permet d'avoir comme résultat positif une zone d'inhibition après incubation. La lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues pour chacune des souches.

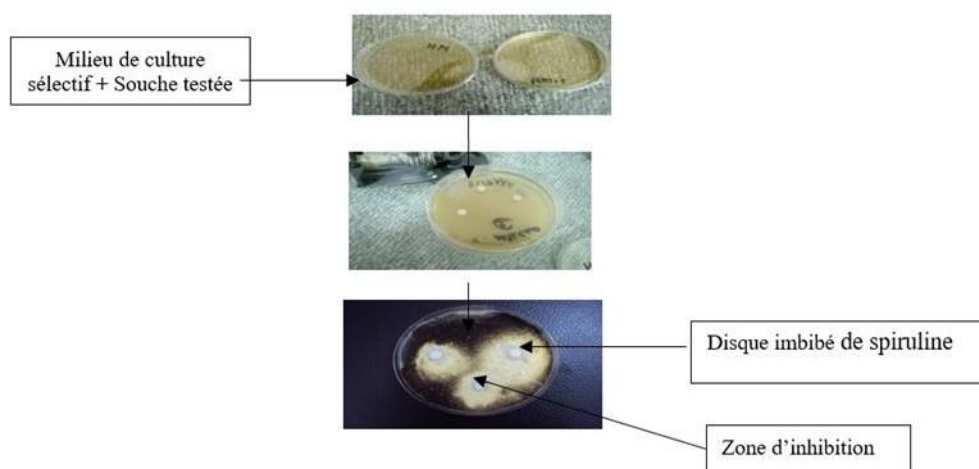


Figure 15 : Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de Pétri.

3.17. Les analyses physicochimiques

3.17.1. Teneur en eau

(NA.1132/1990 tiré de la méthode normalisée AFNOR NF ISO 711 de juin 1989).

Une quantité de 5g de la spiruline pure va subir à un étuvage à pression atmosphérique et à une température de 130 -133C° pendant 2 heures. La perte de masse observée est équivalente à la quantité d'eau présente dans l'échantillon exprimé en pourcent selon la relation suivante :

$$H = (M_1 - M_2) / M_0 \times 100$$

H : humidité (%).

M₀ : la masse (g) de la prise d'essai (5g).

M₁ : la masse (g) la capsule + la prise d'essai avant séchage.

M₂ : la masse (g) de la capsule + la prise d'essai après séchage.

3.17.2. Teneur en cendres

(NA.732/1991 tirer des méthodes normalisées AFNOR NFV03-720 décembre 1981).

Le taux de cendres est déterminé par incinération de 5 g de l'échantillon dans un four à moufle préalablement chauffé à 900° C pendant une durée de 1h30min jusqu'à combustion complète de la matière organique. La teneur en cendres est déterminée par la pesée du résidu obtenu.

$$T_c = (M_2 - M_0) \times 100 \times 100$$

$$(M_1 - m_0) 100 - H$$

T_c : taux de cendre (% de matière sèche).

M₀ : la masse (g) de la nacelle vide.

M₁ : la masse (g) de la nacelle+la prise d'essai (avant incinération).

M₂ : la masse (g) de la nacelle+le résidu (après incinération).

H: la teneur en eau (%) de la masse de l'échantillon.

3.17.3. Teneur en protéines

(NA.1158/1990 tirer de la méthode de KJELDAHL NF 1.1.34 /1985)

Le principe de cette méthode est basé sur une minéralisation de l'échantillon suivi d'une distillation et d'un titrage de l'ammoniac. La teneur en protéines se calcule à partir de la teneur en azote par l'intermédiaire d'un facteur de conversion, elle est exprimée en % par rapport à la matière sèche selon la relation suivante :

$$T_p = k \times 100 \times (100 - H) \times T_a$$

K: coefficient de conversion de l'azote en protéines totales (K= 5,7 cas du blé)

H: humidité (%)

Ta: teneur en azote exprimée en g/100 g ($T_a = V/M \times 0,0014 \times 100$)

V: volume (mL) de la solution d'acide sulfurique versé à la burette lors du titrage

M: masse (g) de la prise d'essai (1 g)

RESULTAT ET DISCUSSION

CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1 Résultats des analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques réalisées sur les différents milieux de culture (PCA, VRBG, OGA et VF) ont permis d'évaluer l'effet de l'incorporation progressive de spiruline sur la qualité hygiénique des biscuits. L'étude a porté sur cinq échantillons : spiruline pure, biscuit témoin (sans spiruline), et biscuits enrichis à 1 g, 3 g et 5 g de spiruline. Les résultats ont été exprimés en log (UFC/mL) pour permettre une comparaison précise des charges microbiennes. Cette approche a permis de mettre en évidence l'efficacité antimicrobienne dose-dépendante de la spiruline, observée à travers la diminution des flores totales, coliformes, levures et moisissures.

Tableau06 : les résultats de la flore aérobie mésophile totale sur milieu PCA pour chaque échantillon :

Echantillon/dilution	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	Moyenne (UFC/mL)	$\text{Log}_{10}(\text{UFC/mL})$
Spiruline pure	<30 (insuffisant)	<30 (insuffisant)	<30 (insuffisant)	non calculable (trop faible)	non calculable (trop faible)
Témoin (biscuit sans spiruline)	286	180	60	5260	3.72
Biscuit enrichi avec 1g	260	132	56	4480	3.65
Biscuit enrichi avec 3g	180	80	<30	2600	3.41
Biscuit enrichi avec 5g	45	<30	<30	450	2.65

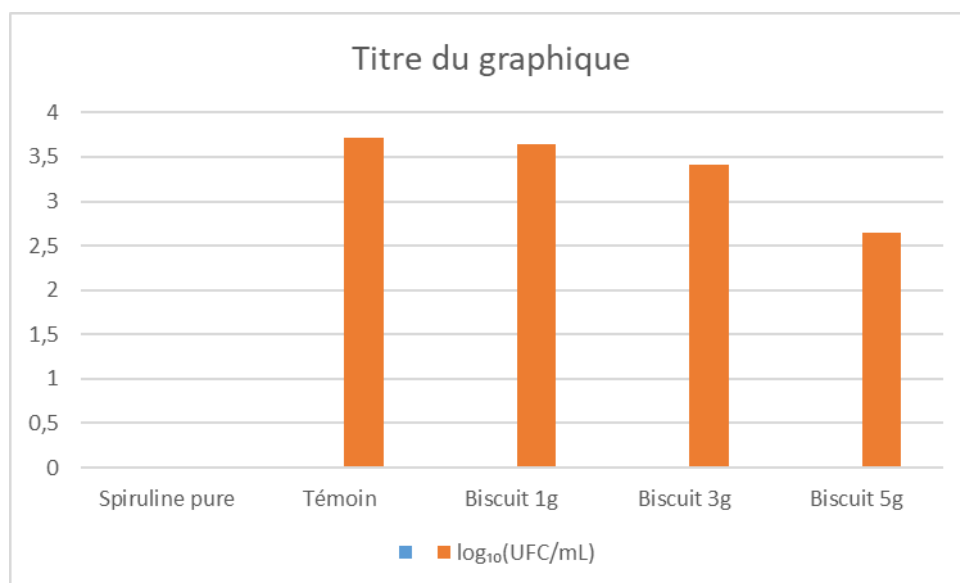


Figure 16 : Évolution de la charge microbienne en fonction de la concentration en spiruline sur milieu PCA (log UFC/mL)

Interprétation : L'analyse sur milieu PCA montre que la charge microbienne diminue avec l'augmentation de la quantité de spiruline dans les biscuits. Le témoin (sans spiruline) présente la contamination la plus élevée avec une charge de **log 3,72 UFC/mL**, tandis que les biscuits avec 1 g, 3 g et 5 g de spiruline affichent respectivement **log 3,65**, **log 3,41** et **log 2,65 UFC/mL**. Cette réduction progressive indique un effet antimicrobien croissant de la spiruline. La spiruline pure, quant à elle, ne montre aucune contamination détectable (<30 UFC/mL), ce qui confirme sa bonne qualité microbiologique. Ces résultats suggèrent que la spiruline peut contribuer à limiter la flore totale dans les produits alimentaires.

Tableau 07 : les résultats de la flore Entérobactériennes sur milieu VRBG pour chaque échantillon :

Echantillon/dilution	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	Moyenne (UFC/mL)	$\log_{10}(\text{UFC/mL})$
Spiruline pure	<30 (insuffisant)	<30 (insuffisant)	<30 (insuffisant)	non calculable (trop faible)	non calculable (trop faible)
Témoin (biscuit sans spiruline)	>300	196	88	25818	4.41
Biscuit enrichi avec 1g	190	86	<30	2509	3.40
Biscuit enrichi avec 3g	100	<30	<30	1000	3.00
Biscuit enrichi avec 5g	40	<30	<30	400	2.60

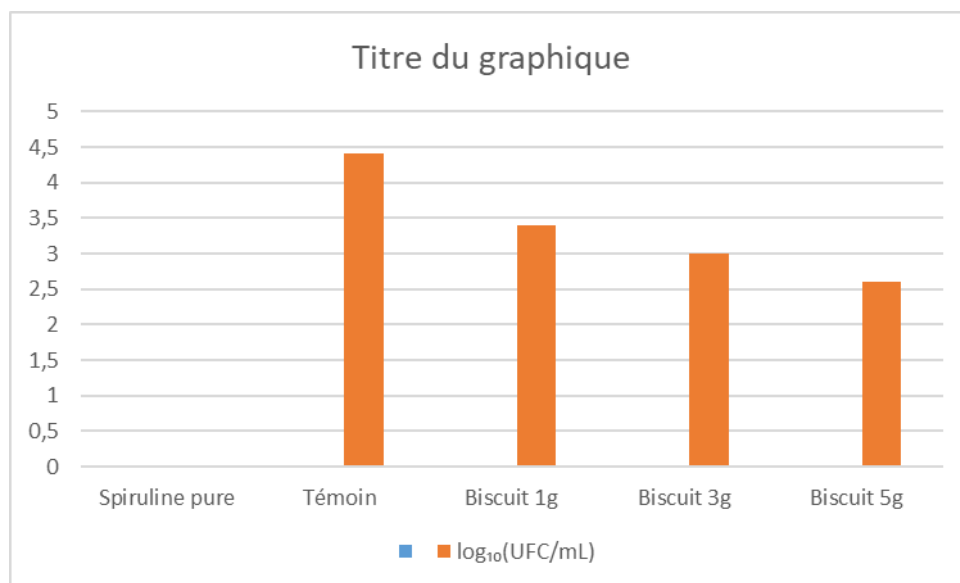


Figure 17 : Évolution de la charge microbienne en fonction de la concentration en spiruline sur milieu VRBG ($\log_{10}(\text{UFC/mL})$)

Interprétation : Le témoin (sans spiruline) montre la plus forte contamination. Dès qu'on ajoute même 1g de spiruline, il y a une réduction marquée du nombre de coliformes De 3.40UFC/mL (témoin) à 3.00UFC/mL (1g)

Plus la quantité de spiruline augmente, plus le nombre de coliformes totaux diminue. Cela suggère que **la spiruline a un effet antimicrobien** ou inhibiteur sur la croissance des coliformes dans les biscuits ; tandis que La spiruline pure ne montre aucune contamination détectable (<30 UFC/mL), ce qui confirme sa **bonne qualité microbiologique**

Tableau 08 : les résultats du dénombrement de la flore fongique sur gélose OGA pour chaque échantillon :

Echantillon/dilution	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	moyenne(UFC/mL)	$\log_{10}(\text{UFC/mL})$
Spiruline pure	<30 (insuffisant)	<30 (insuffisant)	<30 (insuffisant)	Non calculable (trop faible)	Non calculable (trop faible)
Témoin (biscuit sans spiruline)	>300	290	212	45636	4,66
Biscuit enrichi avec 1g	270	180	70	4684	3,67
Biscuit enrichi avec 3g	200	170	90	4144	3,62
Biscuit enrichi avec 5g	74	<30	<30	740	2,87

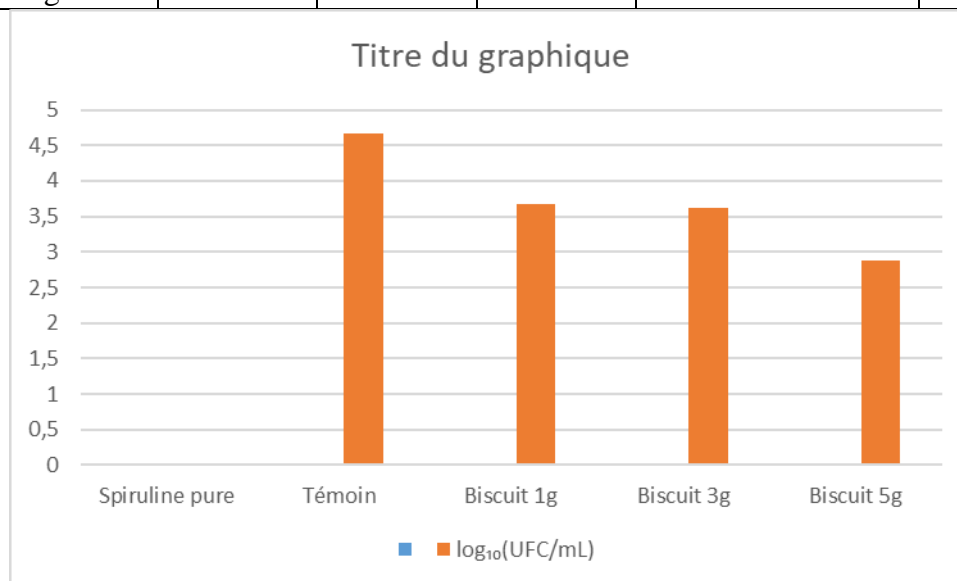


Figure 18 : Évolution de la charge fongique en fonction de la concentration en spiruline sur milieu OGA (logUFC/mL)

Interprétation : Les résultats montrent que la spiruline pure présente une charge négligeable en champignons et levures (<30 UFC/mL), indiquant une très bonne qualité microbiologique.

En revanche, le biscuit témoin sans spiruline affiche une contamination très élevée (**4,66 UFC/mL**). L'ajout de spiruline dans les biscuits entraîne une diminution progressive des coliformes : **3,67 UFC/mL avec 1g**, **3,62 UFC/mL avec 3g**, et **seulement 2,87 UFC/mL avec 5g**

Tableau 09 : les résultats du dénombrement de la flore anaérobie mésophile totale sur gélose Viande Foie pour chaque échantillon :

Echantillon/dilution	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	moyenne(UFC/mL)	log ₁₀ (UFC/mL)
Spiruline pure	<30 (insuffisant)	<30 (insuffisant)	<30 (insuffisant)	Non calculable (trop faible)	Non calculable (trop faible)
Témoin (biscuit sans spiruline)	186	90	40	2846	3,45
Biscuit enrichi avec 1g	120	<30	<30	1200	3,08
Biscuit enrichi avec 3g	84	<30	<30	840	2,92
Biscuit enrichi avec 5g	<30	<30	<30	Non calculable (trop faible)	non calculable

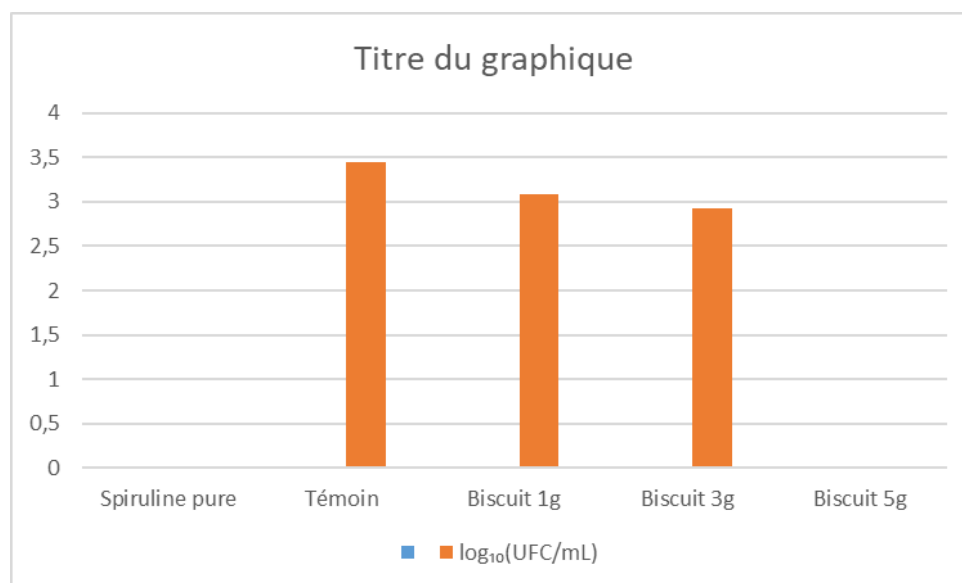


Figure 19 : Évolution de la charge microbienne en fonction de la concentration en spiruline sur milieu Viande Foie (logUFC/mL)

Les analyses sur milieu Viande Foie montrent que la spiruline pure ne présente aucune contamination détectable par les bactéries anaérobies (<30 UFC/mL), confirmant sa qualité microbiologique. Le biscuit témoin présente une contamination modérée (3,45 UFC/mL), tandis que l'ajout de spiruline entraîne une baisse progressive de cette charge : 3,08 UFC/mL avec 1g, 2,92

UFC/mL avec 3g, et aucune contamination détectée avec 5g. Ces résultats confirment l'effet antimicrobien de la spiruline, d'autant plus marqué à dose élevée, contribuant ainsi à l'amélioration de la qualité hygiénique des biscuits.

4.2. Résultat du test sensoriel :

Tableau 10 : La moyenne du questionnaire des 5 participants :

	T	1g	3g	5g
Couleur	1,8	3	3,4	1,4
Odeur	2,4	3,4	3,6	1,4
Gout	2,6	4	4,2	1,2
Granules	2,4	3,6	4	3,2
Saveur	3	4	3,8	1,6
Fondant	2,2	2,2	2	2
Collant	2,2	3	2,6	2,8
Glissant	2,6	3	3	2,6

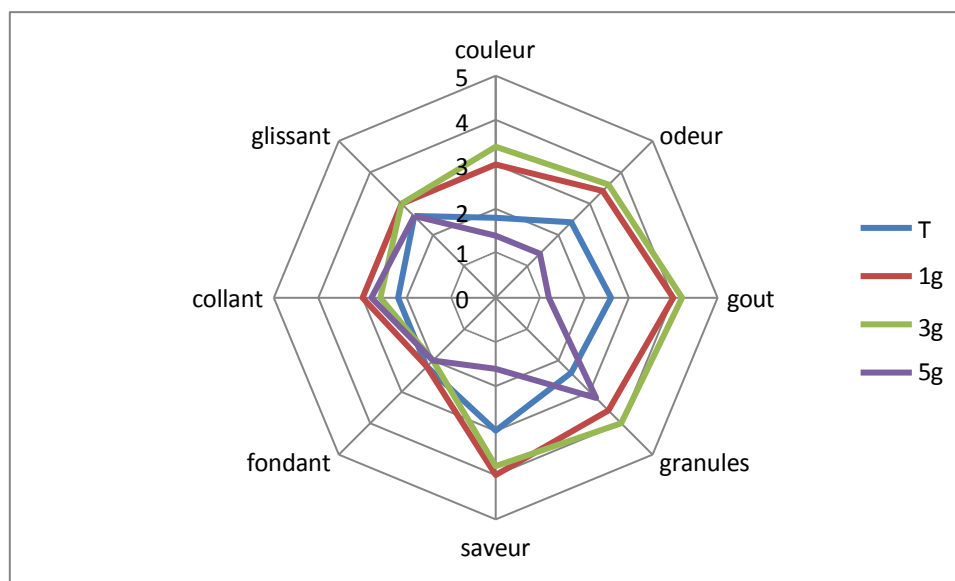


Figure 20 : Graphique radar met en évidence les différences de perception sensorielle entre les différents échantillons.

- (A) Biscuit témoin sans spiruline. (C) Biscuit enrichi avec 3g de spiruline.
 (B) Biscuit enrichi avec 1g de spiruline. (D) Biscuit enrichi avec 5g de spiruline.

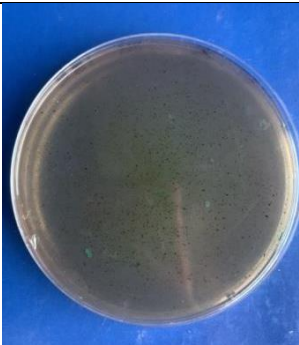
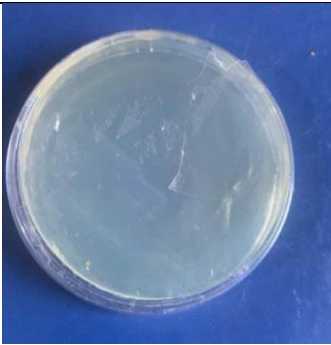
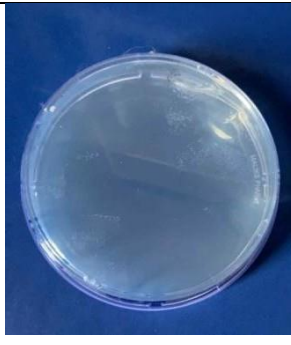
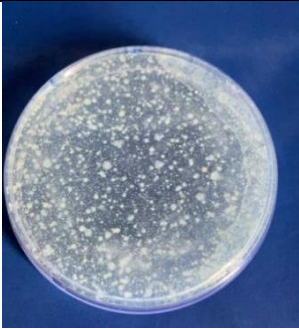
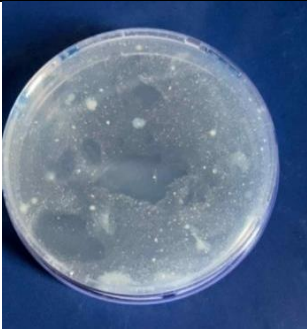



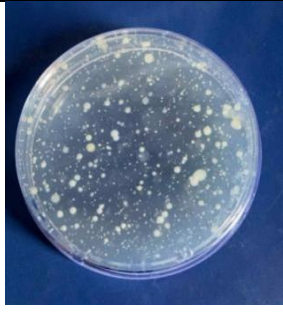
- Le biscuit avec **3g de spiruline** présente le **meilleur équilibre sensoriel**, avec des notes élevées en goût, odeur, couleur et texture, suggérant qu'il est le plus apprécié globalement. Le biscuit avec **1g de spiruline** montre également une amélioration par rapport au témoin, notamment en goût et apparence.
- En revanche, l'échantillon contenant **5g de spiruline** est le **moins bien noté** sur presque tous les critères, indiquant que cette concentration dégrade les qualités organoleptiques du produit.
- Le biscuit témoin reste correct, mais semble moins attrayant sensoriellement que ceux contenant de faibles doses de spiruline.

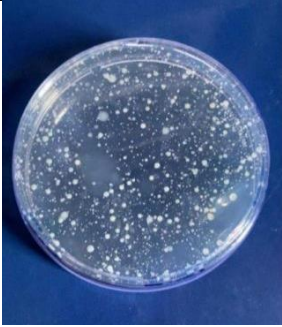
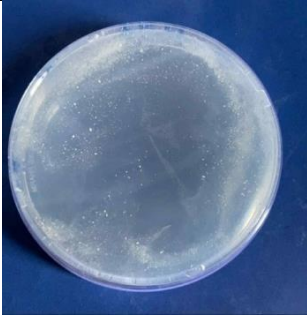
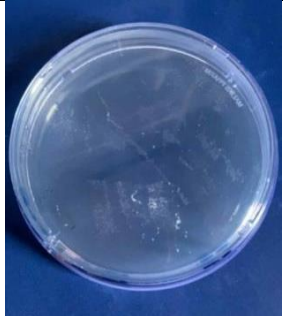
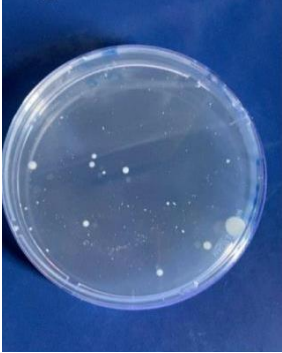
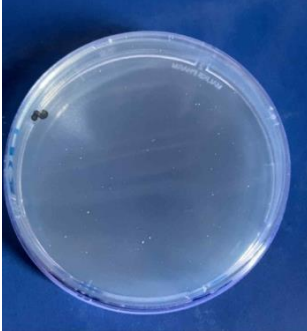
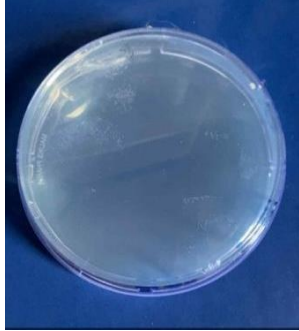
L'analyse sensorielle a indiqué que le biscuit avec 1% et 3% de spiruline était le meilleur, le biscuit avec 5% était moins apprécié à cause du goût fort et sa couleur très foncée. L'ajout de spiruline dans les produits industriels est une stratégie utile pour augmenter la consommation de protéines dans l'alimentation humaine.

4.3 Observation visuelle des cultures microbiennes

Afin d'illustrer visuellement les résultats microbiologiques obtenus, des clichés des boîtes de Pétri ont été réalisés pour chaque échantillon sur les quatre milieux de culture utilisés (PCA, VRBG, OGA et VF). Ces images permettent d'observer la densité et l'aspect des colonies selon les dilutions et la concentration en spiruline. L'objectif est de compléter l'analyse quantitative par une approche qualitative, mettant en évidence l'effet antimicrobien progressif de la spiruline à travers la diminution visible du nombre de colonies sur les milieux. Les observations faites à partir des photographies confirment et appuient les résultats interprétés précédemment.

4.3.1 Milieux PCA

	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Spiruline pure			
Témoin			
Biscuit 1g			

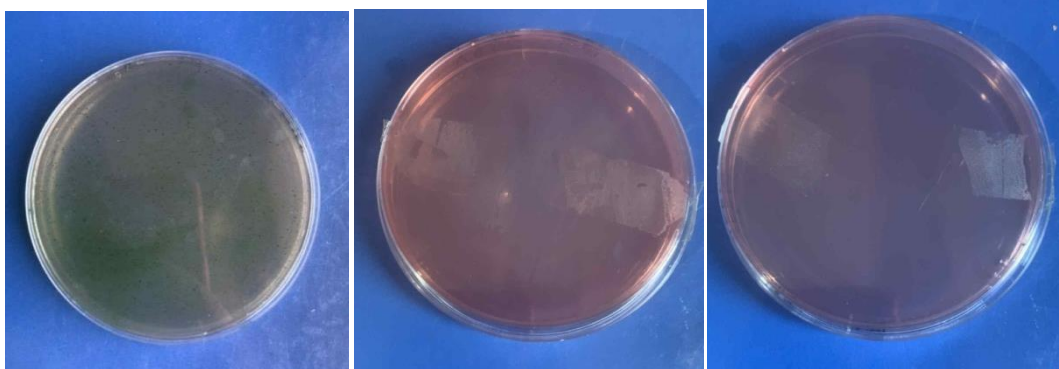
Biscuit 3g			
Biscuits 5g			

Les résultats obtenus sur milieu PCA montrent que la spiruline pure présente très peu de colonies, bien isolées et de petite taille, traduisant une faible charge microbienne. En revanche, le biscuit témoin (sans spiruline) présente de nombreuses colonies d'aspect dense et regroupées, indiquant une forte contamination. L'ajout de 1g de spiruline n'a pas significativement modifié cette charge, avec des colonies encore abondantes et similaires au témoin. À partir de 3g, une diminution du nombre et une modification de l'aspect des colonies sont observées : elles deviennent plus petites, espacées et moins développées. À 5g, les colonies sont très rares, discrètes et dispersées, traduisant un effet antimicrobien marqué. Ces observations mettent en évidence l'action inhibitrice progressive et dose-dépendante de la spiruline sur la flore aérobie mésophile.

4.3.2 Milieu VRBG

10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
-----------	-----------	-----------

■ Spiruline pure :



■ Témoin :



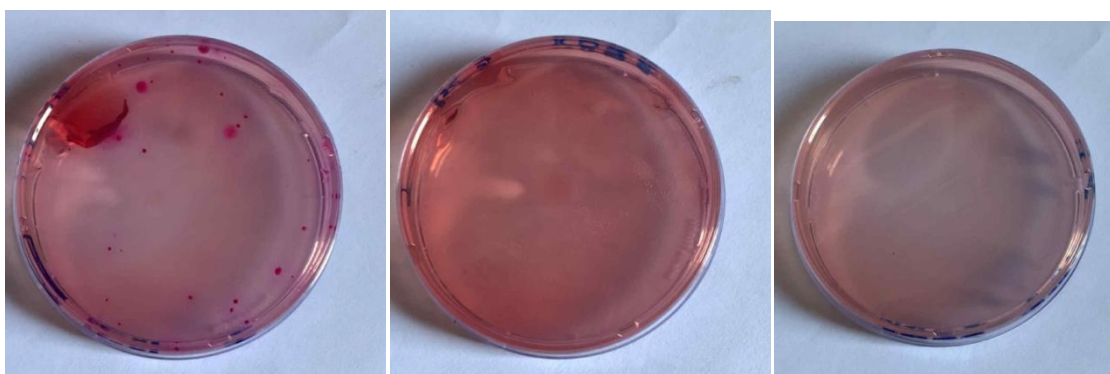
■ Biscuit 1g :



■ Biscuit 3g :



Biscuit 5g :

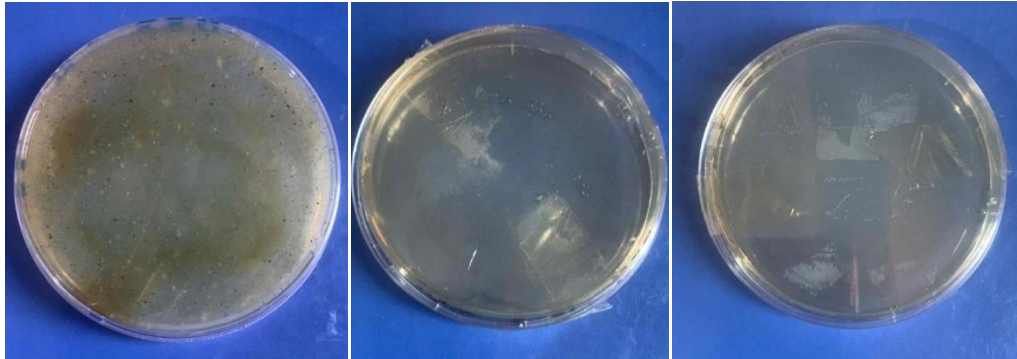


Les boîtes de Pétri sur milieu VRBG révèlent une absence de croissance notable pour l'échantillon de spiruline pure, avec des colonies inférieures à 30 sur toutes les dilutions. Le témoin, en revanche, présente une croissance très abondante, avec des colonies nombreuses, bombées, lisses, de couleur rose à rouge, caractéristiques des coliformes, et parfois en confluence. Dans le biscuit avec 1g de spiruline, on observe encore une forte croissance, mais légèrement réduite, avec des colonies bien visibles. À 3g, le nombre de colonies diminue nettement et leur répartition devient plus espacée. À 5g, les boîtes montrent très peu de colonies, isolées et peu pigmentées. Cette évolution indique un effet antimicrobien dose-dépendant de la spiruline sur les coliformes, avec une nette réduction à partir de 3g.

4.3.3 Milieu OGA

10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
-----------	-----------	-----------

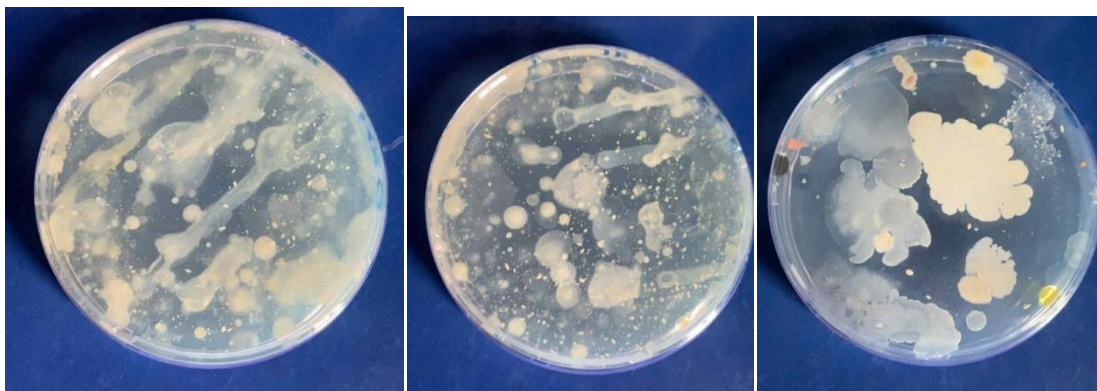
■ Spiruline pure :



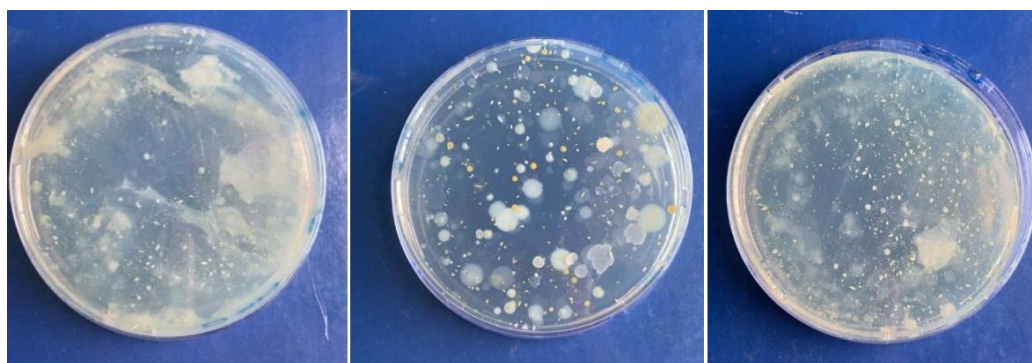
■ Témoin



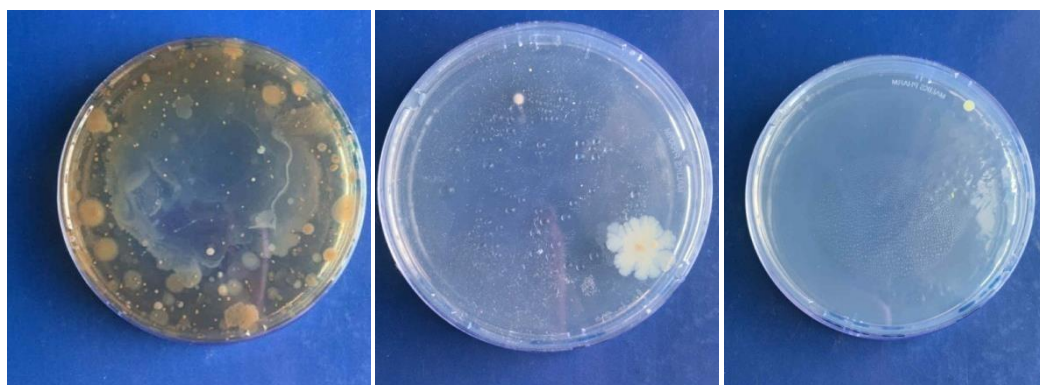
■ Biscuit 1g



▪ Biscuit 3g



▪ Biscuit 5g

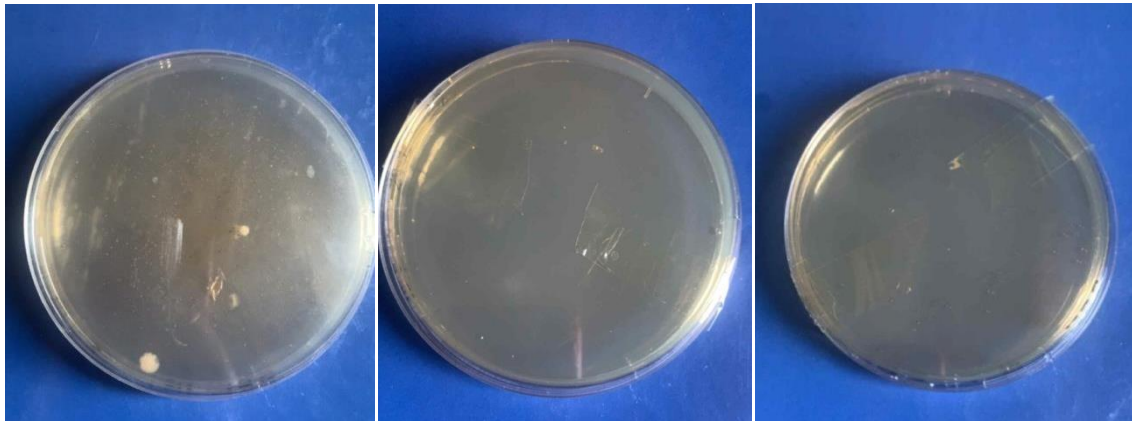


Sur milieu OGA, la spiruline pure ne présente pratiquement aucune croissance fongique, avec très peu de colonies visibles. Le témoin montre une croissance très élevée, avec des colonies de levures lisses, blanches à crème, parfois surélevées, ainsi que des moisissures filamenteuses aux bords irréguliers. Le biscuit à 1g présente encore une forte présence de colonies, bien que légèrement inférieure à celle du témoin. À 3g, une réduction modérée est observée, avec des colonies moins nombreuses, mais toujours visibles. Enfin, à 5g, la croissance est fortement inhibée : rares colonies, de petite taille, bien espacées, et sans développement fongique important. Ces observations confirment un effet antifongique progressif de la spiruline, particulièrement notable à partir de 5g.

4.3.4 Milieu VF

10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
-----------	-----------	-----------

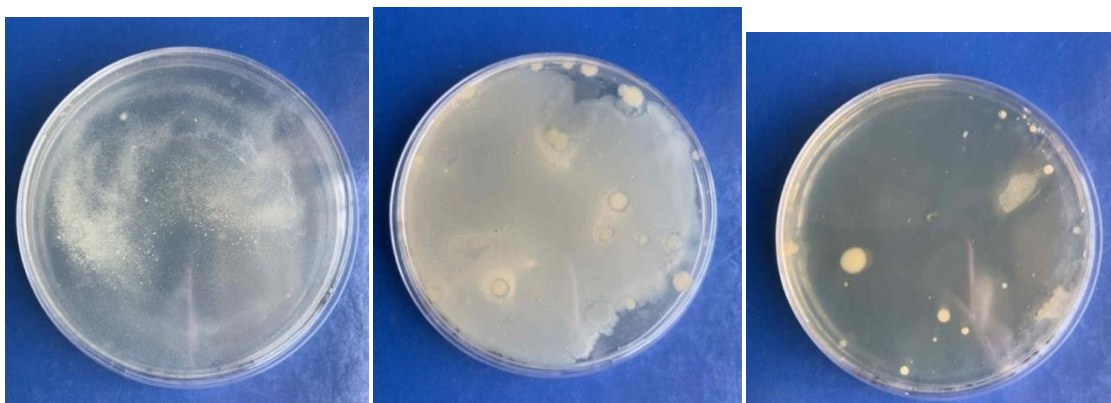
Spiruline pure :



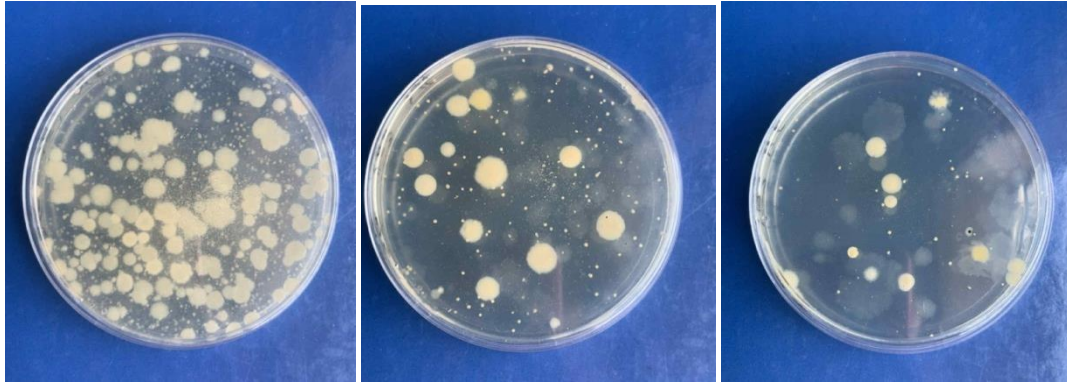
Témoin



Biscuit 1g



Biscuit 3g



Biscuit 5g



Les boîtesensemencées avec la spiruline pure ne montrent aucune croissance significative, avec des boîtes quasiment stériles à toutes les dilutions. Le témoin présente de nombreuses colonies rondes, opaques à grisâtres, souvent regroupées, indiquant une charge microbienne importante. Le biscuit enrichi à 1g de spiruline montre encore une croissance notable à 10^{-1} , mais celle-ci diminue avec les concentrations de 3g et 5g, où les boîtes sont presque stériles. Cette évolution suggère que la spiruline exerce un effet inhibiteur sur la flore anaérobie mésophile totale, selon une relation dose-dépendante.

4.4 Résultat de méthode de la diffusion des puits :

Les résultats de l'activité antimicrobienne (bactéricide ou bactériostatique) à l'égard de germes pathogènes sont représentés au niveau des figures suivantes. Le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.



Figure 21 : Test de l'activité antimicrobienne à l'égard de *Staphylococcus aureus* ATCC



Figure 22 : Test de l'activité antimicrobienne à l'égard de *Clostridium perfringens* ATCC



Figure 23 : Test de l'activité antimicrobienne à l'égard d'*Escherichia coli*

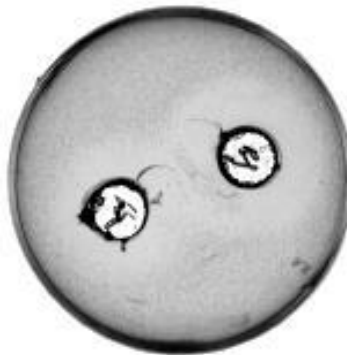


Figure 24 : Test de l'activité antimicrobienne à l'égard de *Salmonella typhi*

L'antagonisme des isolats de spiruline, dirigé, contre les souches pathogènes, converge plus vers les souches à Gram positif (*Staphylococcus aureus*), avec des zones de 17, 18 mm de diamètre ; suivi par des diamètres (mm) de 11, 12 contre les souches à Gram négatif (*Salmonella typhi*).

4.5 Résultats des analyses physicochimiques

Les mesures biochimiques sont très importantes dans toute industrie agro-alimentaire ; la détermination de la teneur en eau, du taux de cendres et de teneur en protéines permet d'avoir un produit de bonne qualité et facile à conserver (voir le tableau 11)

Tableau 11 : Résultats des analyses biochimiques de la spiruline

	Humidité (% MS)	Teneur en cendres(% MS)	Taux de protéines (% MS)
POUDRE DE SPIRULINE (essai 1 et 2)	11,83	0,88	12,47
	12,27	0,96	12,40
Normes (NF)	<14	1,1	9 – 15

4.5.1 Teneur en eau

Selon **Feuillet [9]** l'humidité est un facteur crucial dans l'évolution des phénomènes biologiques, son contrôle permet de minimiser les risques d'altération lors du conditionnement et du stockage. Par ailleurs, la teneur en eau c'est une mesure capitale qui se présente en trois intérêts :

- Un intérêt technologique qui détermine la conduite rationnelle des opérations de récoltes, de séchage, de stockage et de transformation industrielle.
- Un intérêt analytique qui rapporte les résultats de toutes les analyses à une base fixe (matière sèche)
- Et enfin un intérêt commercial et réglementaire

Le tableau ci – dessus indique que l'humidité est égale à **12,27%**, une valeur conforme aux normes, indique le respect des conditions de séchage et de stockage du produit fini. Cela signifie que l'incorporation de la spiruline à la farine n'influence sans aucun cas l'humidité du produit fin.

4.5.2 Teneur en cendres

La mesure de la teneur en cendres à un intérêt essentiellement réglementaire.

Selon le **CODEX STAN 202-1995**, ce taux ne doit pas dépasser 1,1 % qui peut avoir un effet défavorable sur la qualité réglementaire.

En fonction des résultats trouvés, la teneur en cendre est une valeur légèrement supérieure (0,96%). En revanche cette dernière ne dépasse pas la limite réglementaire (1,1 %). Cette augmentation peut être due à la richesse de la spiruline en matières minérales. Par conséquent, le taux mesuré peut affecter la qualité réglementaire du produit si l'addition de la micro-algue était très grande mais cela sans atteindre à la qualité nutritionnelle des biscuits.

4.5.3 Teneur en Protéines

Selon **Guezlane[77]**, les protéines du blé dur jouent un rôle important et fondamental sur le plan culinaire et nutritionnel du produit fini. En effet, la formation d'un réseau de gluten par des liaisons de désulfures entre les gluténines et les gliadines confère des propriétés d'extensibilité, d'élasticité, et de tonicité sur le comportement du produit à savoir le biscuit. Concernant le dosage des protéines totales présentes dans les échantillons de spiruline étudiés et mesurés par la méthode de **KJELDAHL**, les résultats consignés sur le tableau 10, montrent que la teneur en protéines sont respectivement de 12,47% et de 12,40%, elle dépend d'une part, des composants biochimiques présents dans la farine de blé dur et d'autre part, des conditions de fabrication. En conséquence l'addition de la spiruline ne présente aucun effet sur la teneur des protéines des biscuits.

5. Discussion

- ✓ Par distinction du reste des cyanobactéries, le milieu naturel de développement et de croissance de spiruline est caractérisé par des eaux saumâtres, chaudes, alcalines ($8 < \text{pH} < 11,5$) et natronées (fortement concentrées en carbonates et bicarbonates). Les spirulines se développent dans un milieu exclusif, limitant toutes sortes de contamination par d'autres organismes, et tendent par leurs capacités biologiques à renforcer cet effet d'exclusion par une augmentation du pH du milieu indiquant consommation des carbonates et bicarbonates [74]
- ✓ Les spirulines se développent dans un milieu exclusif limitant toutes sortes de contamination par d'autres organismes et tendent par leurs capacités biologiques à renforcer cet effet d'exclusion par :
 - Une augmentation du pH bloom (floraison) de surface très coloré limitant la pénétration de lumière dans l'eau ce qui inhibe la prolifération micro algale et planctonique.
 - Production de molécules extracellulaires de défense très actives contre une vaste gamme de bactéries Le développement se réalise pour des températures d'eau allant de 28 à 40°C avec un idéal de croissance à 35°C et pour une photopériode de 12 heures [74].
- ✓ La diminution progressive des UFC avec l'augmentation de la dose (ex : 4,66 → 2,87 UFC/mL pour les champignons/levures) rejoint les observations de *Pianta, E et al.* [75] : qui ont trouvé que l'extrait de Spiruline breveté, déjà à une concentration de 1 g/100 mL, a exercé un fort effet inhibiteur sur presque toutes les bactéries Gram-positives testées et *Candida albicans*. À une concentration de 4 g/100 mL, une suppression complète de la croissance de toutes les souches bactériennes et de levures testées a été observée, prouvant que l'extrait est un agent antimicrobien puissant contre les bactéries Gram-positives, Gram-négatives et les levures.
- ✓ Notre résultat du test sensoriel corrobore avec les résultats du *Yaiche Achour et al.* (2014) [76] qui indique que la dose 3g de spiruline dans l'aliment est la plus favorable.

CONCLUSIONET PERSPECTIVE

CONCLUSION

Au terme de ce travail, l'enrichissement de biscuits en spiruline a montré des effets très positifs, tant sur le plan microbiologique que nutritionnel. L'analyse des échantillons sur les milieux PCA, VRBG, VF et OGA a révélé une diminution significative des charges microbiennes avec l'ajout progressif de spiruline. La spiruline pure s'est montrée pratiquement exempte de contamination, et son incorporation dans les biscuits a permis de limiter efficacement la prolifération des coliformes, levures et moisissures, confirmant son potentiel antimicrobien naturel.

D'un point de vue sensoriel, les formulations à 1 % et 3 % de spiruline ont été les mieux perçues, offrant un bon compromis entre enrichissement nutritionnel et acceptabilité gustative. En revanche, une teneur plus élevée (5 %) a montré certaines limites, notamment sur le plan du goût et de l'apparence, soulignant la nécessité de définir une dose optimale selon le type de produit.

Par ailleurs, Les tests d'antibiogramme ont montré que la spiruline possède une activité antimicrobienne, surtout contre les bactéries à Gram positif comme *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition atteignant 17–18 mm. Son effet est plus faible contre les Gram négatif comme *Salmonella typhi*. Ces résultats soulignent son potentiel à renforcer à la fois la qualité nutritionnelle et la sécurité microbiologique des aliments.

Enfin, Les analyses physico-chimiques effectuées sur la spiruline ont montré des valeurs conformes aux normes en termes d'humidité, de cendres et de protéines, garantissant ainsi une bonne qualité et une conservation optimale du produit.

Dans l'ensemble, cette étude souligne le potentiel de la spiruline comme ingrédient fonctionnel prometteur, alliant apport nutritionnel, effet antimicrobien et intérêt technologique. Toutefois, une adaptation des doses reste essentielle pour concilier efficacité et acceptabilité par le consommateur.

Perspectives :

Afin d'approfondir ce travail, il serait pertinent d'étendre les analyses microbiologiques à d'autres micro-organismes d'intérêt, tels que les staphylocoques coagulase positive, les bactéries sporulées aérobies ou anaérobies, ainsi que les entérobactéries, afin d'évaluer plus globalement l'innocuité et la stabilité microbiologique du produit. Des tests de conservation à long terme pourraient également permettre de suivre l'évolution de la charge microbienne et des caractéristiques organoleptiques des biscuits enrichis à la spiruline.

Sur le plan nutritionnel, il serait intéressant de quantifier la teneur en protéines avant et après cuisson, afin d'évaluer les pertes thermiques potentielles, ainsi que de mesurer les taux de protéines résiduelles après conservation, en vue de déterminer la stabilité des apports nutritionnels dans le temps. De plus, une caractérisation approfondie des macronutriments et des composés bioactifs (notamment la phycocyanine) permettrait de mieux cerner l'intérêt fonctionnel de la spiruline dans une matrice alimentaire cuite.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographiques

- [1] Cruchot H., (2008). La Spiruline, Bilan et Perspective. Thèse docteur en pharmacie. Université de France-Comite, pp 332.
- [2] Komárek, J., & Lund, J. W. G. (1990). "What is *Arthrospira fusiformis*?"
- [3] Mühling, M., Harris, N., Belay, A., & Whitton, B. A. (2003). Reversal of helix orientation in the cyanobacterium *Arthrospira*. *Journal of Phycology*, 39(2), 360–367. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2003.01246.x>
- [4] Belay, A. (2002). "The potential application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a nutritional and therapeutic supplement in health management."
- [5] Matos, Â. P. (2017). "The impact of microalgae in food science and technology." *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94(11), 1333-1350. DOI : [10.1007/s11746-017-3050-7](https://doi.org/10.1007/s11746-017-3050-7)
- [6] LAVOIE, I., I. LAURION, A. WARREN et W.F. VINCENT, 2007. Les fleurs d'eau de cyanobactéries, revue de littérature. INRS rapport no 916, xiii, 124 p, Université Laval.
- [7] Paerl, H.W.; Fulton, R.S. Ecology of harmful cyanobacteria. In *Ecology of Harmful Algae*. Ecological Studies; Granéli, E., Turner, J.T., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2006; pp. 95–109.
- [8] Évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives ; affsa agence française de sécurité sanitaire des aliments ; juillet 2006.
- [9] **Afssa (Agence française de sécurité sanitaire des aliments). (2006, juillet).** *Évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives. Rapport du groupe de travail « Cyanobactéries et cyanotoxines »*
- [10] Welker M, Von dÖrhen H (2006), «Cyanobacterial peptides Nature's own, combinatorial biosynthesis », *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 30, n° 4, p. 530-563.
- Van Apeldoorn M.E, Van Egmond H.P, Speijers G.J.A et al (2007), «Toxines of cyanobacteria» , *Molecular Nutrition & Food research*, vol. 51, n° 1, p. 7-60
- [11] Duy T.N., Lam P.K.S., Shaw G.R. et Connell D.W. (2000). Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue- green algal) toxins in water. *Rev. Environ. Contam. Toxicology*. 163: 113- 186.

[12] (Watanabe et al., 1990; Ungsethaphand et al., 2010; Ahmadzade-Nia et al., 2011; Mukherjee et al., 2011; Roy et al., 2011) African Journal of Microbiology Research Vol. 6(35), pp. 6423-6431, 13 September, 2012 Available online at <http://www.academicjournals.org/AJMR> DOI: 10.5897/AJMR12.288 ISSN 1996-0808

©2012 Academic Journals

[13] Antiherpetic efficacy of aqueous extracts of the cyanobacterium *Arthrospira fusiformis* from Chad Article in Pharmazie · May 2013 DOI: 10.1691/ph.2013.2807 · Source: PubMed

[14] ANSES. (2017, 4 août). *Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux risques liés à la consommation de compléments alimentaires contenant de la spiruline* (Saisine n° 2014-SA-0096). Maisons-Alfort : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

[15] Sili, C., Torzillo, G., & Vonshak, A. (2012). *Arthrospira (Spirulina)*. In *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time* (Vol. 9789400738553, pp. 677-705). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3_25

[16] Photosynthetic biocenosis of two soda lakes of the north-east fringe of Lake Chad.

Sili C, Abdulqader G, Tredici MR. s.l. :Montecatini Terme, 1999. Abstracts of the 8th international conference of applied algology "Algae and human affairs in the 21st century". p. 318.

[17] Zarrouk, C. (1966). Contribution to the study of a Cyanophyceae. Influence of various physical and chemical factors on growth and photosynthesis of *Spirulina maxima* (Setch. And Gardner) Geitler. Ph.D Thesis. France. University of Paris. [Enligne].

[18] Balloni W, Tomaselli L, Giovannetti L, Margheri MC (1980). *Biologia fondamentale del genere Spirulina*. In: Materassi R (ed) *Prospettive della Coltura Massiva di Spirulina in Italia*. CNR Rome, pp 49–85

[19] Belay, Amha. "Biology and Industrial Production of *Arthrospira (Spirulina)*." *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*, edited by Amos Richmond and Qiang Hu, Wiley-Blackwell, 2013, pp. 339–58. DOI:10.1002/9781118567166.ch17.

[20] Charpy, L., José Langlade, M. et Alliod, R., *La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique*, (2008).

[21] Vidalo J. L., 2008, *Spiruline l'algue bleu de santé et de prévention*. ED.Dauphin pp47-82

[22] Belay, A; Gershwin, M. E. 2007. *Spirulina in Human Nutrition and Health*. CRC Press, Taylor & Francis Group. Broken Sound Parkway, NW. United States of America.

Kaggwa, M. N., Burian, A., Oduor, S. O., & Schagerl, M. (2013)

Use of Flow Cytometry and Confocal Microscopy to Investigate the Infection of *Arthrospira fusiformis* by Cyanophages Maryamalsadat Zekri

[23] AlFadhly NKZ, Alhelfi N, Altemimi AB, Verma DK, Cacciola F, Narayanankutty A. Trends and Technological Advancements in the Possible Food Applications of *Spirulina* and Their Health Benefits: A Review. *Molecules*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute; 2022;27(17):5584. DOI: 10.3390/molecules27175584

[24] Borowitzka, M.A. "Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters." *Journal of Biotechnology*, 70 (1999) 313–321.

[25] Falquet, (1996). *Spirulina: Aspects nutritionnels*, document Antenna technologie Genève

[26] Fox R.D (1999). *Spiruline, Technique pratique et promesse*. Aix en provence: Edisud; 1999.

[27] Seggai A, 2008. *Comptabilité des eaux des nappes de la région de Ouargla pour la culture de la Spiruline Arthrospira platensis (souche de Tamanrasset)*. Thèse de Magistère. Université KASDI MERBAH OURGLA.

[28] Jordan, (1999) sugar as a source of carbon for spirulina (*Arthrospira platensis*) culture, *international biotechnology*, Inde, PPP58, 96,97

[29] Niangoran, N.U.F. (2017). *Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : éclairage et estimation de la biomasse*. Université Paul Sabatier – Toulouse III. France. [en ligne]. 124p

[30] Jourdan, J.-P. (2018). « Cultivé votre spiruline, Manuel de culture artisanale de spiruline ». Edition Antenna Technologie [en ligne]. 239 p.

[31] Sorto M. (2003). *Voies alimentaires d'amélioration des situations nutritionnelles : utilisation et consommation de la Spiruline au Tchad*. 2ème Atelier international ; Ouagadougou, 23-28 /11/ 2003. Disponible sur : <http://spirulinagadez.ftce.fr/pdfs/Tchad—Sorto.pdf>

[32] Jourdan, 2006 ; manuel de culture artisanale pour la production de spiruline

[33] Darcas C. (2000). *La Spiruline, une algue pour la santé- Livret guide de production*. Bassins. C Technap/Credeva. Disponible sur: <http://credeva.online.fr/fich2.htm#2-Bassin>

[34] Audrey Manet, *La Spiruline : Indications Thérapeutiques, Risques Sanitaires Et Conseils À L'officine* ; thèse doctorat en pharmacie, 2015/2016

[35] Hsiao, G., Phycocyanine, inhibitor a very potent and novel platelet aggregation commoner forms of bacteria. *J. Agric. Food* (2005), 53 p

- [36] Anusuya, D.M. et Venkataraman, L.V. « Supplementary value of the proteins of the blue-green algae *Spirulina platensis* to rice and wheat proteins. » Nutrition. Reports. International, 1983, Vol. 28, p. 1029-1035
- [37] Casal, E., & Lee, J. J. (2019). Syntactic Complexity and Writing Quality in Assessed First-Year L2 Writing. Journal of Second Language Writing, 44, 51-62.
<https://doi.org/10.1016/j.jslw.2019.03.005>
- [38] Fed-batch cultivation of *Arthrospira* and *Chlorella* in ammonia-rich wastewater: Optimization of nutrient removal and biomass production. Markou, G. 2015, Bior. Tech., pp. 35-41.
- [39] Usharani G., Saranraj P. et Kanchana D. (2012). *Spirulina* cultivation: a review. Int J Pharm Biol Arch, 3(6), 1327-1341.
- [40] <https://www.sport-equipements.fr/spiruline-blue-conomy-chaine-de-valeur-cascade-parfaite/> (consulté le 16/05/2025 à 14:42)
- [41] Rogowski J. (2008) « *Spirulina platensis* et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques », Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2008
- [42] <https://www.spiform.fr/sa-composition-et-ses-bienfaits/> (dernière consultation 16/05/2025 à 14 :50)
- [43] Dr Dupire J. (2011). La spiruline un super aliment. 151p et All M.G., Dankoko B., Badiane M., Ehua E., Kuwakuwi N., 1999: La Spiruline, Une Source Alimentaire à Promouvoir, Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Dakar, Sénégal, Article 46(3)
- [44] Costa et al. 2002. Analyse par entropie multi-échelle de séries chronologiques physiologiques complexes
- [45] Jean Dupire auteur de La spiruline, un superaliment [Internet]. [cité 28 déc 2017]. Disponible sur: <http://www.spirulinefrance.fr/lavis-des-specialistes/dr-jean-dupire-la-spiruline-un-superaliment>
- [46] Delpuech, F., A. Joseph, et C. Cavelier. 1976. "Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (*Oscillatoria platensis*) chez quelques populations du Kanem (Tchad)." Annales de la Nutrition et de l'Alimentation 29:497-516
- [47] Bujard, E. U., Braco, U., Mauron, J., Mottu, F., Nabholz, A., Wuhrmann, J.-J. et Clément C. (2014). Purification and immunomodulating activity of C- phycocyanin from *Spirulina platensis* cultured using power plant flue gas. Process Biochimie [en ligne], v 49, 1337-134
- [48] Clément G., 1975-Production et constituants caractéristiques des algues *Spirulina maxima* et *platensis*. Ann. Nutr. Aliment. 29(6), pages 477-487
- [49] Lupatini A.L., Colla L.M., Canan C. et Colla E. (2017) Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. J Sci Food Agric 2017;97:724–32.

- [49] J. Falquet, J.-P. Hurni, 2006 : Spiruline Aspects Nutritionnels
- [50] Pascaud M (1993) The essential polyunsaturated fatty acids of spirulina and our immune response. Bulletin de l'Institut Oceanographique de Monaco. 12:49–57
- [51] Quillet, M. (1975). Recherches sur les substances glucidiques élaborées par les spirulines. Ann Nutr. Aliment. Vol. 29:553-561.
- [52] Challem, J.J., Passwater, R.A. et Mindell, E.M. (1981). Spirulina. Keats Publishing. Inc. New Canaan, Connecticut
- [53] Nippon Ink & Chemicals., 1977. "Spirulina". Bull Tech Dye Nippon
- [54] Pang, Q. S., Guo, B. J. et Ruan, J. H. (1988). Enhancement of endonuclease activity and repair DNA synthesis by polysaccharide of Spirulina platensis. I-Chuan-Hsueh-Pao Vol. 15(5) :374-381
- [55] Qishen, P. et Kolman, I. (1989). Radioprotective effect of extract from Spirulina in mouse bone marrow cells studied by using the micronucleus test. Toxicology Letters. Vol. 48 :165-169
- [56] Charpy, L., Langlade, M. J., & Alliod, R. (2008). La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. Rapport d'expertise Pour Le Ministère de l'Agriculture et de La Pêche. Expertise réalisée le 24/07/2008.
- [57] Laurent I., 2019. La spiruline (Spirulina platensis) : de l'aliment au médicament, utilisations et conseils à l'officine. Université de Lorraine. 116 pages.
- [58] Pierlovisi C., 2007. L'Homme et la Spiruline: Un avenir commun? Composition chimique, intérêts alimentaires et activités biologiques. Paris V- René Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris (162).
- [59] Sguera S., 2008. Spirulina Platensis et ses Constituants, Intérêts Nutritionnels et Activités Thérapeutiques, Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy 1, Faculté de Pharmacie, p 15.
- [60] Ahounou M. N., 2018. La Spiruline : Un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. Thèse pour l'obtention d'un Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université de Rouen, UFR de Médecine et de Pharmacie, p 17-27, 40.
- [61] Shmitz T., (2014). Les Incroyables Propriétés de la Phycocyanine, Principe de santé, Revue N° 72.
- [62] Audrey Manet. La spiruline : indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01346709

- [63] Banakar V., Alam Q., Rajendra S.V., Pandit A., Cladiou A., et Gnanaprakash K. (2020). Spirulina, The Boon of Nature. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences, 11(1), 57-62
- [64] M. K. NAROUA KOURE¹, H. OUMAROU DIADIE¹, M. N. LAWALI², B. ABDOURAHAMANE¹, A. N. WRIGHT, ESSAI DE PRODUCTION DE LA SPIRULINE AU NIGER, Journal of Agronomie Africaine 34 (1) : 155 - 165 (2022).
- [65] Guiraud , J.P, Microbiologie alimentaire, ISBN : 2-10-003666-1, Edition DUNOD Paris 1998.
- [66] https://microbiologie-clinique.com/gelose-denombrement-pca.html?utm_
- [67] Bourgeois et Leveau, Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, ISBN : 2-85206-084-1, Edition: APRIA Association pour la Promotion Industrie-Agriculture 1980.
- [68] **INRA (2002).** *Microbiologie des aliments : Méthodes analytiques*. Collection Lavoisier TEC & DOC.
- [69] AFNOR (1999). *Méthode de dénombrement des coliformes totaux et fécaux – norme NF V08-050*.
- [70] Jay, J.M. (2000). *Modern Food Microbiology*. 6th Edition. Aspen Publishers.
- [71] ISO (2017). *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 2: Colony-count technique*, ISO 21528-2:2017.
- [72] AFNOR (2017). *Méthode de dénombrement des entérobactéries par ensemencement en profondeur sur gélose VRBG*, norme NF EN ISO 21528-2.
- [73] J. G. Thompson, R. J. Partridge, F. D. Houghton (1996), Oxygen uptake and carbohydrate metabolism by *in vitro* derived bovine embryos. Journal of reproduction et fertility, 106, 299-306.
- [74] Miao, X. and Wu, Q. (2004) High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of Chlorella protothecoides. Journal of Biotechnology, 110, 85- 93. doi:10.1016/j.jbiotec.2004.01.013
- [75] Pianta, E., Günnewich, N., Zimmermann, C., Günther, P., Petrini, O., Diaz-Miyar, J., &Fragoso-Corti, C. (2024). *In vitro* antibacterial and antifungal activity of an *Arthrospira platensis* (Syn.: *Spirulina platensis*) extract. *Natural Product Communications*, 19(3). <https://doi.org/10.1177/1934578X251314702>
- [76] Yaiche Achour, H., Doumandji, A., Sadi, S., & Saadi, S. (2014). *Evaluation of nutritional and sensory properties of bread enriched with spirulina*. **Annals. Food Science and Technology**, 15(2), 270. Disponible en ligne : www.afst.valahia.ro.

[77] Guezlane L., 1993. Mise au point de méthodes de caractérisation et étude des modifications physico-chimiques sous l'effet des traitements hydrothermiques en vue d'optimiser la qualité du couscous de blé dur. Thèse de Doctorat d'Etat. INA, El Harrach, Algérie. 89 pages.

ANNEXES

ANNEXES 1 : LES TABLEAUX DE COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE

Tableau n° 1: La composition du milieu de Hiri (pour 1 L d'eau distillée)

Composé	Quantité g/l
Bicarbonate de soude (NaHCO_3)	16
Chlorure de sodium (NaCl)	1
Phosphate d'ammonium ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)	0,1
Sulfate de fer (FeSO_4)	0,01
Sulfate de magnésium (MgSO_4)	0,1
Sulfate de potassium (K_2SO_4)	0,5
Chlorure de calcium (CaCl_2)	0,1
Urée azotée $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	0,1

Tableau n°2 : la composition du milieu de PCA (Plate Count Agar) (pour 1 L d'eau distillée)

Composé	Quantité g/l
Peptone de caséine	5,00
Extrait de levure	2,50
Glucose	1,00
Agar	15,00

Tableau n° 3:la composition du milieu VRBG (Violet Red Bile Glucose) (pour 1L d'eau distillées)

Composé	Quantité g/l
Digestat enzymatique de tissus animaux	7,00
Extrait autolytique de levure	3,00
Glucose.	10,0
Sels biliaires	1,5
Chlorure de sodium.	5,0
Rouge neutre mg	30,0
Cristal violet.	2,0
Agar agar bactériologique	13,0
.	

Tableau n° 4:composition du milieu de culture OGA (Oxytétracycline-Glucose-Agar) (pour 1L d'eau distillées)

Composé	Quantité g/l
Extrait de levure	5,00
Glucose	20,00
Agar	12,0

Tableau n° 5: composition du milieu de culture Viande-Foie (pour 1L d'eau distillées)

Composé	Quantité g/l
Peptone viande-foie 30,00	30,00
Sulfite de sodium 2,50	2,50
Glucose 2,00	2,00
Citrate ferrique ammoniacal	0,50
Amidon soluble	2,00
Agar	11,00

ANNEXES 2 : MATERIELS UTILISES DANS E LABORATOIRE

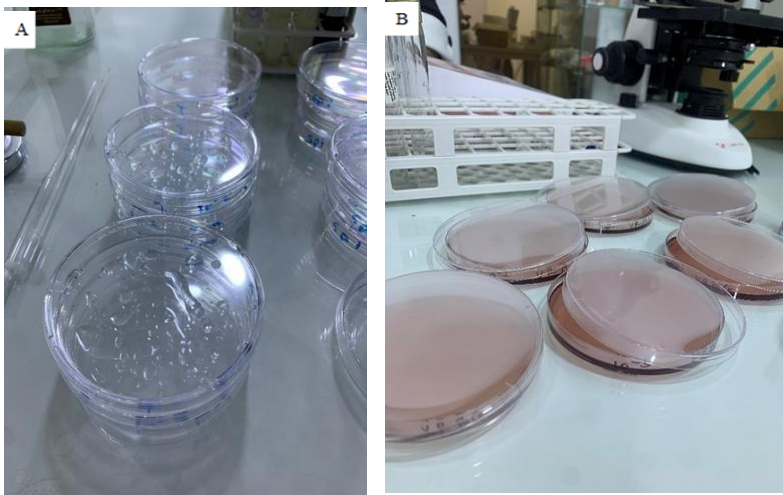


Figure : dénombrement des colonies



Figure : les géloses utilisés dans l'expériences



Figure : stérilisateur



Figure : bec benzène



Figure : Balance de précision

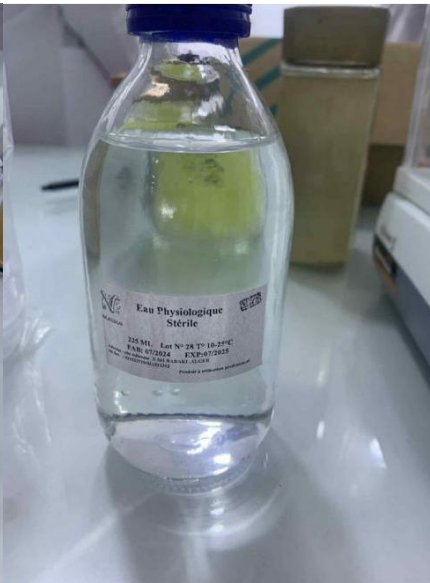


figure : eau physiologique



Figure : compteur de colonie



figure : micropipette



Figure : verrerie



figure : spiruline encapsuler



Figure : microscope optique



ANNEXES 3 : le test sensoriel



UNIVERSITE DE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT : SCIENCE BIOLOGIQUE

MASTER 2:MICROBIOLOGIE
2024-2025

FICHE SENSORIELLE ET DE DEGUSTATION

Date de la dégustation : 17 / 05 / 2025

NOM DU PRODUIT: Biscuit à base de spiruline

Âge:

Sexe: Masculin ☐

Féminin ☐

Fumeur: oui non

Profession:

A- Cochez une des 4 propositions suivantes qui vous semble la meilleure.

A : ☐ B : ☐ C : ☐ D : ☐

1. Couleur

A :

☐ 5 ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

B :

☐ 5 ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

C :

☐ 5 ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

D :

☐ 5 ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

2. Odeur

A :

☐ 5 ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

B :

☐ 5 ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

C :

3. ☐ 45 ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

D :

☐ 5 ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

4. Gouts :

A :

☐ 5 ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

	B :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	C :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	D :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

5. Granule :

	A :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	B :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	C :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	D :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

6. Saveur :

	A :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	B :					
	<input type="text"/> 345	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	C :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	D :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

7. Fondant :

	A :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	B :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	C :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	D :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

8. Collant :

	A :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	B :					
01	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	C :					

D :

9. Glissant :

10. A :

01 45

$$\overline{B}:$$

C:

01 ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

D :

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



UNIVERSITÉ BLIDA 1
Faculté des Sciences de la Nature et la Vie
Département Sciences biologiques

Projet de FIN d'étude MASTER 2 en Microbiologie

Thème:

**Caractérisation microbiologiques et physico-chimiques de la
Spiruline autochtone isolée et son antagoniste à l'égard des
germes utiles, pathogènes et d'altération**

Présenté par :

MAHDID Djouher Insaf

Devant le jury :

Président	GUETARNI D. (Pr)	Université de Blida 1
Examinatrice	BENHOUNA I. (MCB)	Université de Blida 1
Promotrice	Pr DOUMANDJI A. (Pr)	Université de Blida 1

Année Universitaire 2024 - 2025

Benhouma I.