

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université SAAD DAHLAB BLIDA

Faculté Des Sciences Agro -Vétérinaires

Département des sciences agronomiques

MEMOIRE DE PROJET DE FIN D'ETUDE EN VUE DEL'OBTENTION DU DIPLOME  
MASTER ACADEMIQUE ENSCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière: Sciences Alimentaires

**Caractérisation technologique, microbiologique et organoleptique d'un  
yaourt diététique à base de spiruline et de chlorelle**

**Présenté par :**

**Mlle : BOUKHARI Rahma**

**Devant le jury compose de :**

M <sup>f</sup> BOUSBIA N	Maître de conférences B	USDB	Président de jury
M <sup>me</sup> DOUMANDJI A	Maître de conférences A	USDB	Promotrice
M <sup>me</sup> IDRES	Maître assistante A	USDB	Examinatrice
M <sup>f</sup> HADJ SADOK. T	Maître de conférences B	USDB	Examineur

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2011-2012**

## **Remerciements**

*Tout d'abord, je veux remercier **ALLAH**, le tout puissant, pour tout ce qu'il m'a donné.*

*Je désire aussi remercier une personne très spéciale qui représente pour moi une source de motivation : ma promotrice **Dr. DOUMANDJIA** pour son suivi, ses conseils, ses orientations, sa gentillesse.*

*Je remercie tout particulièrement Monsieur **M.RAMDANE S.A** de ses conseils précieux et soutiens moraux.*

*Je n'oublierai pas de remercier **M. BOUSBIAA** pour m'avoir honoré en acceptant de présider le jury et **M<sup>me</sup> IDRES** et **M.HADJ SADOK** d'avoir accepté d'évaluer et de juger ce modeste travail.*

*J'exprime mes profonds respects et chaleureux remerciements à tous les personnels de l'unité trèfle et plus particulièrement à **M. BRIKI**, pour l'aide qu'il n'est pas hésité à m'apporter tout au long de mes expérimentations.*

*Je ne manquerai pas de remercier les membres du personnel de laboratoire d'hygiène de Blida pour l'aide précieuse qu'ils m'ont apportée.*

*Je tiens aussi à remercier les personnels de laboratoire de l'hygiène de Tipaza de m'avoir accueillie au sein du Laboratoire de microbiologie pour y réaliser une partie des analyses qui ont permis d'aboutir à ce travail.*

*Un grand merci à **M<sup>e</sup> DRAI NOR** pour ton aide au cours de ces années et pour avoir trouvé les mots réconfortants dans les moments de doutes et de découragements.*

*Je tiens à remercier ici de tout mon cœur tous ceux qui, de près ou de loin, ont voulu contribuer à m'aider avec compréhension et bienveillance à mener à bien ce mémoire.*

## *Dédicaces*

Un énorme *MERCI* à mes parents, Merci de croire en moi, de m'encourager et de me soutenir dans tout ce que j'entreprends.

*Je dédie ce modeste travail à :*

A mes sœurs : *Dalila, Djamila, Amina*

A mes frères : *Mohamed, M'hamed* et sa femme *Salma, Fethi et Hocine*

A ma nièce *Serine*

A mes adorable neveux : *Mohamed Youssef et Nassif*

A ma très chère amie : *Hasna*

A toutes ma famille (oncles, tantes, cousins et cousines).

A mes amis : *Nour, Hanane, Amina, Leila, Hizla, Larima et Aicha.*

A l'ensemble des étudiants et étudiantes de la promotion 2010/2011 et 2011/2012 de science alimentaire.

En fin à toutes les personnes qui m'ont apporté soutien et aide de quelque manière que ce soit, directement ou indirectement.

*Rahma.*

## Résumé

Une approche intégrée microbiologique, physicochimique et organoleptique a été mise en œuvre pour étudier la caractérisation d'un yaourt diététique à base de spiruline et de chlorelle. Nous avons fait un suivi du développement des bactéries lactiques d'un yaourt enrichi avec de la spiruline seule et enrichi avec de la chlorelle seule et de la spiruline et chlorelle en association au cours de stockage (3 semaine)

Les résultats des analyses physico-chimiques montrent augmentation progressive de l'acidité allant de 72 jusqu'à 97 pour le yaourt enrichi avec de la spiruline seule et de 71 jusqu'à 99 pour le yaourt enrichi avec de la chlorelle seule et de 75 jusqu'à 100 pour le yaourt enrichi avec de la spiruline et de la chlorelle en association et une diminution progressive de pH des trois produits finis au cours de stockage, le pH est inversement proportionnel à l'acidité.

Les résultats des analyses microbiologiques de matière première et de produit fini montrent une absence totale des germes pathogènes ce qui confirme l'utilisation d'une matière première de bonne qualité hygiénique et le respect des conditions de fabrication ainsi qu'une bonne manipulation lors des analyses.

D'autre part le suivi de l'évolution des bactéries lactiques a montré une augmentation significative de leur nombre avec l'augmentation de la dose de spiruline ou de chlorelle, donc la spiruline et la chlorelle semblent avoir un effet stimulant sur la flore lactique.

**Mots clés :** yaourt diététique, spiruline, chlorelle, bactéries lactiques.

## Summary

An integrated approach to microbiological, physicochemical and organoleptic has been implemented to study the characterization of ayogurt diet with Spirulina and Chlorella .We have been tracking the development of lacticbacteria of yoghurt enriched with spirulina alone and enriched with chlorella and spirulina alone and in combination with chlorella during storage (3 weeks)

The results of physico-chemical analyzes showed gradual increase acidité allant 72 to97 for yogurt enriched with spirulina and only71 to99 for yogurt enriched with chlorella and only75up to 100 for yogurt enriched with spirulina and chlorella association etina progressive decrease in pHof the product during storage Finisau from4.40to4.12 for yogurt enriched with only spirulina, 4.39 up to4.10 yogurt enriched with chlorella and only 4.35to4.07for yogurt enriched with spirulina and chlorella alin combination, and the pH is inversely proportional to the acid.

The results of the microbiological analysis of raw material and finished product showed a complete absence of pathogens that adhere zing a raw material of good hygienic quality and the conditions of manufacture and food handling during analysis On the other hand monitoring the evolution of lactic acid bacteria showed a significant increase in number with increasing the dose of spirulina or chlorella, spirulina and therefore chlorella seem to have a stimulating effect on the lactic flora.

**Keywords:** yogurtdiet, spirulina, chlorella, lacticacidbacteria.

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°01 :</b>	Les différents types de yaourts selon leur fermentation et leurs constituants (composition de 100g)	03
<b>Tableau N°02 :</b>	Les différentes catégories de la poudre de lait	06
<b>Tableau N°03 :</b>	Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques	12
<b>Tableau N°04 :</b>	Principaux rôles des bactéries lactiques dans les aliments	18
<b>Tableau N°05 :</b>	Pourcentage moyen des acides aminés de <i>Spirulina platensis</i> selon différents auteurs et de <i>Spirulina mexicana</i> .	23
<b>Tableau N°06 :</b>	Composition typique en pourcentage des principaux acides gras de 3 espèces de Spiruline.	24
<b>Tableau N°07 :</b>	Composition en minéraux de la Spiruline cultivée en mg/g de sa matière sèche.	26
<b>Tableau N°08 :</b>	Teneur en vitamines en mg/kg de matière sèche de Spiruline	26
<b>Tableau N°09 :</b>	Teneurs en pigments en mg/10g de matière sèche de spiruline	27
<b>Tableau N°10 :</b>	Composition de la chlorelle.	34
<b>Tableau N°11 :</b>	Les analyses physico-chimiques effectuées sur la matière première et le produit fini.	41
<b>Tableau N°12 :</b>	Les germes recherchés dans la poudre de lait, le sucre, le produit fini et l'eau de process.	49
<b>Tableau N°13 :</b>	La recette de yaourt (composition de yaourt brassé seul).	61
<b>Tableau N°14 :</b>	Essai d'enrichissement (composition de yaourt enrichie avec la spiruline et la chlorelle et en différentes doses).	61
<b>Tableau N°15 :</b>	Les résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process.	65
<b>Tableau N°16 :</b>	Les résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de lait	65
<b>Tableau N°17 :</b>	Les résultats des analyses physico-chimiques de sucre.	66
<b>Tableau N°18 :</b>	La variation de la matière grasse de produit fini au cours de stockage.	66
<b>Tableau N°19 :</b>	La variation de la matière sèche du yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.	67
<b>Tableau N°20 :</b>	La variation de la matière sèche du yaourt enrichi avec la chlorelle seule au cours de stockage.	68
<b>Tableau N°21 :</b>	La variation de la matière sèche d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.	69
<b>Tableau N°22 :</b>	Variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.	71
<b>Tableau N°23 :</b>	Variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la chlorelle seule au cours de stockage.	72
<b>Tableau N°24 :</b>	La variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.	73
<b>Tableau N°25 :</b>	La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.	74
<b>Tableau N°26 :</b>	La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la chlorelle seule au cours de stockage.	75

<b>Tableau N°27 :</b>	La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.	75
<b>Tableau N°28 :</b>	Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process	77
<b>Tableau N°29 :</b>	Résultats des analyses microbiologiques de sucre	78
<b>Tableau N°30 :</b>	Les résultats des analyses microbiologiques de poudre de lait	79
<b>Tableau N°31 :</b>	Résultats des analyses microbiologiques de témoin (yaourt brassé seul) au cours de stockage.	80
<b>Tableau N°32 :</b>	Les résultats des analyses microbiologiques d'un yaourt enrichi avec la spiruline au cours de stockage.	80
<b>Tableau N°33 :</b>	Les résultats des analyses microbiologiques d'un yaourt enrichi avec la chlorelle au cours de stockage.	81
<b>Tableau N°34 :</b>	Les résultats des analyses microbiologiques d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle.	81
<b>Tableau N°35 :</b>	Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt témoin. (UFC/mL).	82
<b>Tableau N°36 :</b>	Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la spiruline (1g/L)	82
<b>Tableau N°37 :</b>	Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la spiruline (3g/L)	82
<b>Tableau N°38 :</b>	Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec spiruline (5g/L)	83
<b>Tableau N°39 :</b>	Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la chlorelle (1g/L)	83
<b>Tableau N°40 :</b>	Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la chlorelle (3g/L)	83
<b>Tableau N°41 :</b>	Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la chlorelle (5g/L).	84
<b>Tableau N°42 :</b>	Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle (1g/L).	84
<b>Tableau N°43 :</b>	Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle (3g/L).	84
<b>Tableau N°44 :</b>	Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle (5g/L).	85

## Liste des figures

<b>Figure N°01 :</b>	Diagramme de fabrication des yaourts ( <i>Luquet, 1990</i> ).	10
<b>Figure N°02 :</b>	Morphologies typiques de Spiruline.	21
<b>Figure N°03 :</b>	Cellules de Chlorelles observées au microscope optique( <i>Allard, 2000</i> ).	32
<b>Figure N°04 :</b>	La structure d'une cellule de chlorelle.	33
<b>Figure N°05 :</b>	Essai de d'enrichissement de yaourt brassé en spiruline ou en chlorelle	62
<b>Figure N°06 :</b>	La variation de la matière grasse de produit fini au cours de stockage.	67
<b>Figure N°07 :</b>	La variation de la matière sèche d'un yaourt enrichi avec de la spiruline seule au cours de stockage.	68
<b>Figure N°08 :</b>	La variation de la matière sèche d'un yaourt enrichi avec de la chlorelle seule au cours de stockage.	69
<b>Figure N°09 :</b>	La variation de la matière sèche d'un yaourt enrichi avec de la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.	70
<b>Figure N°10 :</b>	La variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.	71
<b>Figure N°11 :</b>	La variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la chlorelle seule au cours de stockage.	72
<b>Figure N°12 :</b>	La variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.	73
<b>Figure N°13 :</b>	La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.	74
<b>Figure N°14 :</b>	La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la chlorelle seule au cours de stockage.	75
<b>Figure N°15 :</b>	La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.	76

# TABLE DES MATIERES

## Introduction

## Partie I : Etude bibliographique

### Chapitre I : le lait fermenté

I.1. Historique	01
I.2. Définition	01
I.3. Différents types de laits fermentés	01
I.4. Caractéristiques des laits fermentés	01
I.5. le yaourt	02
I.5.1. Définition	02
I.5.2. Composition de yaourt, valeurs alimentaire	02
I.5.3. Intérêt nutritionnels et thérapeutiques de yaourt	04
I.5.4. Les différents types du yaourt	05
I.5.5. Technologie de fabrication du yaourt	06
I.6. Les bactéries lactiques	11
I.6.1. Historique	11
I.6.2. Définition	11
I.6.3. Caractères généraux	11
I.6.4. Classification des bactéries lactiques	13
I.6.5. Espèces bactériennes spécifique au yaourt	13
I.6.6. Croissance associative dans le yaourt	15
I.6.7. Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques	15
I.6.8. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques	16

### Chapitre II : la spiruline

1. Définition	19
2. Appellations	19
3. Historique	19
4. Eléments de biologie de la spiruline	20
4.1. Taxonomie	20
4.2. Morphologie et caractères généraux	20
4.3. Cycle biologique de la spiruline	21
4.4. La croissance de la spiruline	21
5. La composition chimique de la spiruline et sa qualité nutritionnelle	22
6. Utilisation de la spiruline dans la santé humaine	27
7. La production de la spiruline	28

### Chapitre III : La chlorelle

1. Définition	32
2. Historique	32
3. Taxonomie	33
4. Morphologie et caractères généraux	33
5. Reproduction de la chlorelle	33
6. Composition chimique de la chlorelle	34
7. Mode de nutrition de la chlorelle	35

8. Intérêt nutritionnel et thérapeutique de la chlorelle	35
<b>Partie II : Etude expérimentale</b>	
Présentation de l'entreprise	37
Objectif du travail	38
I. Matériel et méthode	39
1. Matériel	39
1.1.Échantillonnage	40
2. Méthodes d'analyse	41
2.1. Analyses physico-chimiques	41
2.1 .1. Eau de process	41
2.1 .2. La poudre de lait, le sucre, la spiruline(ou chlorelle) et produit fini	45
2.2. Analyses microbiologiques	48
3. Essai de d'enrichissement de yaourt brassé en spiruline et en chlorelle	60
4. Suivi de l'évolution de la flore lactique au cour de stockage	61
5. Suivi de pH au cour de stockage	64
6. Les analyses organoleptiques	64
II. Résultats et discussion	65
A. Les analyses physico-chimiques	65
1. Eau de process	65
2. La poudre de lait	65
3. Le sucre	66
4. Le produit fini	66
4.1. Suivi de la variation de matière grasse de produit fini au cours de stockage	66
4.2. La variation de l'extrait sec des produits finis (au cours de stockage	67
4.3 La variation de l'acidité des produits finis au cours de stockage	71
4.4. La variation de pH des produits finis au cours de stockage	74
B. Les analyses microbiologiques	77
1. Les analyses microbiologiques de l'eau de process	77
2. Les analyses microbiologiques de sucre	78
3. Les analyses microbiologiques de poudre de lait	79
4. Les analyses microbiologiques des produits finis	80
5. Evolution des bactéries lactiques du yaourt au cours de stockage	82
C. Evaluation organoleptique	85
<b>Discussion général</b>	
<b>Conclusion</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

PDF Create! 4 Trial  
[www.nuance.com](http://www.nuance.com)

## Introduction

La croissante popularité de la consommation de yogourts est reliée à son aspect santé. En effet, le yogourt est une bonne source de nutriments (protéines, glucides, minéraux, vitamines) et est peu calorique (*McKinley, 2005*). De plus, plusieurs yogourts contiennent des bactéries probiotiques bénéfiques pour le système digestif.

La fermentation confère aux aliments une saveur et une texture permet de mieux les conserver et apporte aussi certains bénéfices nutritionnels et de santé. Si cette pratique était à l'origine intuitive, ses bases scientifiques sont aujourd'hui mieux comprises. L'évolution des connaissances conduit à la sélection et au développement de nouvelles souches de bactéries lactiques aux propriétés spécifiques (*Lactobacillus delbrueckii sub sp. Bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) (*World Newsletter, 2009*).

Les spirulines, cyanobactéries traditionnellement consommées depuis des siècles par certaines populations (*Farrar, 1966*), et de nos jours encore au Tchad (*Léonard, 1966; Delpeuch, 1975; Sorto, 2003*) sont l'objet d'une redécouverte depuis quelques années. Autrefois classées parmi les "algues bleues-vertes".

La recherche scientifique a abondamment démontré l'intérêt exceptionnel présenté par la spiruline dans le cadre de la lutte contre les maladies infectieuses et le cancer, tant à titre préventif que curatif. Les nombreuses études réalisées à ce jour ont permis d'approfondir nos connaissances sur la composition de la spiruline (protéines, vitamines B<sub>6</sub>, E, oligo-éléments, acides gras essentiels, bêta-carotène, molécules polysaccharidiques, phycocyanine) et d'expliquer les mécanismes d'action de ces divers composants.

Certaines propriétés physiques de la spiruline ont été déterminées afin d'en faciliter l'usage dans l'industrie alimentaire (*Chronakis, 2001*). On notera aussi l'intérêt manifesté pour la spiruline dans le domaine des « aliments » : l'ajout de spiruline dans certains produits laitiers industriels a été envisagé.

*Chlorella vulgaris* est une algue eucaryote unicellulaire qui croît à la fois dans des conditions phototrophiques et mixotrophiques principalement en eau douce, avec un diamètre cellulaire d'environ 5 µm.

La chlorelle contient de grandes quantités de chlorophylles, d'acides aminés, d'acides nucléiques, d'enzymes, de lipides, de vitamines, de fibres et de minéraux. Avec jusqu'à 4 % de chlorophylle dans la masse sèche, Chlorelle a la teneur en chlorophylle la plus élevée de tous les nutriments connus.

A partir de ce principe, notre recherche a porté sur plusieurs axes à savoir :

- Le contrôle physico-chimique et microbiologique de la matière première (eau de process, poudre de lait, le sucre, la spiruline et la chlorelle)

- Le contrôle physico-chimique et microbiologique de produit fini (yaourt enrichi en spiruline et en chlorelle) au cour de stockage.
- La réalisation des analyses organoleptique des produits finis.
- L'étude de l'effet de la spiruline et de la chlorelle sur la flore lactique pendant le stockage.

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

PDF Creator! 4 Trial  
www.nuance.com

# **Chapitre I**

## **Le lait fermenté**

### Chapitre I : Le lait fermenté

#### I.1. Historique

Les laits fermentés ont représentés pendant des millénaires, une alimentation privilégiée, elle est riche en protéines et très digeste. La transformation du lactose en acide lactique diminue fortement le pH du lait et assure une protection contre le développement de nombreux germes pathogènes ; ainsi, pour les peuples des bergers nomade, c'était un moyen de conserver le lait plusieurs jours, même à température ambiante (*Loones, 1994*).

En France, le yaourt fait son apparition sous François 1<sup>er</sup>, celui-ci se trouva guéri d'une infection intestinale après avoir consommé du yaourt apporté de Turquie par un médecin, c'est au début du XX siècle que Elie Metchnikoff, émet ses théories sur l'influence positive des laits fermentés riches en lactobacilles sur la longévité des bulgares consommant ces produits (*Loones, 1994*).

Longtemps restés traditionnels, ces produits connaissent depuis quelques années un développement considérable grâce, d'une part, à l'intérêt que trouvent les consommateurs sur le plan organoleptique (goût frais, acidulés, arôme caractéristique), nutritionnel, voire thérapeutique et d'autre part, à la mise en œuvre des procédés de fabrication industriels et au progrès de la distribution. Enfin ces produits sont renforcés par leur diversification et par de puissantes campagnes publicitaires (*Loones, 1994*).

#### I.2. Définition

Un lait fermenté est un produit laitier composé exclusivement de matières premières d'origine laitière (lait et constituants du lait), ayant subi une pasteurisation et une fermentation par des microorganismes spécifiques et caractérisé par une teneur en acide lactique minimale (0,6%). Il peut être additionné de certains ingrédients lui conférant une saveur spécifique (sucre, arômes, préparations de fruits) à condition que cette addition n'excède 30% du poids du produit fini (*AFNOR, 2001*).

#### I.3. Différents types de laits fermentés

Une grande variété de laits fermentés est produite dans le monde : les laits fermentés acides (yaourt, Laban), éventuellement concentrés (babneh), les produits acides et légèrement alcoolisés (Kéfir, Koumiss) et les laits fermentés peu acides (buttermilk, lait ribot), éventuellement épaissis par l'utilisation de cultures spécifiques (viili). (*AFNOR, 2001*)

#### I.4. Caractéristiques des laits fermentés

Les laits fermentés ont une caractéristique commune, ils sont tous obtenus par le développement d'une flore microbienne, composée à la fois de pro-biotiques qui peuvent générer des pré-biotiques d'origine métabolique ou d'origine laitières par dégradation des constituants (*Mahaut et al., 2000*).

## I.5. le yaourt

### I.5.1. Définition

Le yogourt est le résultat de la lente fermentation du lactose du lait ou d'un mélange laitier, en acide lactique par l'action synergique de deux bactéries lactiques: *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*(*Tamine et Robinson, 2001*).

Le coagulum obtenu est ferme, sans exsudation de lactosérum. Il peut être consommé en l'état ou après brassage lui donnant une consistance crémeuse ou liquide. Il peut aussi être congelé et consommé comme une glace (*Mahaut,2002*).

### I.5.2. Composition de yaourt, valeurs alimentaire

Le yaourt est un produit frais et vivant qui apporte au consommateur des protéines riche en amino-acides essentiels pour la croissance et entretien des tissus, du calcium et phosphore pour la croissance et entretien des os, du lactose qui est énergétique, des matières grasses pour constituer une réserves d'énergie et enfin des vitamines qui sont essentielles pour la vitalité (*Belmadani, 2002*). Les différents types de yaourts selon leur fermentation et leurs constituants sont synthétisés dans le **tableau N°01**.

**Tableau N°01 :**Les différents types de yaourts selon leur fermentation (composition pour 100g de yaourt)

	Teneur moyenne pour 100g de produit							Valeur énergétique KJ
	Protéines (mg)	Lipides (mg)	Glucides (mg)	Calcium (mg)	Potassium (mg)	Phosphore (mg)	Sodium (mg)	
Yaourt nature	4,15	1,2	5,2	174	210	114	57	201
Yaourt au lait entier	3,8	3,5	5,3	171	206	112	56	284
Yaourt nature 0%	4,2	Traces	5,4	164	180	100	55	163
Yaourt nature sucré	3,8	1,1	14,5	160	195	105	52	347
Yaourt aromatisé au lait entier	3,2	3,2	12	140	190	106	50	372
Yaourt brassé nature	4,3	1,8	5,2	164	205	115	40	230
Yaourt brassé aux fruits	3,75	1,65	14,5	140	190	110	50	368
Yaourt au lait entier aux fruits	3,1	2,7	16,5	140	180	100	45	431
Yaourt maigre aux fruits	3,6	Traces	17,2	140	180	100	45	351

### I.5.3. Intérêt nutritionnels et thérapeutiques de yaourt

Le yaourt est un produit vivant, donc il est presque un médicament antiseptique. Il nettoie le tube digestif grâce à la présence d'acide lactique, il détruit les microbes et assainit la flore intestinale (*Mahaut et al., 2000*).

- Amélioration de l'absorption du lactose

L'absorption du yaourt permet d'améliorer la tolérance au lactose chez les sujets déficients en lactase ; ceci est dû à une enzyme qui est la  $\beta$ -galactosidase apportée par le yaourt et qui permet d'hydrolyser le lactose (*Maniaval et Aurillac, 1990*).

- Amélioration de la digestibilité des protéines

Le yaourt est deux fois plus digeste que le lait avant fermentation et contient deux fois plus d'acides aminés libres : cette propriété résulte du traitement thermique, de l'acidification, et de l'activité protéolytique des bactéries (*Mahaut et al., 2000*).

- Amélioration de la digestibilité des matières grasses

Bien que l'activité lipolytique des bactéries lactiques soit peu élevée, il y a une augmentation significative de la teneur en acides gras libres dans le yaourt. De plus, l'homogénéisation améliore la digestibilité en augmentant la surface des globules (*Vignola, 2002*).

- Stimulation du système immunitaire

Les bactéries lactiques favorisent la production d'anticorps et de cytokines, qui protègent contre les agents pathogènes présents dans le tube digestif (*Adolfsson et al., 2004*).

- Activité anti-tumorale

Selon *Adolfsson et al. (2004)* le yaourt présente une activité anti-tumorale grâce à un composé hydrosoluble qui inhibe la prolifération des cellules tumorales ; il s'agit d'un polysaccharide de poids moléculaire inférieur à 14000.

- Activité antimicrobienne

En dehors de l'acide lactique, les bactéries du yaourt produisent des substances antimicrobiennes et des pré-biotiques (*Mahaut et al., 2000*).

Le yaourt peut être un traitement efficace pour les enfants souffrant de diarrhée persistante ou chronique (*Marteau, 1996*).

- Amélioration anti-cholestérolémiant

Plusieurs recherches sur la nutrition montrent que le yaourt maintient une cholestérolémie basse (*Luquet, 1986*).

### I.5.4. Les différents types du yaourt

Selon *Galeron et al.(1986)*, il existe différents sortes de yaourts selon leur teneur en matière grasse, leur goût ou leur texture.

- Selon la texture
- **Yaourts brassés**

Ce sont des yaourts à consistance semi liquide, à la différence du précédent, sa fermentation s'effectue en vrac, dans des cuves. Le caillé est ensuite brassé puis refroidi avant d'être conditionné en pots, qui seront stockés dans une chambre froide. L'addition d'arôme, de pulpes ou de fruits se fait au moment du remplissage des pots ; l'addition du sucre se fait après incubation, à conditions de ne pas dépasser 6% afin de ne pas ralentir la fermentation et pour conserver la consistance du yaourt brassé, le mélange d'additifs (fruit+ sucre) ne doit pas dépasser 15%.

- **Yaourt ferme**

Qu'ils soient de natures sucrées, aromatisé, aux fruits ou à la confiture, ils ont une texture ferme à surface lisse. La fermentation se fait après conditionnement en pots, ces derniers sont stockés sous froid.

- **Yaourt à boire**

Est un lait fermenté brassé, de faible viscosité, le brassage se fait par passage à l'homogénéisation sous pression inférieure à 50 atmosphères, il donne une viscosité inférieure d'environ 50% à celle obtenue par brassage mécanique, il peut être nature ou aromatisé.

- Selon la teneur en matière grasses

- **Le yaourt nature**

Il est fabriqué à partir de lait pasteurisé écrémé, il contient 1% de matière grasse (*Anonyme,2008*).

- **Le yaourt maigre**

Selon *Bourgeois et Larpent, 1996*, le yaourt maigre est préparé à partir de lait écrémé, il est moins moelleux il présente au maximum 0,5% de matière grasse.

- **Le yaourt entier**

Ce type de yaourt est à base de lait entier, sa teneur en matière grasse est de 3,5% (35g/L), c'est un yaourt très onctueux et crémeux (*Anonyme, 2008*).

- Selon le goût
- **Yaourt nature** : sans addition
- **Yaourt sucré** : c'est un yaourt qui contient une quantité suffisante de sucre pour donner un goût sucré remarquable.

- **Yaourt aromatisé** : c'est un yaourt qui est additionné avec des arômes naturels ou de synthèse autorisés par la législation.
- **Yaourt fruits, auconfiture et au miel** : c'est un yaourt qui contient moins de 30% de ces ingrédients ajouté.

## **I.5.5. Technologie de fabrication du yaourt**

### **1. Ingrédients**

#### **1.1. Eau de proces**

Selon *Guyot (1992)*, l'eau est la matière première de tous les types de produits laitiers reconstituées et recombinaées. Elle doit être une eau potable de bonne qualité, dépourvue de microorganismes pathogènes et d'un niveau de dureté acceptable.

#### **1.2. Poudre de lait**

Selon *Multon (1992)*, elle est obtenue à partir d'un lait déshydraté. Elle est caractérisée par un taux d'humidité maximale de 4%. La qualité hygiénique est excellente.

Selon la teneur en matière grasse on repartie les poudre de laits en trois catégories :

- La poudre de lait entier
- La poudre de lait partiellement écrémé
- La poudre de lait écrémé

La composition et les propriétés de la poudre de lait doivent répondre à certaines conditions qui permettent de classer chaque type de poudre de lait en différentes catégories (*Pacikora, 2004*) (tableau N°02).

**Tableau N°02** : les différents catégories de la poudre de lait (*Pacikora, 2004*).

Poudre de lait	Poudre de lait écrémé	Poudre de lait partiellement écrémé	Poudre de lait entier
MG	< 1,2%	1,2% < x < 2,5%	> 26%

**X** : La teneur de la poudre de lait en MG.

#### **1.3. Le sucre**

Il s'agit de sucre naturel de couleur blanche en cristaux.

Le principal sucre autorisé par les législations est le saccharose qui rend la consistance du yaourt plus lisse, plus fine, plus élastique et joue le rôle de fixateur d'arômes (**Larpen, 1989**).

### 1.4. L'arôme

C'est l'ensemble des substances qui créent une sensation de goût agréable dans le produit. Les fruits sont des produits naturels conformes à la législation sur l'aromatization et la coloration du yaourt. Cependant, cet additif ne doit pas être alcoolisé. Les arômes de synthèse sont rajoutés à des doses très faibles, soit de l'ordre de 1/1000. En revanche, les arômes naturels sont rajoutés à des doses plus élevées de 0,05% à 0,2% ou 0,25% dans le produit fini (*Multon, 1992*).

### 1.5. Les ferments lactiques

Les critères de choix des souches reposent principalement sur les considérations technologiques recherchées par le fabricant. Les ferments lactiques les plus utilisés dans les yaourtières sont généralement les produits du « yalactal » constitués unique par deux souches de bactéries (*Lactobacillus bulgaricus et Streptococcus thermophilus, 1990*).

L'importance des ferments lactiques est grande dans l'industrie agroalimentaire et en particulier dans l'industrie de transformation laitière (*Leveau et Bouix, 1993*).

## 2. Préparation et prétraitement du lait

### 2.1. L'évaporation

Le lait chaud arrive dans l'enceinte sous vide où 10 à 20% d'eau contenue dans le lait s'évapore. Ce pourcentage dépend de la teneur recherchée en matières sèche qui est de 1,5% à 3,0%, une partie de l'eau évaporée du produit est utilisée pour préchauffer le lait entrant (*Beal et Sodini, 2001*).

### 2.2. L'homogénéisation

L'homogénéisation évite la remontée de la matière grasse pendant la coagulation, améliore la fermenté du produit fini et la rétention d'eau (*Alias et Linden, 1997*).

Elle permet aussi d'augmenter la viscosité du yaourt et de réduire le phénomène d'exsudation de sérum pendant le stockage de yaourt ferme.

En fin, elle confère un aspect plus blanc au lait et par conséquent du yaourt (*Beal et Sodini, 2001*).

### 2.3. La pasteurisation

Le but premier du traitement thermique est d'assurer l'innocuité du produit suite à la destruction des microorganismes pathogènes et indésirables ainsi qu'à l'inactivation des enzymes telles que la lipase responsable de l'oxydation des lipides (*Walstra et al., 2006*). L'application de chaleur peut également influencer la coloration (réaction de Maillard) et le goût du produit fini (goût de cuit) en fonction de sa sévérité (temps de retenue et température utilisée). Contrairement au lait de consommation, la fabrication de yogourt requiert un traitement thermique sévère (> 75 C) afin de dénaturer irréversiblement plus de 99 % des

protéines sériques (*Tamine et Robinson, 1999*). En général, le traitement thermique oscille entre 80 et 98 °C pour une durée variable de 20 s à 30 minutes (*Lucey, 2004*).

### 2.4. Le refroidissement du lait

Après la pasteurisation, le lait est refroidi, tout d'abord, dans la section de régénération et suite avec de l'eau, à la température d'ensemencement souhaitée (*Anonyme, 2006*).

Le but de refroidissement est de passer rapidement de 40°-45°C à 4°C afin de bloquer le plus rapidement possible les activités métaboliques et enzymatiques et délimiter les problèmes de post-acidification, le refroidissement est initié lorsque la teneur en acide lactique atteint 0,8 à 1% de telle sorte que l'acidité finale du produit refroidi ne dépasse pas 1,2 à 1,4%, sa durée est généralement comprise entre 30 minutes et 1 Heure (*Beal et Sadini, 2001*).

### 2.5. La fermentation

#### L'ensemencement

Selon *Mahaut et al. 2000*, c'est l'incubation de deux germes spécifiques du yaourt : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* dans le rapport : *Streptococcus/lactobacillus* : 1,2 à 2/1 (pour le yaourt nature) jusqu'à 10/1 (pour les yaourts aux fruits).

L'ensemencement minimum varie selon la vitalité des cultures entre 0,5-1%, si elle se situe à environ 5-7%, ou si ces valeurs sont dépassées, l'apport d'acide lactique et du caillé peut être trop important (risque de texture granuleuse et d'une acidification trop rapide) (*Roissard et Luquet, 1993*).

Selon *Vignola (2002)*, il existe certains paramètres à respecter lors de l'ajout des ferments lactiques : la température du milieu, le taux d'incubation, la qualité du ferment, le pH du produit final et la vitesse d'acidification.

Selon *Mahaut et al. (2000)*, l'incubation est réalisée à des températures entre 42 et 45°C et dure entre 2h30 et 3h30. L'objectif de cette phase est d'atteindre une acidité de 70-80°C dans le cas de yaourt étuvé et de 100 à 120°C dans le cas de yaourt brassé.

Selon *Luquet (1985)*, l'incubation dépend de plusieurs facteurs :

- L'activité de la culture.
- Le taux d'ensemencement.
- La vitesse de refroidissement.
- La pré-incubation éventuelle.

### 2.6. Arrêt de la fermentation ou réfrigération

Généralement la température de réfrigération est voisine de 4°C, le refroidissement sert à arrêter l'acidification en inhibant le développement des bactéries lactiques, lorsque l'acidité atteint un certain seuil (70-80°D) dans le cas des yaourts étuvés ; (100 à 120°D) dans le cas des yaourts brassés (*Vignola, 2002*).

Les yaourts brassés, de lait coagulé est brassé, puis refroidi dans un échangeur de température à plaques tubulaires ou même à surface raclée, car en tank, le refroidissement sera trop lent (*Bourgeois et Larpent, 1996*).

### 2.7. Conditionnement

Enfin, les yaourts, conditionnés dans des pots en verre ou en plastique, sont stockés en chambres froides à 4°C en passant au préalable dans des tunnels de refroidissement (*Lucey, 2004*). A ce stade, ils sont prêts à être consommés. La durée limite de leur consommation est de 28 jours.

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

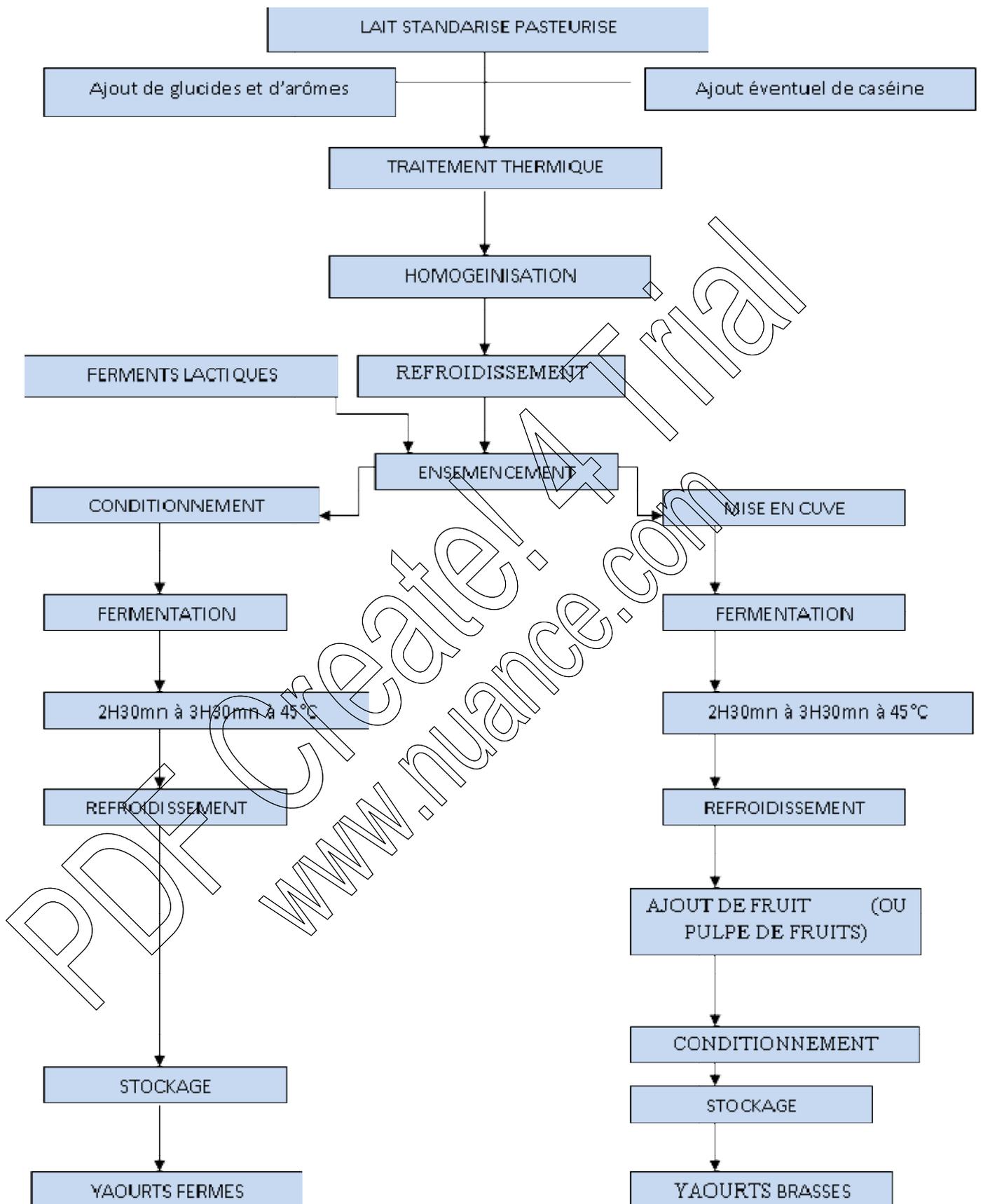


Figure N°01 : Diagramme de fabrication des yaourts (Luquet, 1990).

## I.6. Les bactéries lactiques

### I.6.1. Historique

Depuis plus de 4000 ans, les bactéries lactiques sont utilisées pour fabriquer bon nombre de produits fermentés et notamment des produits laitiers (fromages, yaourts) (*Corrieu, 2008*).

A la fin du *XIX<sup>e</sup>* siècle, Storch au Danemark, connu aux USA et Weigmann en Allemagne, ont étudié la fermentation de lait pour trouver la cause de sa coagulation acide, et ont conclu que la présence de bactéries est responsable de l'acidification du lait et de la maturation de la crème (*Poullain, 1994*).

**Von Frenckenreich** et ses collaborateurs, sont parvenus à isoler en 1897 un streptocoque ; en 1919, Jensen a publié une monographie qui représentait une avance considérable dans la connaissance des différentes espèces bactériennes (*Poullain, 1994*).

### I.6.2. Définition

Les ferments lactiques constituent un ensemble de microorganismes qui sont regroupés sous le terme de « bactéries lactiques », permettant l'acidification du lait par formation d'acide lactique.

Certaines sont appelées homofermentaires, car elles produisent uniquement de l'acide lactique à 80% à partir du sucre, les autres sont hétérofermentaires et forment autres que l'acide lactique de nombreuses acides : acétate, propionate ainsi que l'éthanol et du CO<sub>2</sub> (*Tamine et Robinson, 1999*).

La description des microorganismes se base entre autre, sur leurs caractéristiques morphologiques, mais qui comprend aussi l'arrangement, la coloration de gram, l'encapsulation et la sporulation et les besoins de croissance des microorganismes appelés besoins physiques (*Vignola, 2002*).

### I.6.3. Caractères généraux

Les bactéries lactiques présentes des caractéristiques communes qui expliquent leur regroupement :

1. Ce sont des bactéries Gram positives, généralement immobiles, jamais sporulées, catalase négatives, oxydase négatives, généralement nitrate réductase négative (*Prescott et al., 1995 ; Avril et al., 2000*).
2. Leur capacité de biosynthèse est faible, ce qui explique leur polyauxotrophie pour divers acides aminés, des bases nucléiques, des vitamines et des acides gras mais aussi leur métabolisme fermentaire incapable de synthétiser le noyau hème des porphyrines, elles sont normalement dépourvus de cytochrome et en conséquence inaptes à tout respiration aérobie ou anaérobie (*Levaux et Bouix, 1993*).
3. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives : micro aérophiles, uniquement capables de fermentation en aérobiose comme en anaérobiose (*Novel, 1993*).

Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques sont consignés au **tableau N°03**

**Tableau N°03** : les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques.

Genre	Morphologie	Fermentation	Caractéristiques principales	Habitats principaux
Lactobacillus	Bacilles	Homofermentaires ou hétérofermentaires	Thermophiles ou mésophiles	Homme, produits laitiers, carnes, végétaux
Carnobacterium	Bacilles	Hétérofermentaires	Psychrotrophes, peu acidotolérants	Produits carnes, poissons, produits laitiers
Lactococcus	Coques	Homofermentaires	Mésophiles, croissance à 10°C et non à 45°C	Produit laitiers, végétaux
Streptococcus	Coques	Homofermentaires	Thermophiles	Produits laitiers
Enterococcus	Coques	Homofermentaires	Mésophiles, croissance à 45°C et non à 10°C, thermorésistance	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers
Tetragenococcus	Coque en tétrades	Homofermentaires	Mésophiles, halotolérants	Bière, produits végétaux, produits laitiers
Leuconostoc	Coque	Hétérofermentaires	Mésophiles	Produits végétaux, produits laitiers
Oenococcus	Coque	Hétérofermentaires	Mésophiles	Vin
Bifidobacterium	Ferme irrégulière	Acide acétiques et lactique	Mésophiles	Intestin de l'homme et animaux
Pediococcus	Coque en tétrades	Homofermentaires	Mésophiles, halotolérants	Bière, produits laitiers

**Michel et al., 2005**

### I.6.4. Classification des bactéries lactiques

La classification sépare le monde bactérien en 35 groupes. Les bactéries lactiques se retrouvent dans les groupes 17 (coques Gram positives), groupes 19 (bâtonnets réguliers Gram positifs, non sporulant) et groupes 20 (bâtonnets irréguliers Gram positifs, non sporulant). Parmi les 11 genres bactériens qu'on peut considérer comme des bactéries lactiques, seuls les genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* sont communément employés dans la fermentation lactique des produits laitiers en Amérique du nord.

Le genre *Lactobacillus*, se distingue de trois autres par une forme allongée, facilement observable au microscope.

Le genre *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc* ont des formes rondes, *streptococcus* présente la particularité d'aptitude à croître à 45°C. *Lactococcus* et *Leuconostoc* se différencient par leur type de fermentation : la première produit presque exclusivement de l'acide lactique à partir des sucres, tandis que *Leuconostoc* produit une quantité appréciable d'acide acétique ou d'éthanol (Cerning et al., 1990).

Les ferments contiennent généralement un mélange de plusieurs souches ou de plusieurs espèces et sont donc des « culture mixtes ».

Les différentes espèces de bactéries lactiques se distinguent par leurs températures optimales de croissance. Les ferments lactiques du genre *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont dits mésophiles, c'est-à-dire que leur croissance optimale se situe entre 25° et 35°C.

Un certain nombre de cultures de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* et également les bifidobactéries sont appelées thermophiles, car leur température optimale de croissance se situe entre 37° et 47°C (Vignola, 2002).

### I.6.5. Espèces bactériennes spécifique au yaourt

#### 1. *Streptococcus thermophilus* :

##### 1.1. Morphologie

*Streptococcus thermophilus* se présente sous forme de cellules sphériques ou ovoïdes, de diamètre compris entre 0,7µm et 0,9µm, isolée en paires diplocoques ou groupée en chaînes, cette espèce est Gram positive et catalase négative (Larpen, 1989).

##### 1.2. Habitat

*Sc. thermophilus* isolée à partir de différentes sources lactières .Elles sont saprophytes, retrouvée aussi bien dans l'eau que dans l'air ou la sol, l'activité de certaines d'entre elles a même permis des applications industrielles (fermentation lactique)(Obre, 1983).

### 1.3. Caractères cultureux

Cette espèce est thermorésistante (résiste à 60-65°C pendant 30 minutes) avec une température de croissance comprise entre 19° et 52°C (Terre, 1986). *Sc. thermophilus* présente une forte sensibilité au NaCl (2 à 4% de NaCl) (Novel, 1993).

Nettement moins acidifiante que les Lactobacilles, ils produisent généralement de 0,5 à 0,6% d'acide lactique (pH voisin de 5,2) (Anonyme, 2008).

### 1.4. Caractères biochimiques

*Streptococcus thermophilus* est halotolérant (2 à 4% de NaCl) et homofermentaire et dégrade principalement le lactose et le saccharose, mais hydrolyse aussi le fructose et le glucose (Deroissart et Luquet, 1994).

### 1.5. Caractère antigénique

*Streptococcus thermophilus* se distingue des autres streptocoques par l'absence d'antigène de groupe (Accolas, 1982) et appartient au groupe N de Lancefield (Obre, 1983).

## 2. *Lactobacillus bulgaricus*

### 2.1. Morphologie

Cette espèce se présente sous forme de courts bâtonnets lorsque la culture est jeune et elle présente des ramifications lorsqu'il s'agit d'une culture âgée. *Lactobacillus bulgaricus* présente des granules métachromatiques colorées en bleu de méthylène (Larpen, 1989).

### 2.2. Habitat

Très répandues dans la nature, les lactobacilles sont également des hôtes habituels des cavités naturelles de l'homme. Leur pouvoir pathogène est pratiquement nul.

Appartiennent aux ferments lactiques et à ce titre interviennent dans l'industrie laitière (Obre, 1983).

### 2.3. Caractères cultureux

*Lactobacillus bulgaricus* est Gram positif, catalase négative et homofermentaire, elle présente une bonne croissance dans un milieu à pH compris entre 4,5 et 6,4 (Larpen et al., 1997). Cette bactérie est thermorésistante (60°C/90mn et 65°C/30mn) avec une température optimale de croissance située entre 37° et 42°C (Larpen, 1989).

Elle préfère une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> sur milieu solide, les colonies apparaissent en 24 à 48 heures, sous forme de colonies opaques, lisses, blanchâtre de 0,5 à 1mm de diamètre (Obre, 1983).

### 2.4. Caractères biochimiques

*Lactobacillus bulgaricus* est catalase négative, oxydase négative, nitrate réductase négative, gélatine négative, homofermentaire, produit l'isomère D(-) de l'acide lactique (Ober, 1983).

### 2.5. Caractères antigéniques

*Lactobacillus bulgaricus* appartient au groupe sérologique E de Lance Field (Ober, 1983).

### I.6.6. Croissance associative dans le yaourt

Les bactéries lactiques thermophiles sont souvent employées en cultures mixtes, le type d'association le plus connu est celui de bactéries du yaourt : *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus*.

L'optimisation de la croissance et du pouvoir acidifiant est obtenue de l'association de ces espèces lorsqu'elles sont en culture pure (Walstra et al., 2006). La production d'acide lactique ainsi que les composés aromatisants et le matériel polysaccharidique est plus important lorsque ces deux espèces sont en synergie.

*Streptococcus thermophilus* utilise les peptides et les acides aminés libérés à partir des protéines du lait métabolisés par *Lactobacillus bulgaricus* alors que la croissance de cette espèce est stimulée par divers composés produits par *Streptococcus thermophilus* tel que : l'acide formique, le CO<sub>2</sub> et l'acide pyruvique.

### I.6.7. Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont caractérisées par des exigences nutritionnelles nombreuses, aussi elle croître facilement que dans les milieux riche en vitamines, bases nucléiques et en sources de carbone et d'azote (Bourgeois et al, 1993). Elles ont besoin aussi d'une source d'énergie pour synthétiser et assembler leur constituant. (Salbonnière, 2000)

Les vitamines nécessaires sont présentes dans le lait en concentration généralement suffisante mais l'addition au lait d'extrait de levure riche en vitamines améliore la croissance bactérienne ; certaines vitamines ne sont pas exigées mais ont un effet stimulant sur la croissance (Desmazeaud, 1983).

### I.6.8 Aptitudes technologiques des bactéries lactiques

Les ferments lactiques sont responsables des modifications qui peuvent se voir dans les produits laitiers au niveau de l'apparence, l'odeur, la consistance ou la texture :

- Aptitude acidifiante : l'acidification résulte de la dégradation du lactose en acide lactique et aboutit à une forte diminution du pH. Cette production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière. Car cet acide organique permet de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien. (Leveau *et al.*, 1998)

*Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* n'utilisent que la fabrication glucose du lactose, le galactose est excrété de la cellule lors de la fermentation (Vignola, 2002).

- Aptitude protéolytique : les bactéries lactiques exigent plusieurs acides aminés pour leur croissance, alors qu'il n'y a que très peu d'acide aminé ou de peptides libres dans le lait, c'est pourquoi il est préconisé un traitement thermique du lait afin de libérer ces acides aminés (Juillard *et al.* 1996).

Les bactéries lactiques restent les seules de mettre en jeu des systèmes complexes d'enzymes protéolytiques et de transport d'acides aminés ou peptides produits pouvant croître à leur maximum (Guiraud, 1998). Le métabolisme d'hydrolyse des protéines affecte non seulement la croissance des cellules mais également la saveur parce qu'une accumulation des peptides peut provoquer de l'amertume (Vignola, 2002).

- Aptitude aromatisante : les bactéries lactiques jouent un rôle important sur les propriétés organoleptiques du produit dans les quel elles se développent, cela est dû aux composés organiques qu'elles s'écrètent par transformation du milieu (Leveaux *et al.* 1991 ; Schmidt *et al.* 1994).

Dans le cas du lait, le citrate joue un rôle essentiel à partir de ce composé, les bactéries lactiques produisent le diacétyle, l'acétaldéhyde, l'acétate et le dioxyde de carbone qui sont les principaux responsables de l'arôme des produits laitiers fermentés (Vignola, 2002 ; Luquet, 1986).

- Activité lipolytique : Comme la plupart des micro-organismes, les bactéries lactiques possèdent ces types d'activités. L'équipement lipolytique est de nature endocellulaire.

Les études effectuées sur quelques souches de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Sc. thermophilus* mettent en évidence des activités très faibles, les *Lactococcus* et les *Leuconostocs* étant en général, un peu plus actifs.

Une étude réalisée sur 14 souches de Lactobacilles a montré que les enzymes impliqués dans l'activité estérasique sont également de nature endocellulaire (*Lenoire et al., 1994*).

Les bactéries lactiques ont deux rôles principaux dans les aliments, liées à leurs activités métaboliques (**Tableau N°04**) :

- Un rôle positif ou technologique : il s'exerce principalement dans les produits fermentés avec des conséquences sur l'ensemble des facteurs de qualité.
- Un rôle négatif : il se traduit essentiellement par l'altération des denrées concernées, qu'elles soient ou non fermentées (*Pilet et al., 1998*).

**Tableau N°04** : Principaux rôles des bactéries lactiques dans les aliments selon *Pilet et al.* (1998)

Rôles positifs	Rôles négatifs
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Structure et texture</li> <li>-acidification : laits fermentés, fromages</li> <li>-polysaccharides : laits fermentés</li> <li>➤ Arôme et saveur</li> <li>-acide organique : tous produits fermentés</li> <li>-diacétyl/ acétaldéhyde : beurre et crème/ yaourt</li> <li>-lipolyse : saucisson, fromages</li> <li>-protéolyse : fromages</li> <li>➤ Conservation</li> <li>-acide organique</li> <li>-bactériocine</li> <li>-peroxyde d'hydrogène</li> <li>➤ Nutrition :</li> <li>-digestion du lactose</li> <li>-colonisation de l'intestin</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Altération de l'aspect</li> <li>-polysaccharides</li> <li>-CO<sub>2</sub></li> <li>-peroxyde d'hydrogène</li> <li>➤ Altération des qualités organoleptiques</li> <li>-acidification trop poussée</li> <li>-oxydation des acides gras</li> <li>-protéolyse</li> <li>➤ Production de composés toxiques</li> <li>-amines (tyramine)</li> </ul>

**Pilet et al.(1998)**

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

**Chapitre II**  
**La spiruline**

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

## Chapitre II : La spiruline

### 1. Définition

Considérée souvent comme une algue planctonique microscopique, la spiruline est en fait une bactérie appartenant aux cyanobactéries filamenteuses du genre *Arthrospira*, le plus souvent enroulée en spires. Son nom scientifique est cyanobactérie *Arthrospiraplantensis* ou *A. maxima*. Elle pousse naturellement dans les lacs chauds du Tchad et du Mexique, mais aussi dans les lacs alcalins riches en carbonates et bicarbonates à pH élevé. La spiruline est en fait la plus ancienne forme de vie « verte » apparue sur la terre il y a environ 3,5 milliard d'année (*Fox, 1999*).

Les cyanobactéries forment l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène. Elles peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires ; dans ce dernier cas, leurs cellules s'arrangent en amas de type colonies ou, le plus souvent, en filaments composés de cellules alignées. (*Charpy et al., 2004*).

Ce sont de vrais procaryotes (organisme dépourvus de membrane nucléaire), malgré leur système photosynthétique proche de celui des eucaryotes. (*Fox, 1999*).

### 2. Appellations

Spiruline, Spirulina ou *Arthrospira*. Il faut retenir que le terme « Spiruline » correspond au nom commercial d'une cyanobactérie appartenant toujours au genre *Arthrospira*. « Spiruline » est le nom commercial anglais de la même cyanobactérie mais il désigne également un genre de cyanobactérie assez éloigné d'*Arthrospira*, et surtout non comestible. « *Arthrospira* » étant le nom scientifique (genre) d'un groupe de cyanobactéries auquel appartient notre spiruline alimentaire. (*Fox, 1999*)

La spiruline, avait différentes appellations dont on peut citer :

- La portion magique : mentionnée par Christophe Colomb ;
- Le Dihé : par les Kanembous, tribu du Tchad ;
- Le Tecuitlatl : par les Aztèques (*Fox, 1999*).

### 3. Historique

La spiruline est un des plus primitifs organismes apparus sur la Terre il y a plus de 3,5 milliards d'années. Elle n'a pas évolué. C'est l'ancêtre de tous les organismes vivants, de la lignée animale comme de la lignée végétale.

Cette algue croît à l'état naturel dans des lacs saumâtres, saturés de soude, dans des régions chaudes de la Terre.

Elle est découverte par les Européens lors de la conquête de l'Amérique. Dans ses mémoires, le conquistador Cortès rapportait que les Aztèques promenaient à la surface du Lac Texcoco des filets à milles très serrées pour récolter une sorte de boue colorée qu'ils faisaient

sécher au soleil pour former ensuite des galettes appelée « **Tecuitlatl** » et qu'ils consommaient pour améliorer leurs performances lors d'activités physiques intenses.

La spiruline n'intéressa que très peu les conquistadores, qui lui préférèrent plutôt le maïs et le cacao.

En Afrique, certaines tribus du Sahara, consomment depuis bien longtemps la spiruline, puisée dans des lacs et mares où elle croît à l'état naturel, sous forme de galettes nommées « **Dihé** » (*Vidallo, 2008*).

Une mission scientifique redécouvre la spiruline dans les années 40 au Tchad. Les études sur cette algue ne démarrent véritablement que dans les années 60. Dans les années 70, la spiruline devient appréciée dans les pays industrialisés du fait de ses excellentes propriétés nutritionnelles.

Par ailleurs, il est utile de mentionner les travaux menés par la NASA et l'Agence Spatiale Européenne quant à l'utilisation de la spiruline dans de futures stations spatiales (*Falquet et Hurni, 2006*).

## 4. Eléments de biologie de la spiruline

### 4.1. Taxonomie

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 (*Charpy et al., 2008*).

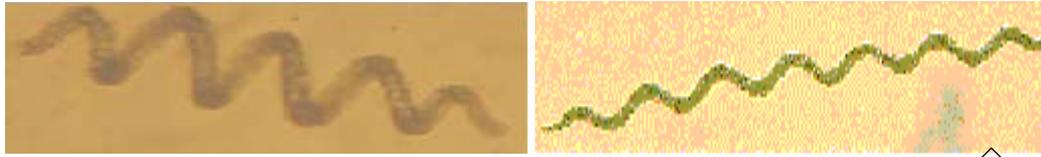
La Spiruline appartient à l'ordre des Nostocales (= Oscillatoriales), la famille des Oscillatoriaceae, le genre Oscillatoria et le sous genre Spirulina ou Arthrospira (*Moreau et al., 1960*). Les cyanobactéries forment l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène et peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires (*Balloni et al., 1980*).

### 4.2. Morphologie et caractères généraux

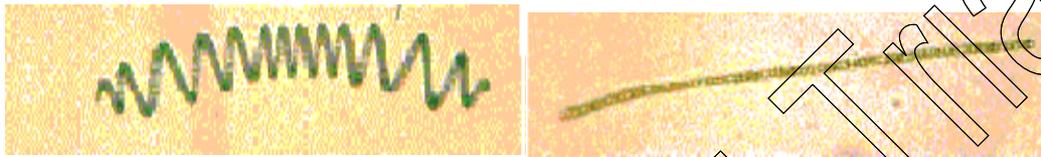
La Spiruline est une cyanophycée microscopique d'une longueur moyenne d'environ 250µm. Elle est composée de filaments mobiles de 10 à 12 µm de diamètre non ramifiés et enroulés en spirale, généralement en 6 ou 7 spires. Cette forme hélicoïdale lui donnant l'allure d'un minuscule ressort lui a valu son appellation de « Spiruline » (*Geitler 1932*). Cependant les Spirulines présentent différentes formes (**Figure N°02**). On trouve des formes spirales classiques, ondulées et parfois droites. Cette particularité est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat. (*Fox, 1999*).

Plus précisément, la Spiruline est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout formant ainsi un filament ou trichome. L'enroulement du trichome sur lui-même s'effectue suivant le sens des aiguilles d'une montre lorsqu'on regarde au-dessus de la spirale. Les facteurs environnementaux tels la température auraient cependant une influence sur l'orientation de l'hélice, (*Muhling et al. 2003*). Cette morphologie typique lui permet de se

déplacer dans l'eau en adoptant le mouvement d'une vis. Le système pigmentaire de la Spiruline est constitué de chlorophylle *a* ; de pigments hydrosolubles, les phycobilines rouge (phycoérythrine) et bleu (phycocyanine) ; de caroténoïdes ( $\beta$ -carotène, cryptoxanthine).



**A.**Forme spiralée **B.** Forme ondulée



**C.** Forme spiralée

**D.**Forme droite

**Figure N°02 :** Morphologies typiques de Spiruline (Source : Antenna Technologie modifiée)

### 4.3. Cycle biologique de la spiruline

La spiruline se reproduit par bipartition par scission simple. C'est une reproduction asexuée, par segmentation des filaments.

Le filament de Spiruline à maturité forme des cellules spéciales appelées nécriides. 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 hormogones. Les hormogones vont croître en longueur par division binaire (chacune des cellules va donner deux cellules par scissiparité) et prendre la forme typique hélicoïdale. En conditions expérimentales, le temps de génération (passage d'une génération à une autre) maximal de la Spiruline est de l'ordre de 7 heures (Zarrouk 1966).

### 4.5. La croissance de la spiruline

La spiruline est une espèce photoautotrophe (grâce à ses pigments chlorophylliens), aérobie. Par conséquent, elle est dotée des photosystèmes I et II (Merceron, 2006)

Pour se développer, la Spiruline a besoin d'éléments minéraux simples tels l'eau, les sels minéraux, le  $\text{CO}_2$  et l' $\text{O}_2$  qu'elle puise directement dans son milieu tout en utilisant la lumière solaire comme source d'énergie grâce à son système pigmentaire. Ce mode de synthèse de biomasse est la photo autotrophie.

La Spiruline croît dans des milieux naturels caractérisés par des eaux saumâtres, chaudes, alcalines ( $8 < \text{pH} < 11,5$ ) et natronées (fortement concentrées en carbonates et bicarbonates) 8 de la zone intertropicale.

En règle générale les phosphates, les carbonates, les nitrates et le fer, sont les éléments limitant de la production phytoplanctonique dans les milieux aquatiques. Dans les gisements naturels, ces éléments sont apportés par les bassins versants. La Spiruline se développe dans des eaux chaudes (28 à 40°C) et bénéficiant d'une intensité lumineuse élevée. Le vent joue un rôle important en créant une agitation qui favorise une dispersion homogène de la Spiruline dans le milieu, et donc son exposition à la lumière.

En milieu naturel, lorsque les conditions sont optimales, les Spirulines peuvent se développer en grande quantité et entrent alors en compétition avec d'autres organismes. Lors des efflorescences, la consommation des carbonates et bicarbonates entraîne une augmentation du pH limitant ainsi la croissance des autres microorganismes (Jordan, 2006).

### 5. La composition chimique de la spiruline et sa qualité nutritionnelle

La plupart des études des constituants de la Spiruline ont été réalisées sur *Spirulina platensis* (connue aussi sous l'appellation de *Arthrospiraplatensis* ou *S. geitler*). Cette espèce sert de référence car sa composition est relativement constante même si elle varie selon la souche, les conditions de culture et le mode de conditionnement.

La composition de la Spiruline dépend des éléments chimiques dont elle intrants et d'influent sur sa composition. La culture en bassin permet en tous les cas de maîtriser la qualité (Charpy et al., 2008)

#### 5.1. La composition en protéines

La teneur en protéines peut décroître de 10 à 15% selon le moment de la récolte, celle en méthionine (AA soufre) de 30% selon le mode de séchage. Les conditions pour une teneur optimum sont une récolte au début de la photopériode et un séchage par pulvérisation au détriment des tambours chauffants (Falquet et Hurni 2006). Les acides aminés essentiels représentent 47% du poids total des protéines (Bujard et al., 1970) et elle contient également tous les acides aminés non essentiels. (Tableau N°05)

Ce micro-organisme 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% (Costa et al. 2002). De ce fait, la Spiruline ne nécessite pas de cuisson ni même l'administration d'un traitement spécial pour une bonne digestibilité protéique.

**Tableau N°05 :** Pourcentage moyen des acides aminés de *Spirulina platensis* selon différents auteurs et de *Spirulina mexicana* d'après (*Borowitzka, 1988*).

Acides Aminés	Jacquet 1974	Clément 1975	Fox 1999	Borowitzka 1988
<b>Acides aminés essentiels* (%)</b>				
Isoleucine	5,60	6,40	5,98	5,70
Leucine	8,00	9,00	8,71	8,70
Lysine	4,20	4,80	5,28	5,10
Méthionine	2,25	2,60	2,85	2,60
Phénylalanine	4,40	4,60	5,09	5,00
Thréonine	4,70	5,50	5,58	5,40
Tryptophane	1,00	1,60	1,48	1,50
Valine	5,70	6,90	7,72	7,50
<b>Acides aminés non essentiels (%)</b>				
Alanine	7,25	7,90	8,24	7,90
Arginine	6,60	6,70	7,92	7,60
Acide aspartique	9,30	9,20	9,50	9,10
Cystéine	0,95	0,90	0,93	0,90
Acide Glutamique	NC	12,90	13,20	12,70
Glycine	4,80	5,00	5,07	4,80
Histidine	1,60	1,60	1,50	1,50
Proline	3,60	3,90	4,32	4,10
Sérine	5,00	5,60	5,46	5,30
Tyrosine	4,30	4,90	NC	4,60

## 5.1. Composition en lipides

Les lipides représentent généralement de 6 à 8% du poids sec de la Spiruline mais ce pourcentage peut atteindre 11% (*Hudson et Karis, 1974*). La composition en lipides totaux se caractérise par un bon équilibre entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés (AGPI). Elle se subdivise en deux fractions : une fraction saponifiable « ou acides gras » (83%) composée surtout de et une fraction insaponifiable (17%) (*Clément, 1975*).

### ➤ Les acides gras

#### A. La fraction saponifiable

Représentant 4,9 à 5,7% de la matière sèche de la Spiruline (*Fox, 1999*), est essentiellement composée de monogalactosyldiglycérade et de digalactosyldiglycérade (23%), de sulfoquinovosyldiglycérade (5%) et de phosphatidyl glycérol (25,9%) (*Xue et al., 2002*). Les triglycérades ne sont présents qu'à de très faibles taux (0,3%). La phosphatidyl choline, la phosphatidyléthanolamine et le phosphatidylinositol ne sont pas présents en quantité appréciable. Il est à noter que 4,6% de phospholipides sont encore indéfinis.

**Tableau N°06** : Composition typique en pourcentage des principaux acides gras de 3 espèces de Spiruline d'après (*Pascaud et al. 1993*).

Acides gras	<i>S. pacifica</i>	<i>S. maxima</i>	<i>S. platensis</i>
Palmitique (16:0)	44,2	63,0	25,8
Palmitoléique (16:1) oméga-6	4,4	2,0	3,8
Stéarique (18:0)	Traces	1,0	1,7
Oléique (18:1) oméga-6	0,4	4,0	16,6
Linoléique (18:2) oméga-6	24,3	13,0	40,1
Gamma-linolénique (18:3) oméga-6	22,1	13,0	40,1
Alpha-linolénique (18:3) oméga-3	Traces	Traces	Traces

La composition des principaux acides gras de 3 espèces de Spiruline (**Tableau N°06**) révèle la présence d'une forte concentration en acides gras essentiels (acides gras insaturés C18). Ces acides gras incluent les oméga-3 et des oméga-6 qui sont qualifiés d'essentiels car l'organisme humain en a absolument besoin et ne peut les produire. Les acides gras oméga-3 et oméga-6 de la Spiruline préviendraient l'accumulation de cholestérol dans l'organisme. Ceci pourrait expliquer en partie la diminution des taux en cholestérol et triglycérides observés lors des expériences de *Ramamoorthy et Premakumari (1996)* et *Samuels et al., (2002)*.

L'acide gamma-linolénique (non-essentiel car il peut être synthétisé à partir de l'acide gras linoléique) constitue 10 à 20% des acides gras (soit 1-2% du poids sec) chez *Spirulina maxima* et jusqu'à 40% chez *S. platensis*, (soit 4% du poids sec).

La présence d'acide gamma-linolénique est à souligner du fait de sa rareté dans les aliments courants et que c'est un précurseur de médiateurs chimiques des réactions inflammatoires et immunitaires (*Falquet et Hurni, 2006*). Les sulfolipides tels les sulfoquinovosyldiglycérides qui représentent 5% de la fraction saponifiable, intéressent les chercheurs pour leur activité protectrice contre des infections virales. Le composant lipide sulfoquinovosyldiacylglycerol (SQDG) de *Spirulina platensis* riche en sulfolipides a démontré par expérience in vitro sa capacité à inhiber la transcriptase inverse 1 du hiv-1 et du hiv-2 alors que ce dernier est naturellement résistant à cette classe de molécules (*Kiet et Durand Chastel, 2006*).

## B. La fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable est composée essentiellement de stérols, de terpènes, d'hydrocarbure saturé (paraffines) et de pigments. Cette fraction représente 1,1% à 1,3% de la matière sèche de la Spiruline (*Fox, 1999*). Bien que certaines études révèlent l'absence de stérols, il semblerait que ces derniers représentent néanmoins 1,5% de la fraction lipidique non polaire de la Spiruline (*Falquet et Hurni, 2006*). D'après *Clément (1975)*, *Hudson et Karis (1974)* les taux de stérols libres ne dépassent pas 0,015% du poids sec

de la cyanophycée. Ces stéroïdes sont principalement le colionastérol, l'avenasterol et en plus faible quantité, le cholestérol. Certains des stéroïdes présents pourraient partiellement expliquer l'activité antimicrobienne de la Spiruline (*Clément, 1975*).

Les terpènes représentent de 5 à 10% de la fraction insaponifiable (*Clément, 1975*). Chez *Spirulina platensis*, ils sont essentiellement représentés par l'alpha et le beta-amyrine, triterpène pentacyclique (*Clément, 1975*). Les hydrocarbures saturés à longues chaînes (paraffine) constituent 25% des lipides insaponifiables chez *Spirulina platensis* et *Spirulina maxima* (*Bujardet et al., 1970*), soit 0,1 à 0,3% de la matière sèche (*Tulliez et al., 1975*). Les deux tiers sont constitués de heptadécane et le tiers restant d'hydrocarbures linéaires saturés en C15, C16, et C18, ainsi que trois hydrocarbures saturés à chaînes ramifiées non identifiés (*Tulliez et al., 1975*).

## 5.2. La composition en glucides

Les glucides représentent 13,6 à 25% de la matière sèche des Spirulines (*Falquet et Hurni., 2006, Quillet 1975, Shekharam et al. 1987*). La paroi des Spirulines comme les bactéries Gram-négatives, est formée de glucosamine et d'acide muramique associés à des peptides.

Les sucres simples comme le glucose, le fructose et le saccharose existent à l'état de traces. Le glycogène représente 0,5%, le glycérol et des polyalcools comme le mannitol et le sorbitol sont présents en petite quantité.

L'essentiel des glucides assimilables est constitué par ces polymères. Ils constituent l'ensemble des mucilages extractibles par l'eau, soit 11 à 12% du poids sec. Le glucosane et le rhamnosane constituent respectivement 1,9% et 9,7% du poids sec de la Spiruline (*Quillet, 1975*).

Les cyclitols correspondent à 2-3% de la matière sèche de la Spiruline. Ils se composent essentiellement de meso-inositol phosphate qui constitue une source de phosphore organique (*Challem et al. 1981*).

La paroi de la Spiruline présente une teneur en glycogène estimée à environ 0,5% de son poids sec (*Fox, 1999*) et une teneur en cellulose très faible, soit 0,5% de son poids frais (*Jacquet 1974*). Elle serait donc facilement assimilable. La Spiruline est constituée aussi de polysaccharides sulfatés spécifiques comme le spirulane-calcique (Ca-Sp) ou le spirulane-sodique (Na-Sp) (*Lee et al., 1998*).

## 5.3. La composition en acides nucléiques

La Spiruline renferme 4,2 à 6% d'acides nucléiques totaux (30% ADN et 70% ARN) dans sa matière sèche (*Santillan, 1974*). 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).

#### 5.4. La composition en sels minéraux

La spiruline contient tous les minéraux essentiels comparée au riz, au blé, au maïs ou encore au soja. La spiruline contient 4 à 10 fois plus de potassium, 10 à 80 fois plus de sodium, et 70 fois plus de calcium que le lait (Vidal, 2008) (Tableau N°07)

**Tableau N°07 :** Composition en minéraux de la Spiruline cultivée en mg/g de sa matière sèche d'après Falquet et Hurni (2006)

Minéraux	Teneur (mg/g)	Minéraux	Teneur
Calcium	13-140	Cuivre	0,08-0,1
Phosphore	67-90	Chrome	0,028
Magnésium	20-29	Manganèse	0,25-0,37
Fer	5,80-18	Sodium	45
Zinc	0,21-0,40	Potassium	64-154

#### 5.6. La composition en vitamines

La spiruline a également une teneur extrêmement élevée en vitamine A et elle est la deuxième source de vitamines du groupe B après la levure de bière (Takai et al., 1987).

La spiruline est riche en vitamine B12 qui est la vitamine la plus difficile à obtenir dans un régime sans viande (végétarien), et aucun végétal courant n'en contient (la spiruline étant plus riche en vitamine B12 que le foie du bœuf (Richmond, 1990) (Tableau N°08)

**Tableau N°08 :** Teneur en vitamines en mg/kg de matière sèche de Spiruline d'après (Tabutin et al., 2002)

Vitamines	Teneur	ANC*
$\beta$ Carotène (pro-A)	1700	1,8
Thiamine (B1)	55	1,3
Riboflavine (B2)	40	1,6
Pyridoxine (B6)	3	1,8
Cyanocobalamine (B12)	0,4	0,0024
Acide ascorbique (C)	Traces	110
Tocophérol (E)	190	12
Acide nicotinique (PP) ou B3	118	14
Acide folique (B9)	0,5	0,33
Biotine (H) (B8)	0,4	0,05

\*Apports nutritionnels conseillés (mg/jour pour un adulte) par l'AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire et alimentaire).

## 5.7. La composition en pigments

La spiruline contient des chlorophylles, dont la chlorophylle A (typique des végétaux), des caroténoïdes dont le principal est le  $\beta$ -carotène, la phycocyanine et la phycoérythrine (**Tableau N°09**)

**Tableau N°09** : Teneurs en pigments en mg/10g de matière sèche de spiruline

<b>pigments</b>	<b>Teneur en mg/10g</b>
Chlorophylles totales	115
Chlorophylle a	61-75
Caroténoïdes (orange)	37
Phycocyanine (bleu)	1500-2000
Phycoérythrine (rouge)	2900-10000

*Pierlovisi (2007)*

## 6. Utilisation de la spiruline dans la santé humaine

Dans les pays développés, et depuis peu dans quelques régions d'Afrique, la Spiruline est consommée comme complément alimentaire « bénéfique à la santé » (*Branger et al., 2003*). Elle est vendue dans le secteur des produits dits « Bio ». La spiruline semble être un complément thérapeutique de la spiruline idéal. Les propriétés thérapeutiques de la spiruline sont utilisées aux traitements de diverses pathologies en se basant sur la composition de cet organisme et les études sur les activités de ses composants.

La spiruline semble être un excellent antiviral (*Shih et al., 2003*), un anti herpes (*Sharaf et al., 2010*) et lutte contre le HIV (*Quasney et al., 2001*), elle est aussi un antibactérien (*Ozdemir et al., 2004*). Elle baisse le taux de cholestérol et des lipides sanguin (*Becker et al., 1986*). Son effet hypo-glycémiant a été prouvé (*Anuradha, 2001*) ainsi que son effet contre l'hypertension artérielle (*Mani et al., 2000*)

Cette portion magique stimule le système immunitaire (*Rasool et Sabina., 2009*); elle aurait une activité anti-tumorale (*Kisheng et al., 1991*) et peut induire un mécanisme d'apoptose des cellules cancéreuses (*Li et al., 2006*) : elle prévient le cancer (*Swartz et Sklar., 1987*). Toutefois, elle exerce une activité anti-oxydante (*Miranda et al., 1998*). Elle douée d'activité anti-inflammatoire sur les articulations (*Remirez et al., 2002*), d'un effet protecteur contre les radiations en stabilisant le DNA (*Swhartz et al., 1988*), d'un effet sur la flore intestinale (*Takai et al., 1987*). Elle prévient l'anémie, stimule l'érythropoïse (*Rebadeneira et Garcia., 2000*).

La spiruline, possède une propriété de réduire les métaux lourds : arsenic (*Karim et al., 1999*), cadmium et mercure (*Yamane et al., 1988*), et des substances néphro-toxiques de l'organisme (*Takai et Kato., 1991*). C'est un hépato-protecteur (*Torres et al., 1999*), lutte contre toxicité cardiaque (*Khan, 2005*), empêche le développement de l'athérosclérose et l'ischémie cérébrale (*Mark, 2007*).

## 7. La production de la spiruline

La production de Spiruline se fait à plusieurs échelles : artisanale, semi-industrielle et industrielle. Les éléments de différenciation de ces modes de production sont la surfacetotale des bassins de culture et leurs surfaces unitaires, les moyens et matériaux utilisés, les degrés de technologie, les objectifs. Le processus de fabrication de la Spiruline passe cependant par les mêmes étapes obligatoires (*Jourdan, 2006*).

### **7.1. Paramètres environnementaux influençant la culture de la spiruline**

Il existe trois facteurs déterminants pour la culture de microalgues : la température, la lumière et le pH. Les microalgues sont sensibles à toute variation brutale des paramètres de culture. D'autres facteurs moins importants seront aussi à prendre en compte comme l'agitation du milieu par exemple.

#### **A. La température :**

La spiruline pousse idéalement lorsque la température du milieu de culture est de 37°C. 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 (*Jourdan, 2006*).

#### **B. Luminosité et agitation**

Une intensité lumineuse élevée sans agitation conduit à la photolyse des micro-algues. Une forte intensité lumineuse conjuguée avec une forte agitation donne la croissance optimale, tous les filaments reçoivent des charges de lumière fréquentes et sont ensuite rapidement protégés d'une exposition très longue par les autres filaments. En lumière et agitation faible, la croissance est lente, mais la pigmentation plus marquée. C'est-à-dire que la couleur est d'un vert plus foncé et le bleu de la phycocyanine apparaît (*Fox, 1999*).

#### **C. Le pH**

La spiruline vit en milieu alcalin avec un pH de 8,3 à 11. Cette algue supporte des changements de pH progressifs mais non abrupts. Naturellement, les microalgues ont tendance à alcaliniser le milieu. En effet le CO<sub>2</sub> dissous dans l'eau, une fois mobilisé par les microalgues, libère des ions carbonates (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) qui en s'hydrolysant vont libérer des ions OH<sup>-</sup> (*Hoarau, 2009*).

#### **D. Facteurs concernant les bassins de culture**

##### **D.1. La localisation**

Le lieu d'implantation des bassins ne doit pas se faire au hasard. En effet, il faut respecter quelques règles a priori pas toujours évidentes : ne pas construire les bassins sous des arbres (besoin d'ensoleillement), ni en un lieu inondable, ni après d'une route ou d'une industrie (pollution) (*Fox, 1999*). Il est également préférable d'avoir une source d'eau à proximité des bassins (*Darcas, 2000*).

##### **D.2. Mode de construction des bassins de culture**

## 1. Bassins en dur

Le fond d'un bassin en ciment doit être construit sous forme d'une dalle en béton armé de 10 cm d'épaisseur minimum, de très bonne qualité, sur terrain bien compacté. Les bords du bassin peuvent être en briques, ou en parpaings. Éviter les angles vifs. Soigner l'enduit d'étanchéité (un adjuvant imperméabilisant ou une peinture époxy sont pratiquement indispensables, ou sinon peindre l'enduit ciment à la chaux – dans ce cas laisser en place la chaux avant mise en eau). Il est bon d'attendre quelques jours, bassin plein d'eau, avant d'ensemencer en spirulines (sinon l'alcalinité de la chaux ou du ciment frais peut jaunir très rapidement les spirulines) (*Jourdan, 2006*).

## 2. Bassins en bâches plastique

Le sol nivelé est recouvert avec un film plastique et les montants sont constitués par un cadre en bois supportant une bâche plastique de forte épaisseur. Une épaisseur de film de 0,25 mm à 0,5 mm, est recommandée. Le film (PVC, polyéthylène...), de qualité alimentaire et résistant aux ultraviolets (*Jourdan, 2006*)

## 3. Bassins en argile

Il s'agit d'une excavation ceinturée par un muret en terre compactée rendue étanche par de la glaise, par des briques cuites ou par un film plastique. La spiruline pousse très bien dans ces bassins mais sa pureté bactériologique doit être surveillée de plus près (*Jourdan, 2006*).

## 7.2. Conduite de la culture de la spiruline

### 7.2.1. Préparation de milieu de culture

Les spirulines vivent dans une eau à la fois salée et alcaline. L'eau utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable (mais ne sentant pas fortement le chlore) ou au moins filtrée (sur bougie filtrante ou sable), le plus important étant l'élimination des algues étrangères. L'eau de pluie, de source ou de forage est en général de qualité convenable. Si l'eau est dure, il se produira des boues minérales (selon la teneur en calcium, magnésium et fer), qui décantent rapidement et ne sont pas particulièrement gênantes pour la culture (*Jourdan, 2006*).

Le milieu proposé par *C. Zarrouk* (ANNEXE 2) est un milieu standard très souvent cité comme référence.

## Ensemencement de la souche de la spiruline

Les experts en culture de spiruline recommandent aux futurs exploitants de choisir une semence monoclonale, exclusivement spiralée, de grande taille, filtrant facilement et de couleur bleu-vert. À partir d'1 g de semence, un taux de croissance de 20% par jour permet

d'obtenir 20 m<sup>2</sup> d'un bassin de 15 cm de profondeur, la récolte étant possible dès le quarantième jour (*Darcas, 2000*).

### 7.2.2. Entretien des bassins et surveillance des cultures

Le nettoyage des bassins doit se faire environ tous les 3 mois. La meilleure méthode consiste à transférer provisoirement, la majeure partie du contenu du bassin dans un bassin voisin, puis de vidanger les boues, et brosser les bords et le fond, en rinçant. L'idéal pour maintenir un milieu clair est de brosser une fois par jour le fond et les côtés du bassin, agiter pendant la nuit, et garder un pH inférieur à 10,5. Si cela ne suffit pas, il faut purger le milieu (*Jourdan, 2006*)

Au cours de la culture, plusieurs paramètres sont à contrôler régulièrement, la température idéale est à 35-37°C ; le pH de 9,5 à 10,5 ; le niveau d'eau initial doit être maintenu. Il faut aussi estimer la quantité d'exopolysaccharide sulfaté (EPS) formée. Il est important aussi d'évaluer régulièrement la densité des bassins en spiruline, afin d'éviter les phénomènes de limitation de croissance. Ceux-ci apparaissent suite au manque de lumière, dans le cadre de cultures trop denses. C'est le disque de Secchi qui permet de savoir s'il est temps de récolter (*Jourdan, 2006*)

### 7.2.3. La récolte

Une fois la culture prête pour la récolte, on doit pouvoir prélever au moins 25% de la culture par jour. D'autre part, l'expérience prouve qu'il est préférable de pratiquer la récolte le matin de bonne heure, car la teneur de la spiruline en protéines y est généralement plus élevée que le soir (*Fox, 1999*).

### 7.2.4. La filtration

Afin de récolter une spiruline aussi pure que possible, il est conseillé de la faire passer à travers une toile de 150µm avant celle de 30 ou 60µm de manière à recueillir les débris sur la première et la spiruline sur la deuxième toile et à laisser passer le filtrat, la pâte verte de spiruline qui s'est accumulée sur le filtre peut être récupérée, en cas de production à grande échelle, un tapis vibrant peut être mis après avoir éliminé les débris (*Fox, 1999*.)

### 7.2.5. Lavage et essorage

Lorsque la culture est sale, malodorante ou trop salée, J.P Jourdan conseille de laver la biomasse avec de l'eau douce potable avant le pressage et le séchage (*Jourdan, 2006*). De son côté, Falquet pense que le lavage de la spiruline après la récolte et avant le pressage est à éviter.

L'essorage est réalisé par pression. Dès l'apparition du liquide vert passant à travers la toile de pressage, il est conseillé de stopper cette opération. Dans tous les cas le temps de pressage ne doit pas excéder 30 à 35 minutes, afin de réduire le risque de fermentation. La biomasse ainsi pressée contient environ 20% de matière sèche (*Jourdan, 2006*).

### 7.2.6. Séchage

Le séchage est le seul moyen sûr de conserver et de distribuer la spiruline sans chaîne de froid. Lorsque la spiruline pressée ne peut être séchée de suite, il faut la conserver dans un récipient fermé, au réfrigérateur bien froid et pas trop longtemps. La spiruline est séchée au soleil, ou mieux, dans un courant d'air à faible humidité relative et forte capacité d'absorption d'eau (séchoir solaire indirect, ou électrique,...), jusqu'à ce qu'elle ne soit plus molle du tout. Elle se détache alors facilement du support plastique et se broie aisément. La plupart des cultivateurs commerciaux de spiruline, utilisent le séchage par atomisation. En outre, le séchage au tambour est pratiqué. La lyophilisation demeure la meilleure méthode de séchage (*Fox, 1999*).

### 7.2.7. Conditionnement et conservation

La spiruline sèche peut se conserver longtemps sans perdre trop de ses qualités à condition d'être stockée en sachets bien remplis et étanches, à l'abri de la lumière, de l'air (emballage plastique métallisé et thermoscellé pour éviter la pénétration de l'oxygène), et des fortes chaleurs. Il est préférable de faire le vide dans le récipient tout en le thermoscellant (des appareils commerciaux existent pour cela): dans ce cas le produit peut se conserver 5 ans. Si l'on ne peut pas sceller sous vide, l'absorption de l'oxygène restant dans le sachet convenablement scellé provoquera souvent (mais pas toujours) sa mise sous vide spontanée en quelques jours si le récipient est bien scellé; cette absorption d'oxygène s'accompagne de la destruction d'une fraction des composants oxydables de la spiruline, comme le bêta-carotène, mais cette fraction "sacrifiée" reste faible s'il y avait peu d'air résiduel. Si le produit doit être utilisé rapidement (moins de 3 mois), l'emballage en sachets plastique non métallisé est possible (*Jourdan, 2006*).

## **Chapitre III**

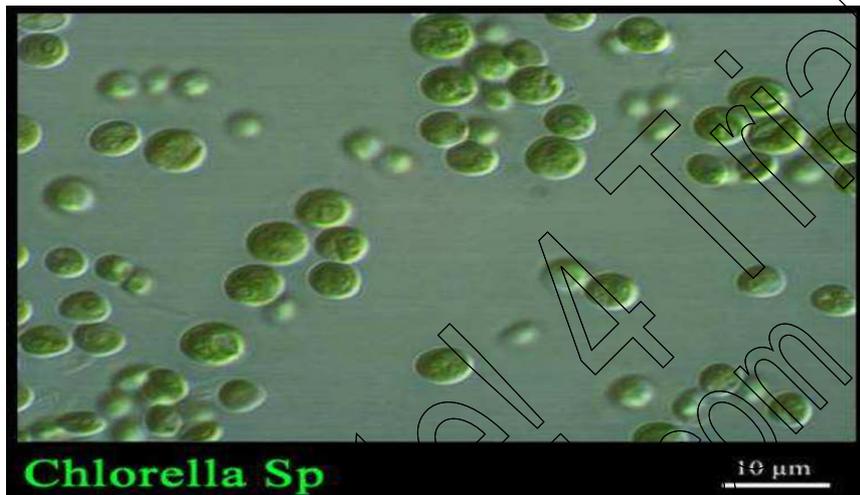
### **La chlorelle**

PDF Creator! 4 Trial  
www.nuance.com

## Chapitre III : La chlorelle

### 1. Définition

La Chlorelle appartient à la lignée des Chlorophytes. Le genre *Chlorella* se retrouve dans tous les habitats aquatiques, marins ou d'eau douce. La chlorelle est une algue verte unicellulaire eucaryote d'eau douce (**Figure N°03**). Elle est de forme ronde ou ellipsoïde, d'un diamètre moyen de 5  $\mu\text{m}$  (*Van Den Hoek et al., 1995*).



**Figure N°03 :** Cellules de Chlorelles observées au microscope optique (*Allard, 2000*)

### 2. Historique

La chlorelle est une algue d'eau douce originaire d'Asie qui tient son nom de sa teneur naturelle en chlorophylle.

Sa culture est très ancienne; Beijerinck l'a réalisée pour la première fois de façon axénique en 1891 (*Soeder et Grimme, 1970*). Sa culture intensive a été lancée en Allemagne dès la seconde guerre mondiale pour tenter de combler un manque de protéines (*Von Witsch, 1970*). Parallèlement à ces travaux, d'autres tentatives de culture en masse débutèrent dans le monde, notamment aux Etats-Unis et au Japon, avec un fertilisant de nature minérale. L'emploi de la chlorelle pour traiter les effluents agricoles et domestiques remonte à 1969, à la suite des travaux d'Oswald et al. (*Goldman, 1979*). Cette utilisation s'est développée car, outre la mobilisation des polluants, elle permettait d'obtenir d'importantes productions à faible coût. De nombreux travaux ont été réalisés sur les cultures de chlorelles, notamment en Belgique (*Pauw et al., 1980*).

Leur culture en station orbitale a été envisagée par la NASA (*Soeder et Pabst, 1970*), ainsi que dans les sous-marins à propulsion nucléaire (*Fox, 1986*) dans un double objectif alimentaire et de régénération de l'air ambiant.

### 3. Taxonomie

Aujourd'hui les botanistes considèrent que trois espèces constituent le groupe *Chlorella* : *C. vulgaris*, *C. lobophora* et *C. sorokiniana* (Krienitz et al., 2004).

Les organismes appelés chlorellacées appartiennent aux chlorophytes (algues vertes) au groupe des trébouxiophycées. Les chlorellacées quant à elles se divisent en deux groupes apparentés, le groupe des parachlorelles et le groupe des chlorelles, dont fait partie *Chlorella vulgaris* (Krienitz et al., 2004). Ce sont en l'occurrence des algues vertes cocciques qui présentent de petites cellules vertes sphériques, raison pour laquelle les chlorelles sont souvent qualifiées également de "boules vertes". Or les algues les plus diverses dans différents groupes ont cet aspect, ce que l'on désigne par morphologie convergente (comparable à la morphologie convergente de beaucoup d'euphorbiacées succulentes et de cactées).

### 4. Morphologie et caractères généraux

Chlorelle est une algue eucaryote unicellulaire de forme ronde. Elle possède un chloroplaste pariétal contenant de la chlorophylle a et b ainsi que des caroténoïdes comme pigments accessoires, un pyrénoloïde, des thylakoïdes, des grains d'amidons et du matériel génétique (Figure N°04). L'amidon est la réserve majeure de glucides de la cellule. D'autres organites sont également présents dans la cellule : un noyau, des mitochondries, de petites vacuoles, des gouttelettes lipidiques, des ribosomes (Van Den Hoek et al., 1995). La membrane cellulaire externe est composée de trois membranes contenant de la glucosamine (Takeda, 1993 ; Allard et al., 2000)

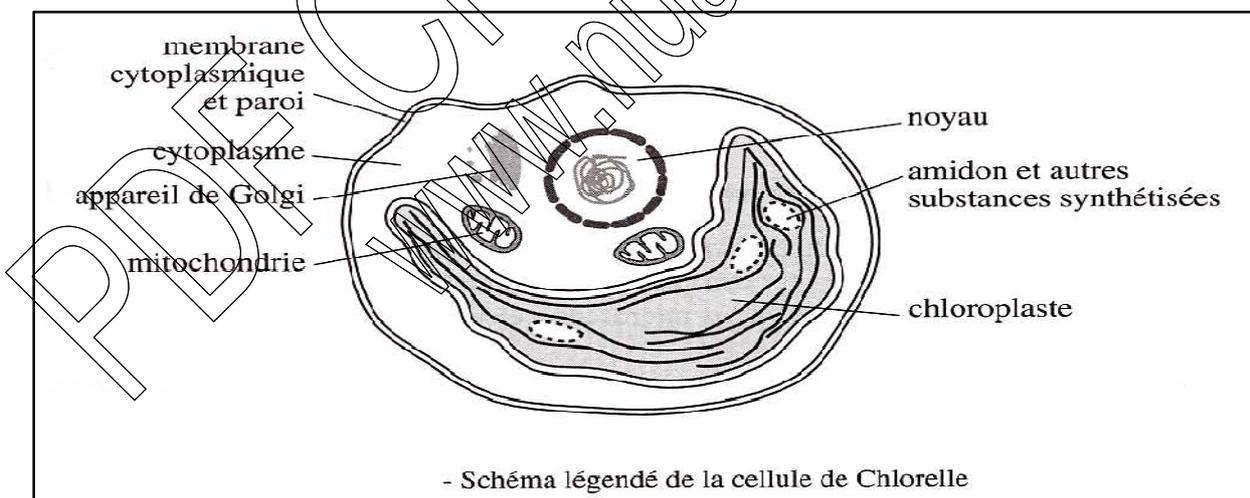


Figure N°04 : La structure d'une cellule de chlorelle d'après *Triemer et Brown*

### 5. Reproduction de la chlorelle

Avec un diamètre cellulaire d'environ 5  $\mu\text{m}$ , cette microalgue sphérique en dimensions est comparable aux globules rouges. Ce qui frappe particulièrement chez la chlorelle c'est sa grande vitesse de reproduction. Une cellule mère se divise en 4 cellules filles en 16 à 20

heures, ces cellules filles se divisant à leur tour dans les 16 à 20 heures suivantes de la même façon. Cela signifie que la *Chlorella vulgaris* possède l'un des plus grands potentiels pour la production de biomasse par unité de surface et de temps de toutes les plantes connues (Fott et al., 1969).

## 6. composition chimique de la chlorelle

La chlorelle contient de grandes quantités de chlorophylles, d'acides aminés, d'acides nucléiques, d'enzymes, de lipides, de vitamines, de fibres et de minéraux. Avec jusqu'à 4% de chlorophylle dans la masse sèche, la chlorelle a la teneur en chlorophylle la plus élevée de tous les nutriments connus. La gamme d'acides aminés (environ 40 à 50% de masse sèche) couvre les 20 acides aminés protéinogènes et inclut les 8 acides aminés essentiels à l'être humain. Les lipides synthétisés par la chlorelle (10 à 15% de masse sèche) se composent de plus de 80% d'acide alpha-linolénique, jusqu'à plus de 30%. Parmi les vitamines, la grande quantité de vitamines du groupe B, mérite tout particulièrement d'être mentionnées. De plus, des vitamines avec des propriétés anti-oxydantes telles que la vitamine A et la bêta-carotène (Noüe et al., 1990) (Tableau N°10).

Des modifications de la composition chimique apparaissent néanmoins en fonction du milieu, du mode de culture, ou du moyen de conservation.

**Tableau N°10** : Composition de la chlorelle (d'après Lubitz, 1961; Soeder et Pabst, 1970; de la Noüe et Proulx, 1986; Fox, 1986).

<b>Chlorella sp.</b>	
<b>Composition en % du poids sec:</b>	
Protéines brutes	55,5
Eau	7
Lipides	7,5
Glucides	17,8
Fibres brutes	3,1
Cendres	8,25
<b>Acides aminés (en g/16 g N):</b>	
Valine	5,1
Leucine	4
Isoleucine	3,4
Thréonine	3,2
Méthionine	1,8
Phénylalanine	4,5
Tryptophane	1,4
Lysine	7,8
<b>Vitamines et autres (en mg/100 g MS):</b>	
Acide ascorbique (C)	1,5
βcarotène	50,2
Acide panthoténique	1,12
Pyridoxine (B6)	0,3
Thiamine (B1)	0,77

## 7. Mode de nutrition de la chlorelle

L'autotrophie c'est le mode de nutrition par lequel les chlorelles élaborent, grâce à la photosynthèse, leur propre substance à partir des éléments minéraux dissous dans l'eau et du CO<sub>2</sub>.

Parmi les formes minérales de l'azote (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), c'est l'ammoniac qui est utilisé préférentiellement par de nombreuses algues (*Capblancq, 1982*), le nitrate et le nitrite devant être réduits avant leur assimilation.

## 8. Intérêt nutritionnel et thérapeutique de la chlorelle

### 8.1. La lutte contre la constipation

Grâce à sa teneur en fibres non assimilables, la chlorelle facilite le transit en accélérant le mouvement intestinal. En seulement 7 à 10 jours la chlorelle peut améliorer significativement le transit.

### 8.2. La chlorelle maintient le système digestif en bonne santé

La chlorelle est capable de multiplier le nombre des bonnes bactéries lactique (*Janczyk et al., 2009*). Ces bonnes bactéries augmentent la digestion et l'absorption des nutriments dans le flux sanguin et combattent la production dans le tractus intestinal de pathogènes tels que *Candida albicans*. La chlorelle possède donc un potentiel probiotique (*Kay, 2009*) : en stimulant la croissance des bonnes bactéries.

### 8.3. La chlorelle rééquilibre le pH acido-basique

Le déséquilibre acido-basique peut également entraîner des désordres digestifs et favoriser le développement de troubles associés tels que les douleurs articulaires, l'ostéoporose ou encore l'anxiété. Il est donc essentiel de maintenir le pH de l'organisme à sa valeur physiologique. La chlorella est source de minéraux et chlorophylle, qui vont aider l'organisme à neutraliser en douceur l'excès d'acidité. La chlorophylle est un pigment vert qui renferme du magnésium et présente une structure similaire à celle des globules rouges transporteur d'oxygène. Le magnésium étant fortement alcalin, on peut supposer que c'est ce dernier qui serait responsable du caractère basique de la chlorophylle.

### 8.4. La Chlorelle, antioxydant et anti-âge

La chlorelle diminue la production d'espèces réactives et augmente les processus antioxydants (.La consommation de chlorelle augmente l'activité des enzymes antioxydantes SOD et catalase dans les globules rouges (*Lee, 2009*).

La chlorella pourrait également protéger la peau des dommages causés par les UV en inhibant la production de substances nocives induites par ces derniers (*Lee, 2009*).

## 8.5. La Chlorelle régule les taux lipidiques et les taux de sucres

La chlorelle pourrait prévenir les hyperlipidémies et l'athérosclérose. Elle aurait, en effet, la capacité de réduire l'excès de graisses et de diminuer l'hypertension, deux facteurs pouvant entraîner l'artériosclérose (durcissement et épaississement des parois des artères, facteur de risque cardiovasculaire) (*Cherng et Shih, 2006*).

L'activation du signal insuline par la chlorelle (*Mizoguchi et al., 2008*) ainsi que sa capacité à augmenter le catabolisme du cholestérol à travers une régulation hépatique (*Shibata et al., 2007*)

En effet, en 2006, les chercheurs ont montré que la chlorelle réduisait le taux de glucose sanguin en augmentant sa recapture par le foie (*Cherng et Shih, 2006*). Et en 2009, Lee a démontré que la chlorelle était efficace pour réguler le taux de glucose sanguin et qu'elle pourrait ainsi prévenir la résistance à l'insuline (*Lee et Kim, 2010*).

## 8.6. Détoxification

La chlorelle possède une paroi cellulaire à trois couches, principalement composée de cellulose et chitine cette paroi possède de grandes propriétés adsorbantes vis-à-vis des xénobiotiques, par exemple les toxines organiques comme la dioxine ou les métaux lourds comme le mercure, le cadmium ou le plomb. Cela signifie que la chlorelle a la capacité de fixer les métaux lourds, les pesticides et les toxines et d'en débarrasser le corps en les éliminant naturellement (*Chong et al., 2000*).

## 8.7. Prévention de maladies liées à des carences

En raison des propriétés nutritionnelles uniques de la chlorelle, une consommation exclusive de cette microalgue ne peut entraîner de carence.

Un rôle protecteur ou chimio protecteur important dans l'inhibition de la carcinogénèse par une prise continue et régulière de ce type de micronutriments est également acceptée (*Marchant et al., 1990*)

## 8.8. Interaction de Chlorelle avec le système immunitaire

La chlorelle présente de nombreuses propriétés immunologiques (*Pugh et al., 2001*) et anti-cancéreuses (*Justo et al., 2000*).

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

# **Chapitre I**

## **Matériel et méthodes**

### Présentation de l'entreprise

Créée en 1983, Trèfle s'est lancée dans la production du yaourt brassé avec une capacité de 3500 pots /heures.

En 1990, acquisition d'une nouvelle conditionneuse de capacité 6500 pots /heure, en utilisant le même process. Puis, la même année, acquisition d'une chaîne de fromagerie (pâte molle et pâte pressée),

Après une période de stagnation due à la situation économique et sociale en Algérie, Trèfle a acquis en Avril 1998 sa première ligne de conditionnement en yaourt étuvé, de capacité de production 12500 pots /heures. Au mois de Septembre à la même année, acquisition d'une deuxième ligne de conditionnement en crème dessert et yaourt aux fruits.

En 2000, acquisition d'une troisième ligne de conditionnement en yaourt étuvé, de capacité 12500 pots/heure. C'est en 2001 qu'il y a lancement du nouveau complexe, avec transfert des équipements initiaux et acquisition d'une quatrième ligne de production en yaourt étuvé, de capacité 40.000 pots /heure, le tout alimenté par un atelier moderne de process APV, entièrement automatisé, portant la capacité totale de production à 77.500 pots /heure.

En 2002, renforcement de l'unité par deux nouvelles lignes de conditionnement, pour la production yaourt brassé et fromage frais ainsi qu'une ligne SIDEL.

Pour les produits frais et UHT en bouteilles avec une capacité de 120.000 bouteilles /heure.

Puis en Décembre 2003, acquisition d'une septième ligne de conditionnement de capacité 40.000 pots/heure en yaourt étuvé et crème dessert.

L'entreprise Trèfle n'a cessé de se développer pour répondre à la demande, en lançant en Septembre 2004, l'acquisition d'une nouvelle unité de conditionnement en bouteilles PET, de produits frais, de capacité 22.000 bouteilles/heure.

Ainsi, Trèfle est une entreprise en pleine expansion travaillant avec un système de management de la capacité ISO 9001-2001 et a connu un développement fulgurant notamment depuis la création de l'actuel complexe. Ce développement est venu répondre à la demande exprimée par le marché en produits laitiers, demande qui résulte de la tendance observée chez le consommateur algérien, à introduire le produit laitier comme dessert, quelque fois en substitution aux fruits. Il faut signaler, en outre que ce développement n'a été rendu possible que grâce à la politique adoptée par le pays en matière d'encouragement de l'investissement.

#### **Situation géographique :**

L'unité du Trèfle est située à la zone industrielle, cité 1 Ben Boulaïde\_ Blida.

#### **Objectif du travail**

L'objectif de notre travail consiste à étudier la qualité physicochimique, microbiologique et organoleptique d'un yaourt brassé enrichi avec la spiruline ou la chlorelle en culture seule ou en association. Le suivi de l'évolution des comptes des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) au cours du stockage (3 semaines) ainsi que la détermination de quelques paramètres physicochimiques qui ont une relation avec le développement de la flore bactérienne.

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

## I. Matériel et méthodes

### 1. Matériel

### a. Verreries

- Boite de Pétri
- Tubes à essais en verre de 25mL
- Pipettes Pasteur
- Pipettes graduées 1mL, 10mL
- Burettes graduées
- Eprouvettes graduées (500mL, 1000mL)
- Bêchers
- Flacons en verre de 250mL et 500mL
- Capsules métalliques ou en porcelaine

### b. appareillages

- Pince stériles
- Bec bunzen
- Etuve d'incubations
- Réfrigérateurs pour stocker les milieux de cultures et les échantillons
- Four Pasteur
- Bain Marie
- Thermomètre approprié
- Centrifugeuse
- Butyromètre
- pH mètre
- Acidimètre
- Dessiccateur
- Densitomètre

### d. milieux de cultures

- Gélose P.C .A
- Gélose viande foie (VF)
- Milieu MRS
- Milieu M17
- Milieu GeollitiGantonie
- Eaux physiologique à 9%

## 1.1. Échantillonnage

L'échantillonnage consiste à prélever correctement les échantillons les plus représentatifs d'un lot du produit.

Les échantillons destinés aux analyses microbiologiques doivent être prélevés en premier ; dans des conditions d'asepsie satisfaisante, avec des matériels et des récipients propres et stérilisés avant l'utilisation (*Bourgeois et Leveau, 1991*).

### 1.1.1. Eau de process

La première étape du prélèvement de l'eau de process consiste évidemment à nettoyer le robinet, le désinfecter de préférence à la flamme, et laisser couler une certaine quantité de liquide avant de faire le prélèvement, ce dernier s'effectue en soutirant une quantité suffisante de liquide dans un flacon stérile (*Bourgeois et Leveau, 1991*).

### 1.1.2. Poudre de lait

La poudre de lait est conditionnée dans des sacs en polyéthylène de 25kg doubles ou triples de sacs en papiers Kraft fermés hermétiquement. Les prélèvements ont été réalisés au hasard à partir des sacs. À l'aide d'un ciseau bien nettoyé à l'alcool, on ouvre le sac, puis on écarte à chaque fois la couche superficielle de poudre au moyen d'une spatule flambée et à l'aide d'une cuillère stérile à long manche, on prélève presque un gramme et on les recueille dans un flacon stérile à large ouverture, et puis on ferme le flacon à l'aide d'un papier aluminium pour éviter le risque de contamination.

L'analyse microbiologique s'effectue juste après le prélèvement des échantillons, tandis que l'examen physico-chimique se fait après quelques heures, et pour cela on doit protéger le contenu du flacon contre la lumière avec du papier aluminium.

### 1.1.3. Sucre, la spiruline (ou chlorelle)

L'échantillonnage de sucre, de spiruline et de chlorelle doit être effectué avec la même méthode que celle utilisée dans le cas de la poudre de lait.

### 1.1.4. Le produit fini

Les prélèvements du produit fini se font au hasard directement à la sortie des pots de yaourts de la chaîne de fabrication, et avant d'être acheminés vers la chambre froide. La quantité prélevée est de 10 pots appartenant au même lot.

## 2. Méthodes d'analyse

Les analyses physico-chimiques effectuées sur les différents échantillons prélevés (poudre de lait, eau de process, sucre et yaourt) ont été effectuées selon le guide des techniques d'analyse

physico-chimiques des produits laitiers de la laiterie de trèfle et selon les méthodes officielles normalisées par la norme française **AFNOR (1986)** afin de détecter les différentes anomalies qui peuvent être présentes dans le produit fini.

Les analyses physico-chimiques effectuées sur la matière première et produit fini sont réalisées au niveau de laboratoire de l'unité de trèfle et sont regroupés dans le **tableau N° 11**

**Tableau N°11 :** Les analyses physico-chimiques effectuées sur la matière première et le produit fini.

Matière première	Poudre de lait	Eau de presse	La spiruline
Analyses physico-chimique	Acidité titrable	TH	Taux d'humidité
	Extrait sec total	TA	Extrait sec total
	Taux de matière grasse	TAC	PH
	Taux d'humidité	Cl <sup>-</sup>	
		Cl <sub>2</sub>	
		PH	

## 2.1. Analyse physico-chimique

### 2.1.1. Eau de process

#### 1. Détermination de pH

- **Définition**

C'est le potentiel chimique des ions dans une solution. Il est mesuré à l'aide d'un PH mètre qui est équipé d'une sonde de température et une sonde de PH ; et il doit être toujours étalonné chaque matin avant toute utilisation.

- **Mode opération**

On fait prolonger les deux sondes du PH mètre dans notre produit, et lire directement la valeur indiquée par l'appareil du PH-mètre.

#### 2. Détermination de l'alcalinité (TA, TAC) de l'eau de process :

- **Définition**

Le titre alcalin ou TA mesure la teneur de l'eau en ions hydroxydes et la demi-concentration en ions carbonate.

$$TA = [\text{OH}^-] + 1/2 [\text{CO}_3^{2-}]$$

Le titre alcalimétrique compte ou TAC correspond à la teneur de l'eau en alcalis libres la demi-concentration en ions carbonates et le bicarbonate (**Hakmi, 1994**)

$$\text{TAC} = [\text{OH}] + 1/2[\text{CO}_3] + [\text{HCO}_3]$$

### ▪ Principe

La détermination de ces deux paramètres (TA, TAC) est basée sur la neutralisation d'un certain volume de l'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un indicateur coloré.

### • Détermination du titre alcalimétrique TA

Dans un bécher, prélever 100ml de l'eau à analyser puis ajouter 2 gouttes de phénolphthaléine (indicateur coloré), on observe une coloration rose qui doit se développer, si il ya pas de coloration la valeur de TA=0 en suite a l'aide d'une burette verser doucement l'acide sulfurique (cas de coloration rose), en agitant constamment jusqu'à la décoloration complète de la solution.

### ▪ Expression de résultats

V est le volume de l'acide sulfurique nécessaire pour la décoloration de la solution qui est exprimé en degré français (F°) ou V/5 exprime le titre alcalimétrique en milliéquivalent gramme par litre.

$$\text{TA} = V$$

TA : le titre alcalimétrique exprime en degré français (F°)

### • Détermination du titre alcalimétrique compte TAC

Dans un bécher, prélever 100ml de l'eau à analyser puis ajouter 2 gouttes de méthyle orange, en suite titrer avec l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) à 0,002 N jusqu'au virage du jaune orangé (PH=4,3)

$$\text{TAC} = V_1$$

TAC : titre alcalimétrique compte en F°

$V_1$  : volume de l'acide sulfurique en ml versé depuis le début du dosage.

### ▪ Expression des résultats

Par la lecture directe sur la burette du volume de l'acide sulfurique utilisé pour titrage.

### 3. Détermination de titre hydrométrique (TH)

#### ▪ Définition

Le titre hydrométrique (TH) indique la teneur totale de l'eau en sel calcium et magnésium, la dureté d'une eau est proportionnelle au nombre total d'atome de calcium et de magnésium qu'elle renferme (Lauze, 2002).

$$TH = [Ca^{2+}] + [Mg^{2+}]$$

#### ▪ Principe

C'est le dosage d'un échantillon d'eau avec l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) à la présence d'un indicateur coloré (noir ériochrome) dans un milieu tampon.

#### ▪ Mode opératoire

On prélève 100ml d'eau à analyser et on les transfère dans un erlenmeyer de 250 ml, puis on ajoute 10ml de solution tampon ammoniacal (PH=10), en suite, on additionne 2gouttes de noir ériochrome, si on remarque le virage vers le bleu TH=0.

Si la coloration vire vers le violet, on titre avec la solution EDTA (0,02N) jusqu'à la coloration bleu.

#### ▪ Expression des résultats

Le volume de l'EDTA correspond au titre hydrométrique (TH) exprime en degré français F°

$$TH (F^{\circ}) = V$$

V : volume de l'EDTA

### 4. Dosage de chlorure

#### ▪ Principe

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrates d'argent en présence de chromate de potassium. La fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge ; caractéristique du chromate d'argent.

### ▪ **Mode opératoire**

- Dans un bécher, prélever 100mL d'eau
- Ajouter 4 à 5 gouttes de chromate de potassium ( $K_2CrO_4$ ) : coloration jaune.
- Titrer la solution avec nitrate d'argent à (0,1N)
- Jusqu'au virage du jaune au rouge brique.

### ▪ **Expression des résultats**

La concentration en ions chlorés est donnée par les formules suivantes :

$$Cl^-(ml/L) = (V - 0,9) \times 35,5$$

**V** : volume de  $AgNO_3$  (0,1N) qui servi au titrage

**0,9** : volume d' $AgNO_3$  (0,1N) nécessaire pour l'obtention de la même teinte rouge dans un essai à blanc avec 100 mL d'eau distillée.

**35,5** : masse moléculaire du chlore

## **5. Dosage de chlore libre ( $Cl_2$ ) (méthode par comparateur palinteste)**

### ▪ **Principe**

La comparateur palintest fonctionne avec des disques colorés interchangeable, il sert à comparer la couleur obtenue dans le teste avec des cellules (couleurs) du disque coloré.

### ▪ **Mode opératoire**

- Remplir l'échantillon dans un tube de 10mL et ajouter après la pastille DPD.
- Placer le tube traité sur le côté droit de compartiment au dos du comparateur.
- Placer un deuxième tube ne contenant que l'échantillon à analyser sur le côté gauche afin de tenir compte de la couleur éventuelle de l'échantillon.
- Positionner face à une source à lumière blanche, et faire tourner le disque jusqu'au l'obtention de deux couleurs identiques.

### ▪ **Expression des résultats**

Les résultats apparaissent directement dans le trou sur le devant du boitier.

## 2.1 .2. La poudre de lait, le sucre, la spiruline(ou la chlorelle) et produit fini

### 1 .Détermination de pH

La mesure de PH se fait de la même manière que celle de l'eau.

### 2. Détermination de l'acidité titrable (la poudre de lait, produit fini)

#### ▪Définition

L'acidité titrable correspond à la teneur en acide lactique du lait. Elle est conventionnellement exprimée en gramme d'acide lactique (AFNOR, 1986)

#### ▪Principe

Il consiste à titrer l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur limitant la neutralisation par changement de couleur.

#### ▪Mode opératoire

A l'aide d'une pipette de 10mL on prélève 10mL d'échantillon à analyser (dans le cas de la poudre de lait, on dilue 2g de poudre dans 20ml d'eau distillée)

On ajoute deux gouttes de phénolphtaléine.

Puis on titre avec la sonde (N/9) jusqu'au virage au rose qui persiste environ 10 secondes.

#### ▪Expression des résultats

L'acidité (A) est exprimée en degré Dornic et est donnée par la relation suivante:

$$A=10.V$$

Et en cas de la poudre de lait

$$A=V/2$$

A : acidité titrable en D°

V : volume en Ml de la solution sodique utilisé pour le titrage

10ML : la prise d'essai

### 3. Détermination d'extrait sec total (poudre de lait, produit fini)

#### ▪ Définition

La teneur en matière sèche est la masse restante après dessiccation complète de la matière. Elle est conventionnellement en pourcentage massique.

#### ▪ Principe

Il repose sur la dessiccation par évaporation de l'eau que contient l'échantillon à analyser sous l'effet d'une source de chaleur qui est la lumière de l'infrarouge.

#### ▪ Mode opératoire

L'extrait sec total est mesuré par une méthode rapide et répondant aux exigences de l'unité par la remise des résultats en espace de quelques minutes, elle répond au mode opératoire suivant :

- Peser 2g du produit à analyser dans une coupelle en aluminium.

Après on l'étale à l'aide d'une spatule sur toute la surface de la coupelle sans toucher les bords.

- Mettre le tout dans un dessiccateur électronique afin d'absorber l'humidité et attendre 10mn.

#### ▪ Expression des résultats

Après 10mn, le résultat s'affiche directement sur l'écran de l'appareil en pourcentage massique de matière sèche par rapport au totale.

### 4. Détermination du taux d'humidité (poudre de lait, sucre, spiruline)

#### ▪ Expression des résultats

Elle se fait suite au calcul de l'EST dans un dessiccateur, suivant le mode opératoire précédemment décrit et elle est exprimée en pourcentage de masse et donnée par la formule suivante :

$$H\% = 100\% - EST$$

**H%** : teneur en eau en pourcentage

**EST** : extrait sec total

### 5. Détermination de la matière grasse (AFNOR, 1986)

#### ▪ Principe

La détermination du taux de la matière grasse se fait selon la méthode de Gerber basée sur l'utilisation de l'acide sulfurique pour la dissolution des protéines et l'addition d'alcool iso-amylque pour la séparation de la matière grasse.

#### ▪ Mode opératoire

- Introduire 10mL d'acide sulfurique dans le butyromètre à l'aide d'un doseur, sans mouiller le col avec l'acide
- Peser 10g de produit à analyser à l'aide d'une balance analytique, puis ajouter 10mL de l'eau distillée et mélanger bien
- Verser doucement à la surface 1mL d'alcool iso-amylque.
- Boucher avec soin, puis secouer d'abord horizontalement le butyromètre initialement maintenu dans une position verticale.
- Secouer le butyromètre à plusieurs reprises afin de prendre le liquide homogène.
- Maintenir le butyromètre (lorsque le produit dissout) de façon que le bouchon vers le haut et attendre que le mélange est entièrement rempli l'ampoule terminale.
- Mettre le butyromètre dans une centrifugeuse réglée à 1200/mn pendant 5mn à température de 55°C
- Retirer le butyromètre de la centrifugeuse et ajuster le bouchon si nécessaire pour ramener la colonne de la matière grasse dans la partie graduée.

#### ▪ Expression des résultats

La teneur en matière grasse du produit exprimé en pourcentage massique est déterminée par l'expression suivante :

$$MG=n_1-n_2$$

**MG** : matière grasse en %

**n<sub>1</sub>** : valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse en %.

**n<sub>2</sub>** : valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse en %.

## 2.2. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques visent la recherche et le dénombrement de la microflore à incidence sanitaire et technologique, c'est-à-dire les germes responsables des accidents de fabrication et/ou ceux impliqués dans des altérations de la qualité organoleptique et marchande du produit.

Il permettant également de s'assurer que les laits fermentés seront stables pendant toute la durée de stockage pour cela on a réalisé les analyses résumés dans le **tableau N°12**

**Tableau N°12** : Les germes recherchés dans la poudre de lait, le sucre, le produit fini et l'eau de process.

Produit	Germes recherchés	Milieu de culture	incubation
---------	-------------------	-------------------	------------

		utilisé	
• Poudre de lait	Germe aérobies mésophiles totaux	PCA	30°C/ 72h
	Coliformes totaux	VRBL	37°C /24h à 48h
• Sucre	Coliformes fécaux	VRBL-Eau Peptonékovacs	44°C/24h à 48h
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Giolitti Chapman Cantonii	37°C/24h à 48h
1. Produit fini	<i>Clostridium sulfitoréducteur</i>	VF	37°C/24h à 48h
	Salmonelles	SFB (Enrichissement) Hektoène	37°C/24h à 48h
	Levure et moisissure	Sabouraud	20°C/5J
2. L'eau de presse	Germe aérobies mésophiles totaux	PCA	37°C/72h
	Coliformes totaux	BCPL	37°C/24h à 48h
	Coliformes fécaux	BCPL+ Schubert	44°C/24h à 48h
	<i>Clostridium sulfitoréducteur</i>	VF	37°C/24h à 48h
	Streptocoque fécaux	Rothe + milieu Eva-litsky	37°C/24h

### 2.2.1. Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales

On introduit aseptiquement 25g du produit (poudre de lait + eau de process, sucre, yaourt, spiruline, chlorelle) à analyser dans un flacon stérile contenant au préalable 225ml de diluant (eau physiologique), puis on homogénéise. Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond aussi à la dilution 1/10 ou  $10^{-1}$ .

On introduit ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1mL de la DM dans un tube stérile contenant au préalable 9mL d'eau physiologique, cette dilution constitue la  $10^{-2}$  on procède de la même manière pour les autres dilutions (*Bourgeois, Levaux, 1980*).

### 2.2.2. Les analyses microbiologiques de l'eau de process

#### 1. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux et totaux

##### ▪ Principe

La recherche et le dénombrement des coliformes dans l'eau, se font en milieu liquide sur BCPL (bouillon lactosé au pourpre de promo crésol) de couleur violet par la technique NPP (nombre le plus probable)

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs.

##### ➤ Le test de présomption

Réservé à la recherche des coliformes totaux

##### ➤ Le test de confirmation

Appelé encore test de Mac Kenzie et réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption

##### ▪ Mode opératoire

Selon *Guiraud (1998)* et *Rodier (1996)*, la technique de recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans l'eau est suivante :

##### ❖ Le teste de présomption

A partir de l'eau du process à analyser, porter aseptiquement

- Un flacon contenant 50ml de BCPL (D/C) + la cloche de Durham par 50mL d'échantillon à analyser.

- 5 tubes contenant chacun 9mL de BCPL (D/C) + la cloche de Durham par 1ml d'échantillon à analyser, homogénéiser et incuber les tubes dans une étuve à 37°C pendant 24 à 48h.

### ▪ Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10<sup>ème</sup> du volume de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation de lactose présent dans le milieu)

La lecture finale se fait selon les prescriptions de table du NPP.

### ❖ Le test de confirmation ou test de Mackenzie

Le test de confirmation ou test de Mackenzie est basé sur la recherche des coliformes thermo tolérant parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*

-Les coliformes thermotolérants ont les mêmes propriétés de fermentations que les coliformes mais à 44°C.

-*E-Coli* est un coliforme thermotolérant qui entre autre produit de l'indole à partir du tryptophane à 44°C.

- Les tubes de BCPL trouvés positif lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une once bouclée dans un tube contenant le milieu de Schubert muni d'une cloche de Durham homogénéiser et incuber les tubes dans une étuve à 44°C pendant 24 à 48h.

### ▪ Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois

- Un dégagement gazeux, et
- Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indol par *Escherichia coli*.

Après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de kovacs

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de NPP.

## 2. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles à 22°C et à 37°C

### ▪ Principe

La recherche et le dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux dans l'eau se réalisent à deux températures différentes afin de cibler à la fois les microorganismes à tendance psychrophiles soit à 20°C et ceux franchement mésophiles soit à 37°C (*Bantoux, 1993*).

### ▪ Mode opératoire

- ❖ A partir de l'eau du process à analyser, porte aseptiquement 2 fois 1mL dans deux boites de Pétri vides préparées à cet usage et numéroté.
- ❖ Compléter ensuite chacune des boites avec environ 20mL de gélose PCA (Plate Count Agar) préalablement fondue et refroidie.
- ❖ Faire ensuite de mouvements circulaires en forme de « 8 » et de va-et-vient pour permettre le mélange de l'inoculum à la gélose.
- ❖ Laisser solidifier sur paillasse.

### ▪ Incubation

- ❖ La première boite sera incubée, couvercle en bas à 22°C, pendant 72 heures.
- ❖ La seconde sera incubée, couvercle en bas à 37°C, pendant 72 heures.

### ▪ Lecture

Les germes aérobies mésophiles se présentent dans les deux cas sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse.

### ▪ Dénombrement

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies, en tenant compte de deux remarques suivantes :

- ❖ Ne dénombrer que les boites contenant entre 15 et 300 colonies.
- ❖ Le résultat sera exprimé en VFC par millilitre d'eau analysée à 22°C et à 37°C.

## 3. Recherche et dénombrement de *Clostridium* sulfitoréducteur

### ▪ Principe

Les anaérobies sulfitoréducteur (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram positif, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose viande foie en donnant des colonies typique réduisant le sulfite de sodium ( $\text{Na}_2 \text{SO}_2$ ) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de  $\text{Fe}^{2+}$  donne  $\text{FeS}$  (Sulfure de fer) de couleur noire.

### ▪ Mode opératoire

- A partir de l'eau du process à analyser prendre 25mL dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question sous l'eau de robinet.
- Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5ml par tube.
- Ajouter environ 18 à 20 mL de gélose VF, fondue puis refroidie à 45°C
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- Laisser solidifier sur le paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37°C, pendant 24 à 48 heures.

### ▪ Lecture

- La première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les colonies des ASR sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile voire impossible.

La deuxième lecture se fera à 24 heures et la dernière et la troisième et dernière à 48 heures.

- Dénombrer les colonies caractéristiques de couleur noire et 5 mm de diamètre.
- Le résultat est exprimé en nombre de spores/20mL d'eau à analyser.

## 4. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

### ▪ Principe

La technique de numérotation des streptocoques est basée sur la succession d'un milieu sélectif présomptif (milieu Rothe) et d'un milieu sélectif de confirmation (milieu liquide de Litsky et au cristal violet).

### ▪ **Mode opératoire**

D'après *Rodier(1996)*, cette recherche est réalisée en deux testes

#### ❖ **Le test de présomption**

L'ensemencement se fait par une série des tubes

- 50ml de l'eau à analyser dans 50mL de Rothe D/C
- 5 tubes contenant 10mL d'eau à analysés dans 10mL de Rothe D/C.
- 5 tubes contenant chacun 1mL d'eau a analysé additionnés 9mL de milieu Rothe S/C.
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48h

#### ▪ **Lecture**

Les tubes présentant un trouble microbien sont considérés comme positifs.

#### ❖ **Le test de confirmation**

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption.

Les tubes de Rothe trouvés positif feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans un tube contenant le milieu Eva Litsky, bien mélange le milieu et l'inoculum l'incubation se fait 37°C pendant 24 heures.

#### ▪ **Lecture**

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois

- ❖ Un trouble microbien, et ou
- ❖ Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes

La lecture finale s'effectue également selon ses prescriptions de la table du NPP.

### 2.2.3. Les analyses microbiologiques de la poudre de lait, sucre, la spiruline (ou la chlorelle) produit fini

#### 1. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux et totaux

Ce groupe contient toutes les bactéries ou anaérobies facultatifs, ce sont des bactéries Gram<sup>-</sup>, asporulée, en forme bâtonnets, mobiles ou non.

Ces bactéries disposent d'un métabolisme respiratoire et fermentaire (aéro-anaérobies) capables de fermenter rapidement le lactose avec production de gaz et d'acide lactique à 35°C.

La présence des coliformes totaux dans les aliments indique un traitement thermique inefficace ou une contamination subséquente au traitement, ils peuvent aussi démontrer un mauvais nettoyage et une mauvaise désinfection des matériels de transformation (*Cardinal et al., 2003*).

##### ▪ Principe

Sur le gélose VRBL (Gélose Lactose Biliée Cristal Violet et Rouge neutre), le développement de la plupart des bactéries n'appartenant plus à la famille des entérobactéries est inhibé par le cristal violet et les sels biliaires. La fermentation du lactose est mise en évidence par le virage de l'indicateur au rouge (*Guiraud, 1998*).

##### ▪ Mode opératoire

- A partir des dilutions  $10^{-3}$  à  $10^{-7}$  porter aseptiquement 2 fois 1mL de chaque dilution dans deux boîtes de Pétri vide préparée à cet usage.

Couler environ 20ml de gélose VRBL, préalablement fondu et refroidi à 45°C puis faire ensuite des mouvements circulaires pour bien homogénéiser la gélose à l'inoculum.

- Laisser les boîtes sur paillasse pour solidifier.
- La première série de boîtes est incubée à 37°C pendant 24 à 48 heures est servira à la recherche des coliformes fécaux.

##### ▪ Lecture des résultats

On va dénombrer les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies de couleur rouge foncé, brillantes de 0,5mm de diamètre

En fin multiplier le nombre trouvé par l'inverse de la dilution.

### 1. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux

La microflore aérobie mésophile totaux est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air et aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 25 et 40°C.

On peut dire que le dénombrement de la flore totale reste la meilleure méthode d'appréciation de la qualité microbiologique générale des aliments (*Bourgeois, 1980*).

#### ▪ Principe

Le dénombrement des germes aérobies mésophiles est réalisé sur gélose PCA par un ensemencement en masse, et comptage des colonies lenticulaires obtenus.

#### ▪ Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales, et l'aide d'une pipette stérile, porter aseptiquement 1mL dans chacune des boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et compléter en suite par 15 à 20 mL de gélose PCA préalablement fondue et refroidi à 45°C.
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va -et - vient pour homogénéiser l'inoculum à la gélose.
- Laisser les boîtes solidifier sur la pailasse environ 30mn.
- Les boîtes sont incubées couvercle en bas à 30°C pendant 24, 48 à 72 heures.

#### ▪ Lecture des résultats

Dénombrer les colonies lenticulaires en masse de couleurs blanchâtres seulement les boîtes contenant entre 30 à 300 colonies.

### 2. Recherche et dénombrement de *Clostridium Sulfitoréducteur*

Ces bactéries appartiennent à la famille des Bacillaceae, ce sont des bacilles Gram positifs sporulées, et anaérobies stricts. Elles réduisent le nitrate en nitrite et fermentent le lactose avec production de gaz. Elles peuvent contaminer les produits alimentaires dans des conditions d'anaérobiose ainsi que les conserves où peuvent facilement proliférer grâce à leurs spores, c'est les seuls êtres vivants après pasteurisation (*Bourgeois et Leveau., 1980*).

### ▪ Mode opératoire

- A partir des dilutions  $10^{-2}$  et  $10^{-1}$ , on prépare 2 tubes stériles contenant chacun 1mL.
- Mettre les tubes au bain thermostaté réglé à  $80^{\circ}\text{C}$  pendant 10mn et les refroidir immédiatement sous courant d'eau.
- Verser dans chacun des 2 tubes 15mL de la gélose UF additionnée d'alum de fer et d'une ampoule de sulfite de sodium.
- Homogénéiser sans introduire des bulles d'air.
- Laisser solidifier sur le paillasse puis les incuber à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48 heures.

### ▪ Lecture des résultats

Les colonies, dans la profondeur de la gélose, entourées d'un halo noir sont des colonies correspondant aux spores thermostantes d'ASR.

### 3. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* sont les plus régulièrement pathogènes, il est anaérobies facultatifs, catalases positives, coagulases positives, immobiles et non sporules, capables de produire une ou des entérotoxines; la bactérie est considérée comme un témoin d'hygiène (Larpent, 1997).

### ▪ Principe

L'enrichissement sur milieu Giolitti Cantoni (GC) permet une revérification idéale des souches stressées par la réduction de tellurite de potassium en tellure responsable de la coloration noire, de plus le tellurite de potassium à un effet inhibiteur sur les autres germes.

L'isolement sur le milieu Chapman sélectionne les *staphylococcus aureus*.

Sa teneur élevée en chlorure de sodium, permet l'inhibition des autres germes.

La fermentation du mannitol est mise en évidence par le virage de phénol au jaune.

### ▪ Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 1mL par dilution dans un tube à vis stérile.
- Ajouter par la suite environ 15mL du milieu d'enrichissement GC, auquel est ajouté du tellurite de potassium homogénéisé le milieu et l'inoculum.

- Incuber les tubes à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture**

Seront considérés positifs, les tubes ayant virés au noir.

Ces tubes feront l'objet d'une confirmation par l'isolement sur gélose Chapman, coulée en boîte de Pétri séchée.

Les boîtes de Chapman ainsi ensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Puis repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisse, brillantes, de couleur jaune.

#### **4. Recherche et dénombrement des salmonelles.**

Les salmonelles appartiennent à la famille des enterobacteriaceae, ce sont des bacilles, anaérobies facultatives, réduisent les nitrates, mobiles grâce à une ciliature peritriche, oxydase (-), catalase (+). Leur recherche et leur identification permettent de savoir si le produit est dangereux à consommer ou non. Elles comprennent plus de 1500 serotype, ces dernières se manifestent par des diarrhées, de la fièvre et des vomissements (*Avril et al., 2000*).

- **Principe**

Les salmonelles sont des bactéries difficiles à isoler, vu leur nombre, pour cela leur recherche nécessite le passage par différentes étapes, d'abord un pré-enrichissement puis un enrichissement sur le milieu sélectif, et à fin isolement sur milieu Hektoen (*Bourgeois, 1989*).

- **Mode opératoire**

La recherche de salmonella comporte plusieurs étapes qui sont les suivantes.

##### **Etape 1 : pré-enrichissement**

Il consiste à préparer une suspension mère en prélevant 25g de produit à analyser que l'on introduit dans 225mL d'eau peptonnée (EPT). Cette dernière sera incubée à 37°C pendant 18 à 20 heures.

### **Etape 2 : enrichissement primaire**

On ensemence 10mL du milieu de pré-enrichissement dans 100mL du milieu liquide SFB D/C (+ additif SFB) qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures.

Le but de cette étape consiste à éliminer au maximum les autres germes et à garder que ceux apparentant au genre salmonella, la présence des salmonelles se traduit par un virage de la solution au rouge brique.

### **Etape 3 : enrichissement secondaire et isolement sur Héктоén**

Le but de cette étape est l'isolement du milieu d'enrichissement primaire dans une gélose Héктоéne d'une part, et d'autre part un second enrichissement qui consiste à ensemencer 0,5mL du milieu d'enrichissement primaire dans un bouillon sélénite cystine contenue dans un tube de 10mL et l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

### **Etape 4 : isolement sélectif**

A partir de milieu d'enrichissement secondaire, un second isolement est réalisé sur gélose Héктоéne et une lecture de la boîte incubée la veille.

La boîte ensemencée est incubée à 37°C pendant 24 heures.

#### **▪ Lecture des résultats**

La lecture consiste à dénombrer les colonies caractéristiques 2 à 4mm de diamètre, lisse et de couleur bleu verdâtre avec ou sans centre noir.

## **5. Recherche et dénombrement des levures et moisissures**

Les levures sont des champignons microscopiques. Généralement, les levures ne sont pas affectée par des variations de pH, leur plus bas de l'ordre de 3 et plus élevé de l'ordre de 7 et 8.

La température optimale de croissance varie légèrement suivant les espèces (entre 20°C et 35°C). Elles dégradent les composés carbonés par un métabolisme oxydatif ce qui conduit à la formation de CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O (*Bourgeois et Levaux, 1991*).

Les moisissures sont des champignons filamenteux qui peuvent altérer des denrées alimentaires par modification de leur valeur nutritionnelle à apparition de saveurs indésirables et une modification des caractères organoleptiques (*Bourgeois et al, 1996*).

### ▪ Principe

Les levures et moisissures sont des microorganismes qui, après ensemencement en surface sur le milieu inhibiteur pour les bactéries (gélose Sabouraud au Chloramphénicol) forment des colonies après une incubation à 20-25°C pendant 5 jours (*Guiraud, 1998*).

### ▪ Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$ , porter aseptiquement 4 gouttes dans chacune des 3 boîtes de Pétri contenant la gélose Sabouraud au Chloramphénicol, puis étaler les gouttes à l'aide d'une pipette râseau stérile.
- Incuber les boîtes couvercle en haut à 22°C pendant 5 jours.

### ▪ Lecture et interprétation des résultats

Les colonies de levures et moisissures ne se trouvent pas en face de boîtes, en doit effectuer des lectures et des dénombrements tous les jours.

Les colonies des levures ressemblent aux colonies des bactériennes, elles sont de consistance crémeuse, ronde ou ovale et souvent opaque.

Les moisissures sont pigmentées à aspect velouté et duveteuses étant donné d'une part qu'on a pris 4 gouttes de la dilution décimale, et qu'on considère que 1ml est l'équivalent à 20 gouttes, pour revenir donc à 1ml, il faut multiplier l'inverse de la dilution, puis faire la moyenne arithmétique des différentes boîtes et exprimer le résultat final par ml de produit analysé.

## 3. Essai de d'enrichissement de yaourt brassé en spiruline et en chlorelle

### 3.1. But

Le but de cette expérimentation est de formuler un produit laitier fermenté (yaourt brassé aromatisé) enrichi avec deux types d'algue microscopique ; la spiruline et la chlorelle pour améliorer sa valeur nutritionnelle et suivre l'effet de la spiruline et la chlorelle sur le taux de bactéries lactiques au cours de stockage.

### 3.2. Essai de formulation

#### A. Les ferments lactiques utilisés

Les ferments lactiques utilisés à la laiterie de trèfle sont spécifique du yaourt brassé d'origine Danemark.

#### B. La spiruline et la chlorelle utilisées

La spiruline provient de l'Afrique, elle est sous forme poudré.

La chlorelle est d'origine française sous forme comprimé.

**Tableau N°13 :** la recette de yaourt (composition de yaourt brassé seul)

	Poudre de lait 26% MG	Eau (ml)	Sucre (g)	Ferment lactique (g)
Produit fini	135	830	100	0,6

**Tableau N°14 :** Essai d'enrichissement (composition de yaourt enrichie avec la spiruline et la chlorelle et les différentes doses).

	Pot <sub>1</sub> (100g yaourt)	Pot <sub>2</sub> (100g yaourt)	Pot <sub>3</sub> (100g yaourt)	Pot <sub>4</sub> (100g yaourt)
La spiruline	0	0,1g/L	0,3g/L	0,5g/L
La chlorelle	0	0,1g/L	0,3g/L	0,5g/L
La spiruline+ la chlorelle	0	0,1g/L	0,3g/L	0,5g/L

#### ▪ Mode opératoire

Les prélèvements des produits finis se font à la sortie de la chaîne de fabrication, et avant d'être acheminés vers la chambre froide de stockage.

- Préparer 3 séries des pots vide et stériles, chaque série contient 3 pots vides.

- A partir de bouteille de masse blanche (yaourt brassé), porter aseptiquement 100g de yaourt dans chaque pot préparé à cet usage.
- Numérotter les pots de la première série, puis doser la spiruline dans chaque pot du yaourt par l'ajout de 0,1g/L de spiruline dans le premier pot, 0,3g/L dans le 2<sup>ème</sup> pot et 0,5g/L dans le troisième pot.
- Le dosage de la chlorelle dans la deuxième série s'effectue de la même méthode que la précédente.
- Le dosage dans la troisième série s'effectue par l'ajout de 0,05g/L de la spiruline et 0,05g/L de la chlorelle dans le 1<sup>er</sup> pot, 0,15g/L de la spiruline et 0,15g/L de la chlorelle dans le 2<sup>ème</sup> pot, 0,25g/L de la spiruline et la même quantité de la chlorelle.
- Mélanger doucement les produits des 3 séries pour permettre l'homogénéisation de la spiruline et de la chlorelle avec le yaourt.
- Bien fermer les pots, et les mettre au stockage.



**Figure N° 05:**Essai d'enrichissement de yaourt brassé en spiruline ou en chlorelle

#### 4. Suivi de l'évolution de la flore lactique au cours de stockage

Les analyses de dénombrement de la flore lactique ont été réalisées chaque semaine (de puis le premier jour de production de yaourt enrichi) pendant une période de 3 semaines (T<sub>0</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>14</sub>, T<sub>21</sub>)

#### 4.1. Dénombrement de *Streptococcus thermophilus*

##### ▪ Définition

*Streptococcus thermophilus* se développent bien à des températures de 37 à 40°C (*Chaussonet al., 2002*). Cette espèce est thermorésistant avec une température de croissance comprise entre 19 et 52°C (*Blotin et al., 2004*).

*Sc. thermophilus* présente une forte sensibilité au NaCl. Nettement moins acidifiante que les lactobacilles, ils produisent généralement de 0,5 à 0,6% d'acide lactique (pH voisin de 5,2).

##### ▪ Mode opératoire

- Préparer des déluions décimales de  $10^{-1}$  à  $10^{-7}$
- A partir des déluions décimales  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  porter aseptiquement 1mL de chaque dilutions dans les 3 boites de Pétrie vide et stérile.
- Couler dans chaque boite la gélose M17 fondue et refroidie.
- Incuber pendant 72h à 37°C.

##### ▪ Lecture des résultats

Dénombrer les colonies lenticulaires qui atteignent après 48h 2mm de diamètre.

Le résultat trouvé est multiplié par l'inverse de la dilution.

#### 4.2. Dénombrement de *Lactobacillus bulgaricus*

##### ▪ Définition

*Lactobacillus bulgaricus* présente sous forme de court bâtonnet, Gram positif, catalase négative, elle présente une bonne croissance dans un milieu à pH 4,5-6,4, thermorésistant (60°C/90mn et 64°C/30mn).

##### ▪ Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  et à l'aide d'une pipette stérile, transférer 1mL de dilution dans chacune des 3 boites de Pétrie vide et stérile.
- Couler dans chaque boite la gélose MRS (Man, Rogosa, Sharpe).
- Mélanger doucement et laisser solidifier sur surface froide.

- Couler une deuxième fois dans chaque boîte la gélose MRS pour créer l'anaérobiose et laisser solidifier.
- Incuber à 37°C pendant 72h.
- **Lecture des résultats**

*Lb. bulgaricus* forme des colonies lenticulaire, polylobée (étoiles) de 1 à 3mm de diamètre.

Le résultat trouvé est multiplié par l'inverse de la dilution.

### 5. Suivi de pH au cours de stockage

Le suivi du pH a été réalisé au cours de stockage à (T<sub>0</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>14</sub>, T<sub>21</sub>) pour les trois produits finis (yaourt enrichie en spiruline et en chlorelle seules ou en association)

### 6. Les analyses organoleptiques

Les tests de dégustation ont pour but d'apprécier la qualité du yaourt tout en sachant que la notion de qualité est priori subjectives, puisque le principal instrument d'évaluation est le consommateur, car il est toujours influencé par les caractères organoleptiques dont la texture la couleur l'odeur et l'aromatisation qui sont les points les plus importants sur lesquels se base le consommateur dans son jugement et qui le guident dans son choix.

Pour cela, un formulaire a été proposé pour l'examen organoleptique ou la distribution des notes est effectuée selon une échelle de 1 à 4 pour donner une appréciation du produit, d'après le tableau qui nous a été fourni, par l'entreprise Trèfle.

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

## **Chapitre II**

### **Résultats et discussion**

## A. Les analyses physico-chimiques

### 1. Eau de process

Après les analyses physico-chimiques de l'eau de process, les résultats sont représentés dans le tableau N°15

**Tableau N°15** : Les résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process.

Paramètres échantillons	pH	T(C°)	TH (°F)	TA (°F)	TAC (°F)	Cl <sup>-</sup> (mg/L)	Cl <sub>2</sub> (ppm)
Eau	7,40	20	15	0	25	34	0
Normes	7-8	20-23	12-15	0	25-30	<200	0

D'après les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau de process montrent une conformité de l'eau de process par rapport aux normes établis par le Journal Officiel de la République Algérienne (JORA).

### 2. La poudre de lait

Les résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de lait sont représentés dans le tableau N°16.

**Tableau N°16** : Les résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de lait.

Paramètres échantillons	Acidité titrable (°D)	Extrait sec (%)	Taux d'humidité (%)	Teneur en MG (%)
Poudre de lait	13	95,48	4,52	26
Norme	12-14	95-97	3-5	26-26,7

Les résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de lait (tableau N°15) montrent une bonne qualité physico-chimique de la poudre de lait à une reconstitution parfaite, sans risque de formation de grumeaux insolubles ainsi qu'un respect de conditionnement et de stockage durant toute la période de conservation.

### 3. Le sucre

Le tableau N°17 présente les résultats des analyses physico-chimiques de sucre.

**Tableau N°17** : Les résultats des analyses physico-chimiques de sucre.

Paramètre échantillons	EST %	H%
Sucre	97,28	2,72
Norme	96-98	2 à 4

Les résultats des analyses physico-chimiques de sucre montre que la valeur de l'humidité trouvée est de 2,72 ce qui conforme aux conditions tolérées, et cela indique que le sucre est bien conservé, ce qui évitera sa détérioration par des microorganismes (levures et moisissures).

### 4. Le produit fini

#### 4.1. Suivi de la variation de matière grasse de produit fini au cours de stockage

Les résultats de la variation de matière grasse de produit fini au cours de stockage sont présentés dans le tableau N°18

**Tableau N°18** : La variation de la matière grasse de produit fini au cours de stockage

Temps de stockage(j) la dose(g/L)	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>
1g/L	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
3g/L	3,2	3,2	3,3	3,2	3,2
5g/L	3,3	3,2	3,2	3,3	3,3

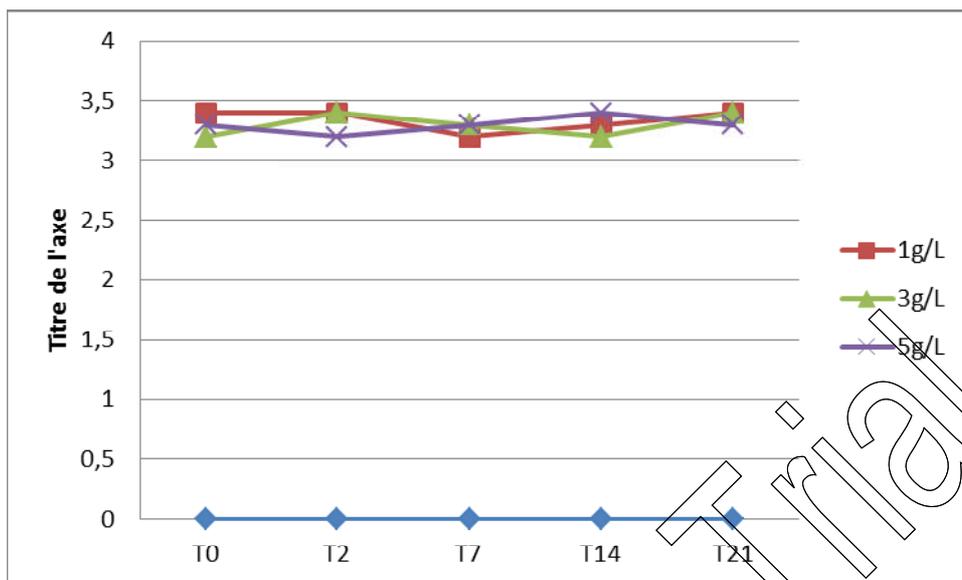


Figure N°06 : La variation de la matière grasse de produit fini au cours de stockage.

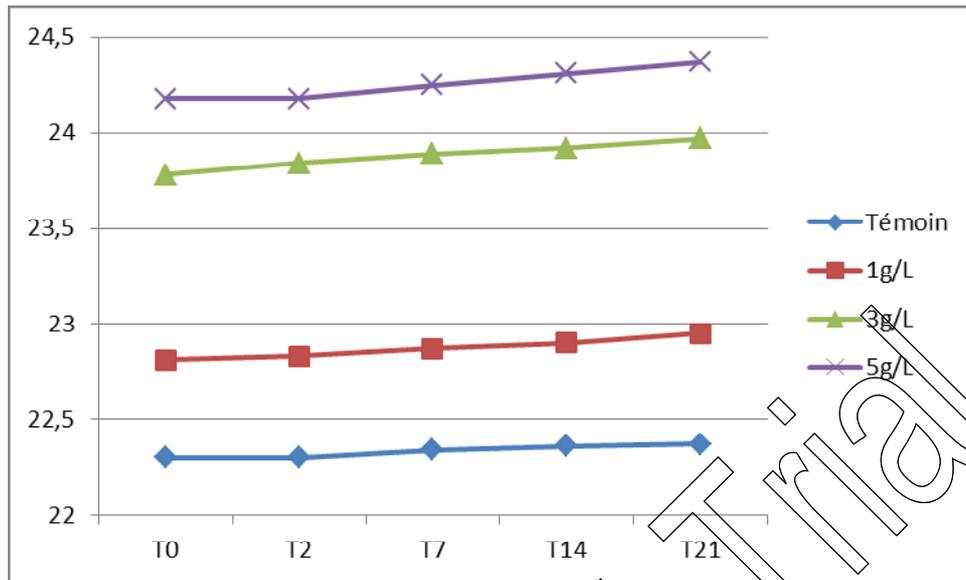
D'après les résultats d'analyse physico-chimique nous observons que la teneur en matière grasse du produit fini qui est de 3% reste stable durant la période de stockage. Ceci est dû selon *Liquet (1986)*, aux conditions de stockage : à l'abri de l'air, l'abri de la lumière, et à l'abri de la chaleur et selon *Bonnefoy et al.,(2002)*, ceci est également dû à la non contamination par la flore lipolytique, y compris les levures et moisissures.

#### 4.2. La variation de l'extrait sec des produits finis au cours de stockage

Les résultats de la variation de l'extrait sec des produits finis au cours de stockage sont présentés dans les tableaux suivant.

Tableau N°19 : La variation de la matière sèche du yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.

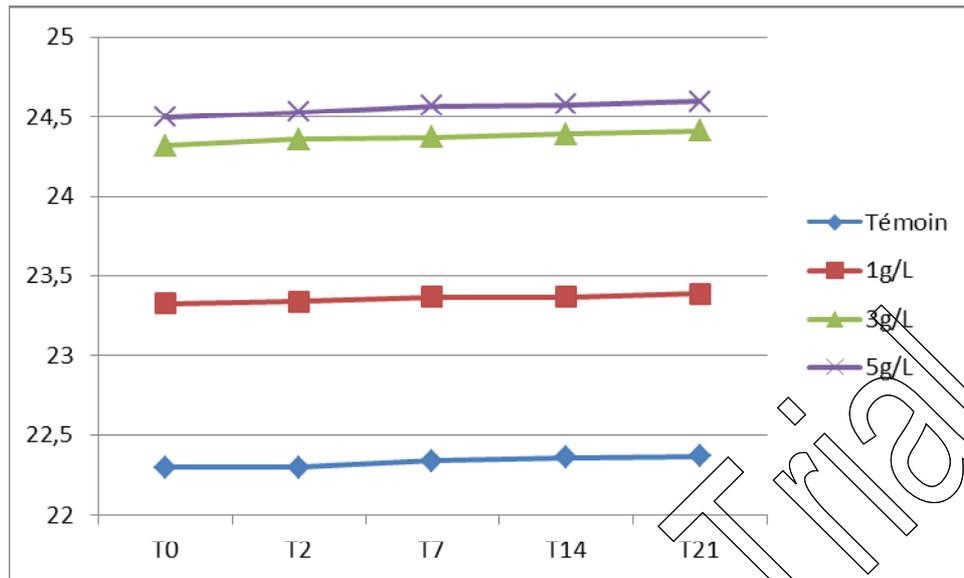
Temps de stockage(j) la dose de la spiruline	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>
Témoin	22,30	22,30	22,34	22,36	22,37
1g/L	22,81	22,83	22,87	22,90	22,95
3g/L	23,78	23,84	23,89	23,92	23,97
5g/L	24,18	24,18	24,25	24,31	24,37



**Figure N°07 :** La variation de la matière sèche d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.

**Tableau N°20:** La variation de la matière sèche du yaourt enrichi avec la chlorelle seule au cours de stockage.

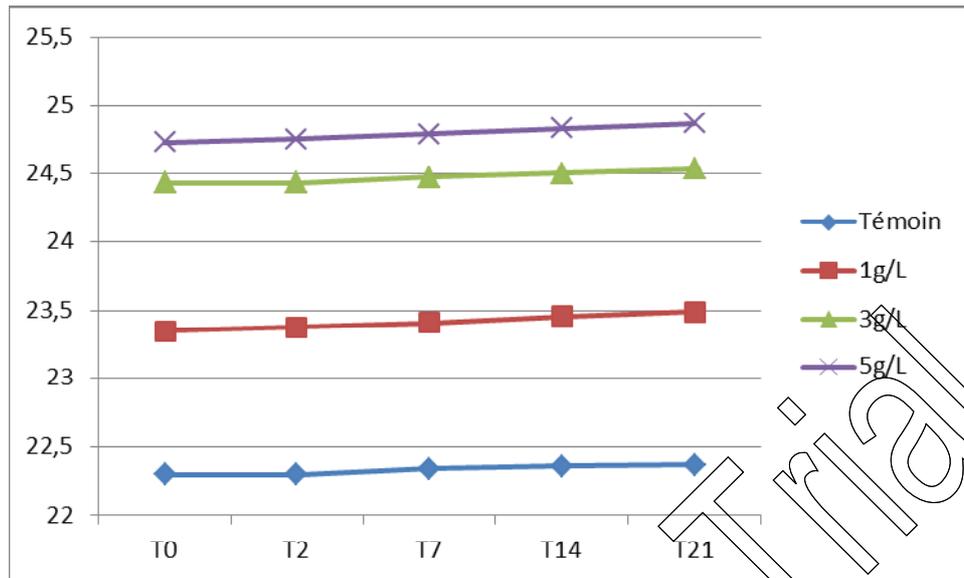
Temps de stockage(j) la dose de la chlorelle	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>
Témoign	22,30	22,30	22,34	22,36	22,37
1g/L	23,33	23,34	23,37	23,37	23,39
3g/L	24,32	24,36	24,37	24,39	24,41
5g/L	24,50	24,53	24,57	24,58	24,60



**Figure N°08 :** La variation de la matière sèche d'un yaourt enrichi avec la chlorelle seule au cours de stockage.

**Tableau N°21 :** La variation de la matière sèche d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.

Temps de stockage(j)	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>
La dose (g/L)					
Témoïn	22,30	22,30	22,34	22,36	22,37
1g/L	23,35	23,38	23,41	23,46	23,49
3g/L	24,43	24,43	24,47	24,50	24,53
5g/L	24,73	24,75	24,79	24,83	24,87



**FigureN°09** : La variation de la matière sèche d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.

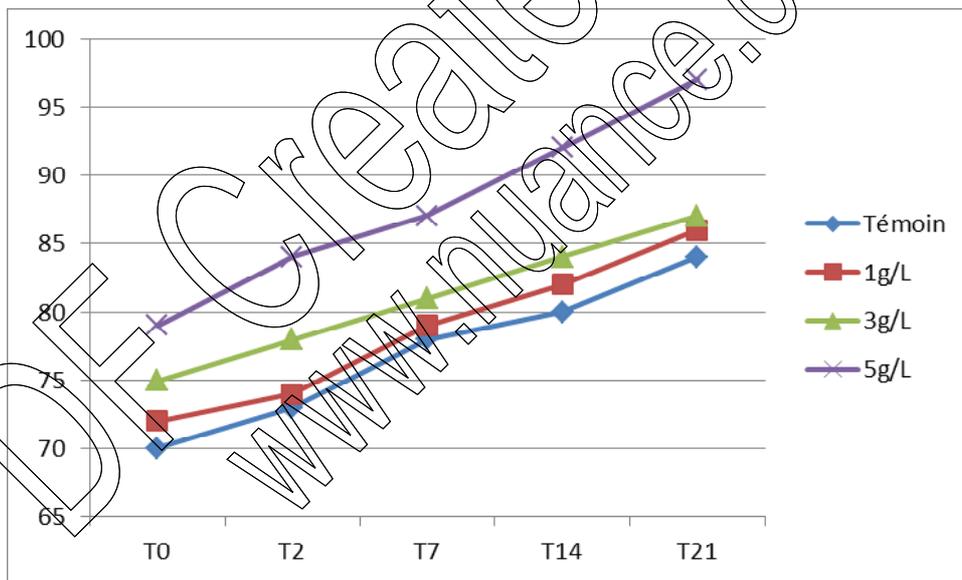
Les courbes de la EST ont une tendance décroissante pendant toute la période de stockage (T<sub>0</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>14</sub>, T<sub>21</sub>) et cela à toutes les doses, cela s'explique selon (*Lorient et Philippe, 1998*) par la protéolyse par les enzymes protéases qui hydrolysent la caséine en constituants plus petits (polypeptides, peptides, et acides aminés) implique ainsi la diminution de la matière sèche totale.

### 4.3 La variation de l'acidité des produits finis au cours de stockage

Les résultats de la variation de l'acidité des produits finis au cours de stockage sont présentés dans les tableaux suivant :

**Tableau N°22 :** La variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.

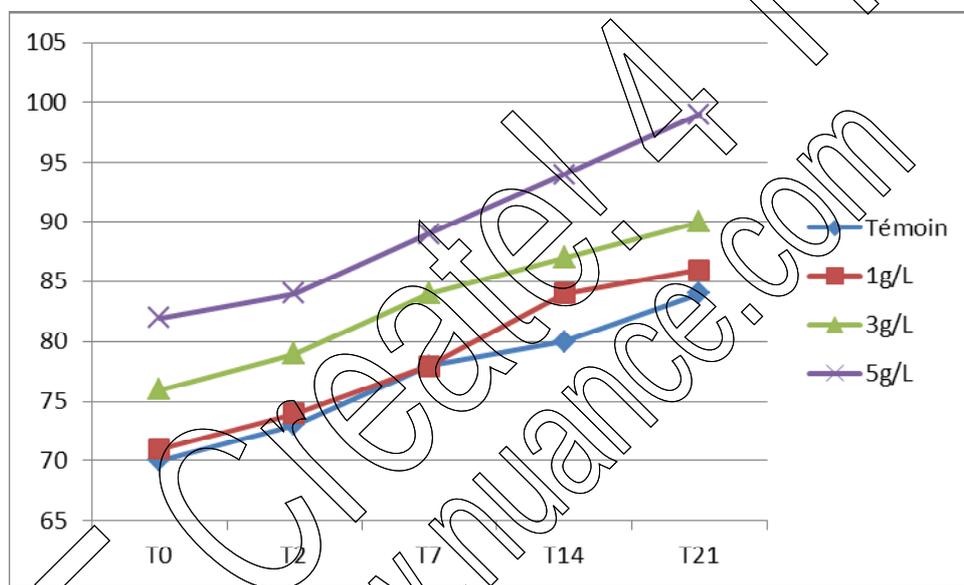
Temps de stockage la dose	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>
Témoin	70	73	78	80	84
1g/L	72	74	79	82	86
3g/L	75	78	81	84	87
5g/L	79	84	87	92	97



**Figure N°10:** La variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.

**Tableau N°23 :** La variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la chlorelle seules au cours de stockage.

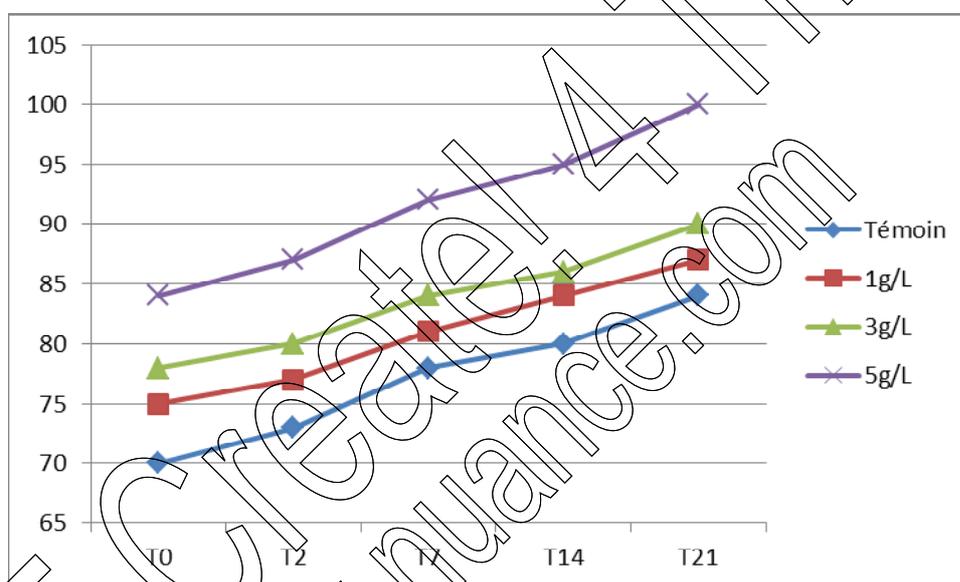
Temps de stockage la dose	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>
Témoin	70	73	78	80	84
1g/L	71	74	78	84	86
3g/L	76	79	84	87	90
5g/L	82	84	89	94	99



**Figure N°11:** La variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la chlorelle seule au cours de stockage

**Tableau N°24 :** La variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.

Temps de stockage la dose(g/L)	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>
Témoin	70	73	78	80	84
1g/L	75	77	81	84	87
3g/L	78	80	84	86	90
5g/L	84	87	92	95	100



**Figure N°12 :** La variation de l'acidité d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.

D'après les résultats effectués sur les trois produits finis durant toute la durée de stockage (T<sub>0</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>14</sub>, T<sub>21</sub>), nous remarquons une augmentation progressive d'acidité titrable dans les différents échantillons analysés donc nous pouvons dire que les courbes de l'acidité représentées dans les Figures N° 09, 10, 11 ont une tendance croissante durant toute la période d'analyse, cela s'explique selon *Beal et Sodini (2003)*, la diminution de pH a favorisé l'activité des ferments lactiques qui se traduit par la production en masse d'acide lactique.

L'augmentation d'acide lactique inhibe le développement des germes pathogènes et constitue une protection pour le yaourt.

La comparaison de yaourt témoin et yaourt enrichi avec la spiruline ou la chlorelle montre une augmentation de l'acidité avec l'augmentation de la dose de spiruline ou de chlorelle.

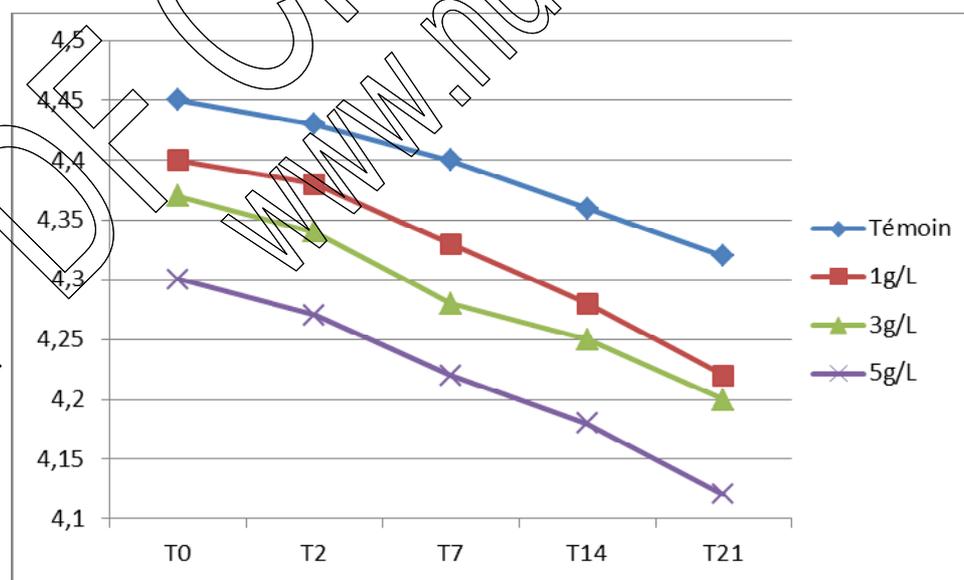
L'acidité de yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association est plus élevée que l'acidité d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule ou la chlorelle seule.

### 4.4. La variation de pH des produits finis au cours de stockage

La variation de pH de produits fini au cours de stockage est présentée dans les tableaux suivant.

**Tableau N°25 :** La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.

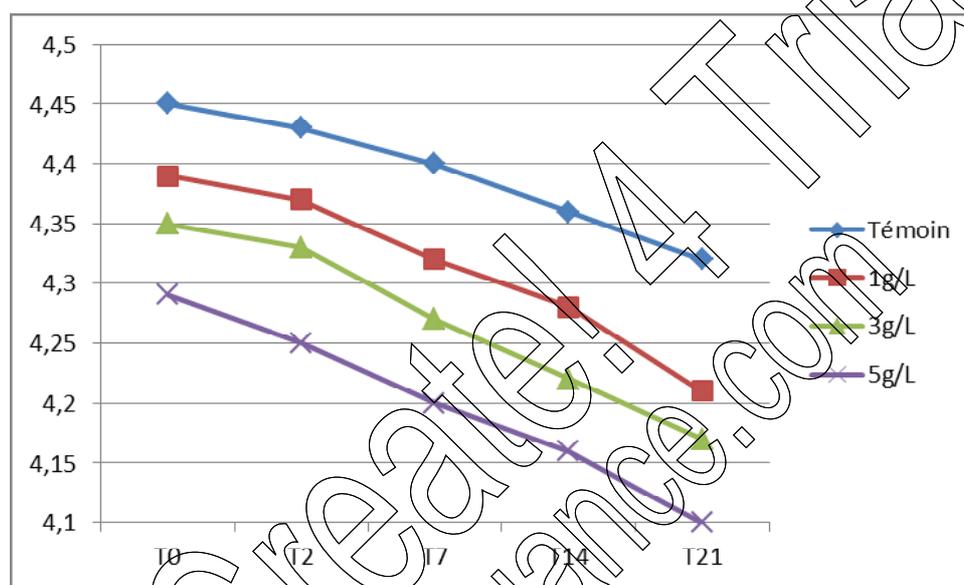
Temps de stockage la dose(g/L)	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>
Témoin	4,45	4,43	4,40	4,36	4,32
1g/L	4,40	4,38	4,33	4,28	4,22
3g/L	4,37	4,34	4,28	4,25	4,20
5g/L	4,30	4,27	4,22	4,18	4,12



**Figure N°13 :** La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule au cours de stockage.

**Tableau N°26 :** La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la chlorelle seule au cours de stockage.

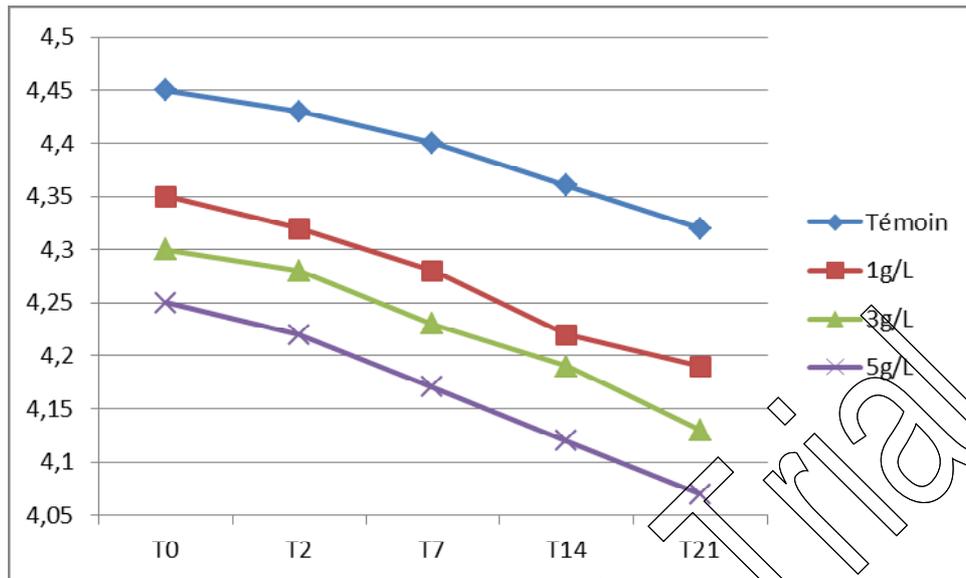
Temps de stockage la dose (g/L)	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>
Témoin	4,45	4,43	4,40	4,36	4,32
1g/L	4,39	4,37	4,32	4,28	4,21
3g/L	4,35	4,33	4,27	4,22	4,17
5g/L	4,29	4,25	4,20	4,16	4,10



**Figure N°14 :** La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la chlorelle seule au cours de stockage.

**Tableau N°27 :** La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.

Temps de stockage la dose (g/L)	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>
Témoin	4,45	4,43	4,40	4,36	4,32
1g/L	4,35	4,32	4,28	4,22	4,19
3g/L	4,30	4,28	4,23	4,19	4,13
5g/L	4,25	4,22	4,17	4,12	4,07



**Figure N°15 :** La variation de pH d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association au cours de stockage.

Le suivi de l'évolution du pH des produits finis au cours de stockage nous a permis de tracer les courbes illustrées respectivement dans les **Figures N°11, 12, 13**.

D'après **Mathieu (1998)**, « évaluent avec la composition, une teneur élevée en substances acides, protéines, anions, phosphate, citrate, ou acide lactique s'accompagne d'un pH faible et d'une acidité de titration élevée ».

Ces résultats traduisent le métabolisme du lactose par les bactéries lactiques, qui aboutit principalement à la production d'acide lactique responsable de cette acidification des yaourts.

Nos résultats ont montré que le pH du yaourt brassé enrichi avec la spiruline est peu plus élevé que pour le yaourt enrichi avec la chlorelle.

En fin il ya à signaler que cette acidité du produit est bénéfique car d'après **Vierling (1999)** : par son pH, l'acide lactique inhibe le développement des germes pathogènes et constitue une protection pour le yaourt.

## B. Les analyses microbiologiques

### 1. Les analyses microbiologiques de l'eau de process

Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process sont présentés dans le tableau N°28 ci-dessous:

**Tableau N°28** : Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process

Germes recherchés	Echantillon	Normes (JORA, 1998)
Germes totaux	Abs	<102 UFC/mL
Coliformes totaux	Abs	Abs / 100mL
Coliformes fécaux	Abs	Abs / 100mL
Clostridium sulfitoréducteur	Abs	25 spores/20 mL
Streptocoques fécaux	Abs	Abs/ 100mL

Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process sont conformes aux normes, ce qui indique une absence totale des germes d'indice de contamination fécale (coliforme totaux et fécaux et streptocoque fécaux), des germes pathogènes (anaérobies sulfitoréducteur) et saprophytes (FAM) (**Tableau N°28**).

Ces résultats sont dus au fait que cette eau avant son arrivée au niveau du robinet a subi des traitements tels que la pré-chloration, la filtration sur charbon actif, l'adoucissement, la désinfection par UV, ainsi le contrôle quotidien de l'eau pour détecter toute défaillance et le rectifier.

Selon *Larpen (1991)*, l'eau de reconstitution présente une grande proportion dans la composition du lait donc elle doit être de bonne qualité bactériologique, dépourvue de pesticides, et débarrassée de sels de chaux et de magnésium afin d'éviter l'entartage des appareils et des conduites, avec une pureté chimique satisfaisante, dépourvue d'ions métalliques.

## 2. Les analyses microbiologiques de sucre

Les résultats des analyses microbiologiques du sucre sont illustrés dans le tableau suivant

**Tableau N°29** : Résultats des analyses microbiologiques de sucre.

Germes recherchés	Echantillon	Normes (JORA, 1998)
Germes totaux	Abs	20 germes/g
Coliformes totaux	Abs	5 germes/g
Coliformes fécaux	Abs	Abs/g
Staphylococcus aureus	Abs	Abs/g
Clostridium sulfitoréducteur	Abs	Abs/g
Salmonelles	Abs	Abs/g
Levures	Abs	1 germes/g
moisissures	Abs	1 germes/g

Les résultats des analyses microbiologiques présentés dans le **tableau N°29** montrent que le sucre utilisé dans la fabrication du yaourt brassé répond aux normes indiquées dans le JORA par l'absence totale des germes saprophytes ou pathogènes, cela s'explique par la bonne manipulation lors des analyses microbiologique et le bon traitement de ses ingrédients lors de la fabrication, les bonnes conditions de stockage telle que la température, l'aération, l'humidité.

**Auclair et Richard (1986)**, confirment que l'humidité élevée dans un lieu de stockage favorise d'une part l'activité métabolique surtout dans le milieu riche en sucre ou en lactose ce qui va déclencher la réaction de Maillard et d'autre part la prolifération des germes saprophytes surtout les levures et les moisissures pouvant détériorer le produit.

### 3. Les analyses microbiologiques de poudre de lait

Les résultats des analyses microbiologiques exprimées en germes/g de la poudre de lait sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau N°30** : Les résultats des analyses microbiologiques de poudre de lait.

Germes recherchés	Echantillon	Normes (JORA, 1998)
Germes totaux	Abs	$2.10^5$ UFC/g
Coliformes totaux	Abs	1UFC/g
Coliformes fécaux	Abs	Abs/g
Staphylococcus aureus	Abs	Abs/g
Clostridium sulfitoréducteur	Abs	Abs/g
salmonelles	Abs	Abs/25g
Levures	Abs	<10 UFC/g
moisissures	Abs	<10 UFC/g

Les résultats des analyses microbiologiques au niveau de l'unité de treble montrent que l'échantillon, réponds aux normes fixés par la législation nationale de JORA (Tableau N°30).

L'absence totale des germes indique que la poudre de lait est de bonne qualité microbiologique et les conditions de stockage sont satisfaisantes.

les qualités technologiques des poudres de lait dépendent des modalités de leurs fabrications et des conditions du stockage.

La poudre de lait doit avoir un gout agréable, une bonne salubrité, une bonne qualité hygiénique et une bonne conservation de la valeur nutritionnelle (Francois et al., 1986).

#### 4. Les analyses microbiologiques des produits finis

Les résultats des analyses microbiologiques des produits finis sont mentionnés dans les tableaux ci-dessous.

**Tableau N°31 :** Résultats des analyses microbiologiques de témoin (yaourt brassé seul) au cours de stockage.

Temps de stockage	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>	Normes (JORA, 1986)
Germes (germes/mL)						
Coliformes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Coliformes fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1
Staphylococcus aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Clostridium sulfitoréducteur	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	50
salmonella	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
levures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	<100
moisissures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

**Tableau N°32 :** Les résultats des analyses microbiologiques d'un yaourt enrichi avec la spiruline au cours de stockage.

Temps de stockage	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>	Normes (JORA, 1986)
Germes (germes/mL)						
Coliformes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Coliformes fécaux	20	20	20	20	20	1
Staphylococcus aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Clostridium sulfitoréducteur	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	50
salmonella	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
levures	Abs	12	20	31	34	<100
moisissures	Abs	Abs	Abs	14	23	Abs

**Tableau N°33 :** Les résultats des analyses microbiologiques d'un yaourt enrichi avec la chlorelle au cours de stockage.

Temps de stockage germes (germes/mL)	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>	Normes (JORA, 1986)
Coliformes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Coliformes fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1
Staphylococcus aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Clostridium sulfitoréducteur	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	50
salmonella	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
levures	Abs	Abs	14	20	26	<100
moisissures	Abs	Abs	Abs	05	12	Abs

**Tableau N°34 :** Les résultats des analyses microbiologiques d'un yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle.

Temps de stockage germes (germes/mL)	T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>21</sub>	Normes (JORA, 1986)
Coliformes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Coliformes fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1
Staphylococcus aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Clostridium sulfitoréducteur	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	50
salmonella	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
levures	Abs	Abs	17	23	29	<100
moisissures	Abs	Abs	Abs	15	20	Abs

D'après ces résultats, nous remarquons une absence totale des germes pathogènes dans tous les produits finis au cours de stockage (**tableau N°33 et 34**) sauf la présence de 2 colonies de coliformes fécaux dans le yaourt enrichi avec la spiruline cela s'explique par la mauvaise qualité de spiruline ou une erreur lors de manipulation. (**Tableau N°32**)

Selon *Beerens et luquet (1987)*, la présence des coliformes totaux et fécaux dans le produit fini, indiquerait une faute hygiénique révélant soit la mauvaise qualité des matières premières ou l'insalubrité des matériels utilisés pour la fabrication.

Nous remarquons également une absence des levures et moisissures au début de stockage puis une apparition après la deuxième semaine de stockage cela due grâce à l'installation des levures et moisissures de l'aire durant l'utilisation des pots pendant le stockage, mais ces résultats restent toujours conformes à la norme JORA.

Selon *Joffin (2000)*, la présence de ces germes provoque une pollution microbienne du produit qui se traduit par un défaut d'aspect des yaourts, et par l'apparition de mauvais goûts.

### 5. Evolution des bactéries lactiques du yaourt au cours de stockage

Les résultats de l'évolution des bactéries lactiques au cours de stockage (3 semaines) des trois produits finis avec trois doses différentes présentés dans les **tableaux N°35**

**Tableau N°35 :** Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt témoin.(UFC/mL).

Temps (J)	Sc. thermophilus		Lb. bulgaricus	
	UFC/mL	Log UFC/mL	UFC/mL	Log UFC/mL
T <sub>0</sub>	32.10 <sup>7</sup>	8.505	26.10 <sup>7</sup>	8.414
T <sub>2</sub>	39.10 <sup>7</sup>	8.591	30.10 <sup>7</sup>	8.477
T <sub>7</sub>	45.10 <sup>7</sup>	8.653	38.10 <sup>7</sup>	8.579
T <sub>14</sub>	40.10 <sup>7</sup>	8.602	32.10 <sup>7</sup>	8.505
T <sub>21</sub>	34.10 <sup>7</sup>	8.531	24.10 <sup>7</sup>	8.380

**Tableau N°36:** Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la spiruline (1g/L)

Temps (J)	Sc. thermophilus		Lb. bulgaricus	
	UFC/ml	Log UFC/ml	UFC/ml	Log UFC/ml
T <sub>0</sub>	34.10 <sup>7</sup>	8.531	29.10 <sup>7</sup>	8.462
T <sub>2</sub>	40.10 <sup>7</sup>	8.602	34.10 <sup>7</sup>	8.531
T <sub>7</sub>	49.10 <sup>7</sup>	8.690	40.10 <sup>7</sup>	8.602
T <sub>14</sub>	43.10 <sup>7</sup>	8.633	33.10 <sup>7</sup>	8.518
T <sub>21</sub>	37.10 <sup>7</sup>	8.568	27.10 <sup>7</sup>	8.431

**Tableau N°37 :** Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la spiruline (3g/L)

Temps (J)	Sc. thermophilus		Lb. bulgaricus	
	UFC/ml	Log UFC/ml	UFC/ml	Log UFC/ml
T <sub>0</sub>	41.10 <sup>7</sup>	8.612	32.10 <sup>7</sup>	8.505
T <sub>2</sub>	47.10 <sup>7</sup>	8.672	36.10 <sup>7</sup>	8.556
T <sub>7</sub>	52.10 <sup>7</sup>	8.716	42.10 <sup>7</sup>	8.623
T <sub>14</sub>	44.10 <sup>7</sup>	8.643	35.10 <sup>7</sup>	8.544
T <sub>21</sub>	39.10 <sup>7</sup>	8.591	29.10 <sup>7</sup>	8.462

**Tableau N°38 :** Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec spiruline (5g/L)

Temps (J)	Sc. thermophilus		Lb. bulgaricus	
	UFC/ml	Log UFC/ml	UFC/ml	Log UFC/ml
T <sub>0</sub>	46.10 <sup>7</sup>	8.662	40.10 <sup>7</sup>	8.602
T <sub>2</sub>	53.10 <sup>7</sup>	8.724	46.10 <sup>7</sup>	8.662
T <sub>7</sub>	59.10 <sup>7</sup>	8.770	53.10 <sup>7</sup>	8.724
T <sub>14</sub>	51.10 <sup>7</sup>	8.707	44.10 <sup>7</sup>	8.643
T <sub>21</sub>	45.10 <sup>7</sup>	8.653	38.10 <sup>7</sup>	8.579

**Tableau N°39:** Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la chlorelle (1g/L)

Temps (J)	Sc. thermophilus		Lb. bulgaricus	
	UFC/ml	Log UFC/ml	UFC/ml	Log UFC/ml
T <sub>0</sub>	35.10 <sup>7</sup>	8.544	30.10 <sup>7</sup>	8.477
T <sub>2</sub>	40.10 <sup>7</sup>	8.602	35.10 <sup>7</sup>	8.544
T <sub>7</sub>	48.10 <sup>7</sup>	8.681	43.10 <sup>7</sup>	8.633
T <sub>14</sub>	41.10 <sup>7</sup>	8.612	36.10 <sup>7</sup>	8.556
T <sub>21</sub>	38.10 <sup>7</sup>	8.579	29.10 <sup>7</sup>	8.462

**Tableau N°40:** Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la chlorelle (3g/L).

Temps (J)	Sc. thermophilus		Lb. bulgaricus	
	UFC/ml	Log UFC/ml	UFC/ml	Log UFC/ml
T <sub>0</sub>	44.10 <sup>7</sup>	8.643	32.10 <sup>7</sup>	8.505
T <sub>2</sub>	52.10 <sup>7</sup>	8.716	43.10 <sup>7</sup>	8.633
T <sub>7</sub>	59.10 <sup>7</sup>	8.770	54.10 <sup>7</sup>	8.732
T <sub>14</sub>	51.10 <sup>7</sup>	8.707	42.10 <sup>7</sup>	8.623
T <sub>21</sub>	42.10 <sup>7</sup>	8.623	34.10 <sup>7</sup>	8.531

**Tableau N°41:** Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la chlorelle (5g/L).

Temps (J)	Sc. thermophilus		Lb. bulgaricus	
	UFC/ml	Log UFC/ml	UFC/ml	Log UFC/ml
T <sub>0</sub>	49.10 <sup>7</sup>	8.690	40.10 <sup>7</sup>	8.602
T <sub>2</sub>	56.10 <sup>7</sup>	8.748	46.10 <sup>7</sup>	8.662
T <sub>7</sub>	61.10 <sup>7</sup>	8.785	56.10 <sup>7</sup>	8.748
T <sub>14</sub>	55.10 <sup>7</sup>	8.740	45.10 <sup>7</sup>	8.653
T <sub>21</sub>	48.10 <sup>7</sup>	8.681	37.10 <sup>7</sup>	8.568

**Tableau N°42 :** Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle (1g/L).

Temps (J)	Sc. thermophilus		Lb. bulgaricus	
	UFC/ml	Log UFC/ml	UFC/ml	Log UFC/ml
T <sub>0</sub>	40.10 <sup>7</sup>	8.602	34.10 <sup>7</sup>	8.531
T <sub>2</sub>	46.10 <sup>7</sup>	8.662	39.10 <sup>7</sup>	8.591
T <sub>7</sub>	58.10 <sup>7</sup>	8.763	47.10 <sup>7</sup>	8.672
T <sub>14</sub>	47.10 <sup>7</sup>	8.672	36.10 <sup>7</sup>	8.556
T <sub>21</sub>	40.10 <sup>7</sup>	8.602	31.10 <sup>7</sup>	8.491

**Tableau N°43 :** Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle (3g/L).

Temps (J)	Sc. thermophilus		Lb. bulgaricus	
	UFC/ml	Log UFC/ml	UFC/ml	Log UFC/ml
T <sub>0</sub>	46.10 <sup>7</sup>	8.662	37.10 <sup>7</sup>	8.568
T <sub>2</sub>	53.10 <sup>7</sup>	8.724	44.10 <sup>7</sup>	8.643
T <sub>7</sub>	62.10 <sup>7</sup>	8.792	50.10 <sup>7</sup>	8.698
T <sub>14</sub>	54.10 <sup>7</sup>	8.732	42.10 <sup>7</sup>	8.623
T <sub>21</sub>	44.10 <sup>7</sup>	8.643	35.10 <sup>7</sup>	8.544

**Tableau N°44** : Evolution des bactéries lactiques au cours de stockage de yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle (5g/L).

Temps (J)	Sc. thermophilus		Lb. bulgaricus	
	UFC/ml	Log UFC/ml	UFC/ml	Log UFC/ml
T <sub>0</sub>	56.10 <sup>7</sup>	8.748	47.10 <sup>7</sup>	8.672
T <sub>2</sub>	62.10 <sup>7</sup>	8.792	53.10 <sup>7</sup>	8.724
T <sub>7</sub>	69.10 <sup>7</sup>	8.838	60.10 <sup>7</sup>	8.778
T <sub>14</sub>	61.10 <sup>7</sup>	8.785	52.10 <sup>7</sup>	8.716
T <sub>21</sub>	57.10 <sup>7</sup>	8.755	46.10 <sup>7</sup>	8.662

Au cours du stockage, on remarque que le nombre des streptocoques est supérieur à celui des lactobacilles dans les trois produits finis.

- Une croissance relativement importante pour les deux espèces au cours des 3 semaines due à la présence du lactose qu'à la coopération qui s'explique pour la stimulation de streptocoque et lactobacille qui sont en culture mixte.
- La stimulation s'explique par les différentes exigences en facteurs (acides aminés, acides formique) de *streptococcus thermophilus* et *lactobacillus bulgaricus* (Loones, 1994).
- Le streptococcus est stimulé par l'activité protéolytique de *lactobacillus bulgaricus* en libérant des acides aminés libres et des peptides (Accolas et al., 1980, Mahaut et al., 2000). Selon Tamine et Robinson, (1999) l'acide pyruvique et le dioxyde de carbone ont un rôle stimulateur vis-à-vis de *lactobacillus bulgaricus*.
- Nous remarquons que la spiruline et la chlorelle semblent avoir un effet stimulant de la croissance de ces deux bactéries ce qui est confirmé par nos essais (Tableaux N° 35,36, 37, 38, 39, 40,41, 42, 43, 44)
- On observe une diminution des ferments à cause de l'épuisement du lactose par sa transformation en acide lactique, ce qui fait augmenter l'acidité du produit qui inhibe rapidement la croissance des ferments.

En fin, ces résultats sont importants dans la mesure que ces bactéries présentent un rôle important dans le yaourt de part ces propriétés thérapeutiques et nutritionnelles.

### C.Evaluation organoleptique

D'après les résultats obtenus du test d'appréciation de la qualité organoleptique on constate que :

- ❖ Le goût : pour le yaourt enrichi avec la spiruline a présenté un très bon goût, le yaourt enrichi avec la chlorelle est jugé bon et le yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle est jugé bon.
- ❖ Les personnes qui ont goûté le yaourt le yaourt enrichi sont satisfait au yaourt enrichi a raison de 3g/L (0,3/100g de yaourt) dans les trois produits finis
- ❖ L'aspect : est jugé bon pour les trois produits finis.

- ❖ La viscosité : est jugée très bonne à bonne dans les trois produits finis.
- ❖ L'odeur : est jugée bonne pour le yaourt enrichi avec la spiruline, moyenne pour le yaourt enrichi avec la chlorelle est bonne pour le yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle et ce le tout au long de suivi.

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

## Discussion générale

A partir des résultats du tableau N°15, concernant les analyses physico-chimiques de la poudre de lait, nous remarquons que les teneurs des paramètres (acidité, EST, H%, MG) sont conformes aux valeurs préconisées par la norme exigées par AFNOR (1986), ces résultats sont dus aux bonnes conditions de fabrication et de stockage ainsi que l'hygiène.

A partir des résultats du tableau N°14, nous remarquons que l'eau de process a un pH voisin de la neutralité (pH=7,40) avec un caractère plus ou moins alcalin.

Nous remarquons également une conformité du chlore libre à celle dictée par AFNOR (1986), ce qui atteste que le traitement de dechloration que l'eau a subi est efficace et bien maîtrisé et selon *Beal et Sodini, (2003)*, la présence du chlore libre dans l'eau de process inhibe le processus de fermentation

D'après les résultats des analyses physicochimiques effectuées sur le yaourt sur le yaourt enrichi en spiruline, le yaourt enrichi en chlorelle et le yaourt enrichi en spiruline et en chlorelle en association (Figure N°05), la matière grasse est stable tout au long du stockage

D'après les résultats mentionnés dans la figure N°17, concernant la variation de la matière sèche au cours de stockage des produits finis, nous remarquons une légère augmentation de matière sèche, ce constat peut être expliqué par l'ajout de la spiruline et de la chlorelle.

D'après les résultats mentionnés dans les figures N° 09,10, et 11 nous remarquons une augmentation progressive de l'acidité au cours de stockage, cela s'explique selon *vignola,(2002)* par la production de l'acide lactique par la fermentation du lactose et aussi par l'activité protéolytique qui correspond à la croissance des ferments lactiques.

Nous remarquons également une diminution progressive de pH des produits finis au cours de stockage, cela s'explique selon *Beal et Sodini (2003)*, le pH est inversement proportionnel à l'acidité ; l'acide lactique est produit à partir de lactose, ce qui abaisse légèrement le pH.

Les résultats des analyses microbiologiques de matière première et de produit fini montrent une absence totale des germes pathogènes ce qui conforme l'utilisation d'une matière première de bonne qualité hygiénique et le respect des conditions de fabrication ainsi qu'une bonne manipulation lors des analyse.

D'après les résultats de l'évolution des bactéries lactique du produit fini au cours de stockage nous remarquons que le nombre du *Streptococcus thermophilus* est supérieur au nombre de *Lactobacillus bulgaricus* tout au long du stockage, nous remarquons que la spiruline et la chlorelle semblent avoir un effet stimulant de la croissance de ces deux bactéries ce qui est confirmé par nos essais.

A l'issu des analyses organoleptique réalisées sur les différentes types de produits finis, nous remarquons

Le goût : pour le yaourt enrichi avec la spiruline a présenté un très bon goût, le yaourt enrichi avec la chlorelle est jugé bon et le yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle est jugé bon.

Les personnes qui ont goûté le yaourt le yaourt enrichi sont satisfait au yaourt enrichi a raison de 3g/L (0,3/100g de yaourt) dans les trois produits finis

L'aspect : est jugé bon pour les trois produits finis.

La viscosité : est jugée très bonne à bonne dans les trois produits finis.

L'odeur : est jugée bonne pour le yaourt enrichi avec la spiruline, moyenne pour le yaourt enrichi avec la chlorelle est bonne pour le yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle et ce le tout au long de suivi

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

## Conclusion

Dans le cadre de ce présent travail nous avons étudié la caractérisation microbiologique, physico-chimique et organoleptique d'un yaourt enrichi avec la spiruline seule et enrichi avec la chlorelle seule et la spiruline et la chlorelle en culture mixte au de 3semaine de stockage.

Les résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de lait montrent que la poudre de lait utilisée présente une constitution parfaite, sans risque de formation de grumeaux insolubles

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process montre une conformité de l'eau de process par rapport aux normes algériennes.

D'après les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur le yaourt enrichi avec la spiruline seule, sur le yaourt enrichi avec la chlorelle seule et le yaourt enrichi avec la spiruline et la chlorelle en association nous remarquons une stabilité de la matière grasse dans les trois produits finis toute au long de la période de stockage ainsi qu'une augmentation de matière sèche avec l'augmentation de la dose des deux algues.

Les résultats de suivi de l'acidité des trois produits finis au cours de stockage montrent une augmentation progressive de l'acidité, cela s'explique par la production de l'acide lactique ce qui abaisse légèrement le pH

Les analyses microbiologiques de matière première et les trois produits finis montrent une absence totale des germes pathogènes ce qui conforme l'utilisation de matière première de bonne qualité hygiénique ainsi qu'une bonne manipulation lors des analyse.

Les résultats de suivi de l'évolution des bactéries lactiques au cours de stockage nous a permis de constater que le nombre du *Streptococcus thermophilus* est supérieur au nombre de *Lactobacillus bulgaricus* tout au long du stockage.

Nous remarquons que le nombre de bactéries lactiques augmente avec l'augmentation de la dose de spiruline et de la chlorelle, cela s'explique par l'effet stimulant de la chlorelle et la spiruline

Notre travail engendre d'autres investigations pourraient être engagées, entre autres :

- Des essais d'introduction de la spiruline et de la chlorelle dans le régime alimentaire algérien.