

---



---

Soumis le : 25 Janvier 2011

Forme révisée acceptée le : 14 Juin 2011

Email de l'auteur correspondant :

corino147@yahoo.fr

---



---

## Etude de l'impact de l'incorporation de la spiruline sur les propriétés nutritionnelles, technologiques et organoleptiques du couscous artisanal

DOUMANDJI Amel<sup>a</sup>, BOUTEKRABT Lynda<sup>a</sup>, SAIDI Nabil Amar<sup>b</sup>, DOUMANDJI Soumeiya<sup>c</sup>, HAMEROUCH Djazia<sup>a</sup> et HAOUARI Samiha<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Université Saâd DAHLAB, Faculté des sciences Agro-vétérinaires, Département des sciences agronomiques, route de Soumaâ, BP 270 – 9000, Blida, Algérie.

<sup>b</sup> Unité de Recherche et Développement de l'Intendance, route de Meftah, Beaulieu, Oued Smar, Alger, 16200, Algérie.

<sup>c</sup> Institut Supérieur de Gestion et de Planification Bordj El Kiffan Alger, Algérie.

---

### Résumé

Ce travail a pour but d'améliorer essentiellement la qualité nutritionnelle du couscous, préparé à base de semoule de blé dur par l'incorporation d'une cyanobactérie très riche en protéines (jusqu'à 70% de son poids sec) connue sous le nom de spiruline. L'utilisation d'une souche locale (Spiruline Htam) a permis un suivi judicieux sur l'ensemble des méthodes de cultures et de production selon des conditions spécifiques. En effet la croissance de la spiruline sur un milieu rudimentaire (milieu de Hiri) a permis de récolter une quantité appréciable de spiruline utilisée dans la fabrication du couscous artisanal. Le couscous enrichi par la spiruline présente une hausse significative du taux de protéines d'environ 1 % avec 13,64 g pour celui préparé avec de la biomasse fraîche et avec 13,51 g pour celui préparé avec de la spiruline séchée. L'incorporation d'un gramme seulement de biomasse dans 100 g de semoule atteste de l'efficacité de l'ajout d'un minimum de biomasse de spiruline pour augmenter le taux de protéine dans le produit fini. Le test de dégustation effectué sur les différents échantillons du couscous à l'état cuit par le jury nous a permis de conclure que l'apprétabilité du couscous enrichi par la spiruline ne fait pas défaut par sa couleur ni par son odeur légèrement accentuée en rappelant le goût et la saveur des plats de couscous préparés à base de poissons très appréciés dans l'Est Algérien.

*Mots clés:* Couscous artisanal, spiruline, biomasse sèche ou fraîche, couscous enrichi, qualités nutritionnelles, technologiques et organoleptiques.

### 1. Introduction

La croissance démographique, les changements climatiques et les bouleversements économiques conduisent obligatoirement à une crise alimentaire observée dans les pays les plus démunis sous forme d'une malnutrition due à une faible disponibilité d'aliments de haute qualité nutritionnelle indispensable à notre santé, ce qui entraîne plusieurs maladies pouvant fragiliser à vie, voire détruire l'organisme humain. Selon l'OMS, il existe en 2009, 1,02 milliards de personnes souffrant de la faim sur notre planète, un chiffre qui tend à augmenter malgré les progrès de la biotechnologie qui vise à nourrir correctement les deux milliards de personnes supplémentaires d'ici vingt à trente ans.

En règle générale et quel que soit le pays pris en considération, la sécurité alimentaire passe nécessairement par l'augmentation et l'amélioration des productions

agricoles locales; c'est le cas de l'Algérie où la céréaliculture est depuis longtemps la spéculation la plus importante de l'agriculture. En effet les céréales constituent la production stratégique et représentent la base de la ration alimentaire, plus particulièrement le blé dur considéré comme étant le principal apport énergétique [1]. Toutefois, cet apport reste insuffisant et doit être complété sur le plan protéinique.

Par ailleurs, la découverte d'une algue microscopique sous le nom d'*Athrospira fusiformis* constituée jusqu'à 70 % de protéines soit près de deux fois plus que le soja, connaît un engouement sans précédent ressenti à l'échelle mondiale qui se traduit par un développement des cultures industrielles afin de l'utiliser comme complément alimentaire [2].

De par son importance nutritionnelle reconnue depuis des siècles, la spiruline ou bombe nutritionnelle est traditionnellement consommée par certaines populations. Elle fait l'objet d'une redécouverte depuis quelques années [3]. A l'instar des autres pays, l'Algérie contribue à la

valorisation et au développement des cultures de spirulines d'autant plus qu'elles représentent une ressource naturelle locale à valoriser.

Dans cette même optique, la présente étude propose d'incorporer la spiruline dans l'alimentation quotidienne de la population algérienne pour apporter un plus de nutriments. Cette incorporation s'effectuera dans les céréales, l'aliment élémentaire de la nutrition, ces dernières caractérisées par une faible teneur en protéines essentiellement pauvres en lysine. Leur enrichissement permet d'évaluer les différences sur le plan nutritionnel et culinaire des produits obtenus.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le couscous artisanal des différents échantillons étudiés est produit à partir d'une semoule de blé dur (semoule SOSEMIE composée de 100 % de blé dur canadien) en respectant les mêmes conditions physiques de fabrication du couscous SOSEMIE (à s'avoir 2/3 de grosse semoule + 1/3 de fines semoule. Afin d'assurer la même granulométrie pour le témoin et les autres échantillons).

### 2.2. Microorganisme

Le prélèvement de la souche mère de spiruline HTam a été effectué dans la région de Tamanrasset au niveau de la Guelta du Palmier situé à 1824 m d'altitude (23°N., 5°E.) dans des conditions aseptiques pour éviter toute contamination, le transport des échantillons étant assuré d'une manière à éviter tout contact avec l'air extérieur dans des récipients stériles et à basse température (glacières) [4]. L'identification de la souche étudiée est encore en cours. Elle serait probablement apparentée à *Arthrospira fusiformis*.

### 2.3. Méthodes

#### Méthodes de culture et de fabrication :

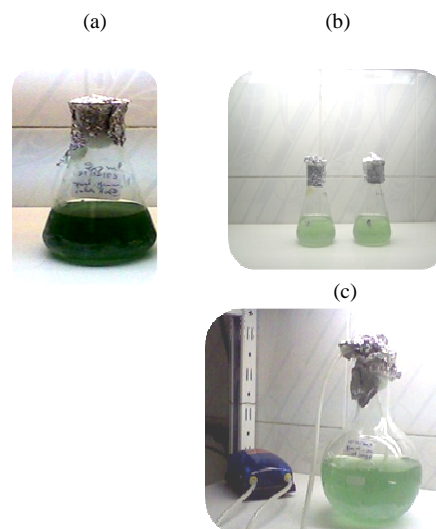
**Culture de la spiruline :** Le milieu de culture utilisé est un milieu liquide constitué d'eau distillée et de sels minéraux [4], avec un pH compris entre 9,5 et 10 et une agitation mécanique continue dans les proportions suivantes (tableau 1)

Tableau 1

La composition du milieu de Hiri (pour 1 L d'eau distillée)

Composés	Quantité (g/L)
Bicarbonate de soude (NaHCO <sub>3</sub> )	16
Chlorure de sodium (NaCl)	1
Phosphate d'ammonium (NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0,1
Sulfate de fer (FeSO <sub>4</sub> )	0,01
Sulfate de magnésium (MgSO <sub>4</sub> )	0,1
Sulfate de potassium (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	0,5
Chlorure de calcium (CaCl <sub>2</sub> )	0,1
Urée azotée CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	0,1

La culture de la spiruline débute par l'ensemencement qui est réalisé par dilution d'un inoculum 100 % spirulé de grande taille, d'un vert tirant vers le bleu-vert en respectant les mêmes conditions physiques (une température d'incubation à 30°C., une intensité lumineuse égale à 1512 lux et une agitation mécanique à l'aide d'une pompe à air toute la journée avec des coupures de 20 minutes de temps en temps). Après plusieurs essais, différents prélèvements sont effectués comme le montre la figure suivante:

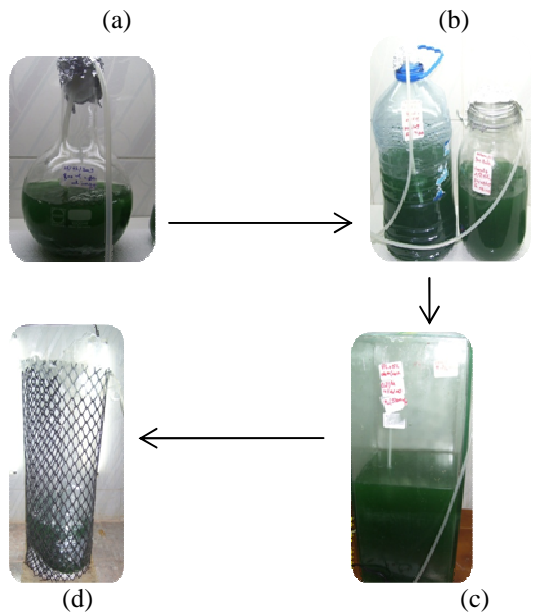


- (a) : souche mère
- (b) : dilution 1 (5 mL d'inoculum + 30 mL de milieu)
- (c) : dilution 2 (20 mL d'inoculum + 150 mL de milieu)

Fig. 1. Ensemencements de la spiruline à partir de la souche mère

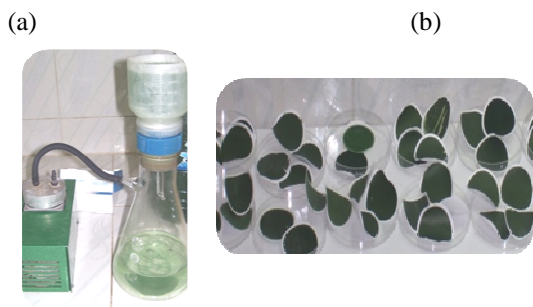
Après 6 à 8 jours, un dédoublement est réalisé par repiquage dans 500 mL de milieu de culture jusqu'à l'obtention de 8L de cultures de spiruline concentrée qui seront dédoublés directement dans 20 L de milieu de culture neuf (Figure 2).

Lorsqu'une biomasse optimale de spiruline est obtenue, selon la figure 3, la filtration est réalisée à l'aide d'un système de filtration et une pompe à vide utilisant un papier filtre de type Whatman GF/C, 47 mm de diamètre. La récupération de la spiruline s'effectue en raclant délicatement la biomasse avec une spatule stérile qui sera entposée dans une boîte de Pétri stérile.



(a) Croissance de la biomasse de la dilution 2  
 (b) Dédoublément 1 (8 L de culture)  
 (c) Dédoublément 2 (15 L de culture)  
 (d) Dédoublément 3 (28 L de culture)

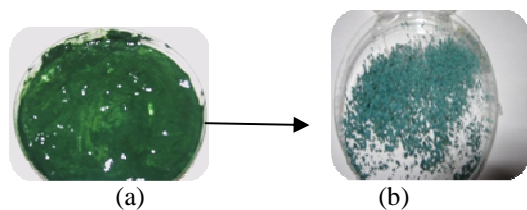
Fig. 2. Les différentes étapes du dédoublément de la culture de la spiruline



(a) Filtration de la culture de spiruline  
 (b) Biomasse fraîche sur papier filtre

Fig. 3. Filtration et récolte de la spiruline

Après cette opération, le séchage est réalisé à l'étuve entre 80°C et 100°C pendant 24h. (Figure 4).



(a) :Spiruline fraîche  
 (b) :Spiruline séchée

Fig. 4. Opération de séchage de la biomasse

La spiruline bien séchée obtenue présente un aspect craquant, se détache toute seule du support de séchage et se laisse facilement piler ou broyer [5].

**Fabrication du couscous artisanal**

**Procédé de fabrication du couscous artisanal sans spiruline :** Suivant la procédure artisanale, le couscous est fabriqué avec une semoule moyenne qui va subir un tamisage afin de la séparer en fine et grosse semoule, suivi d'un malaxage qui consiste à mouiller la grosse semoule avec de l'eau salée (5 - 10 g/L) afin de pouvoir la rouler tout en additionnant la fine semoule jusqu'à agglomération, cela permettra l'obtention de grains qui vont être tamisés et homogénéisés. Le couscous obtenu après tamisage va être pré-cuit à la vapeur pendant 10 mn puis sécher à l'air libre (Figure 5).

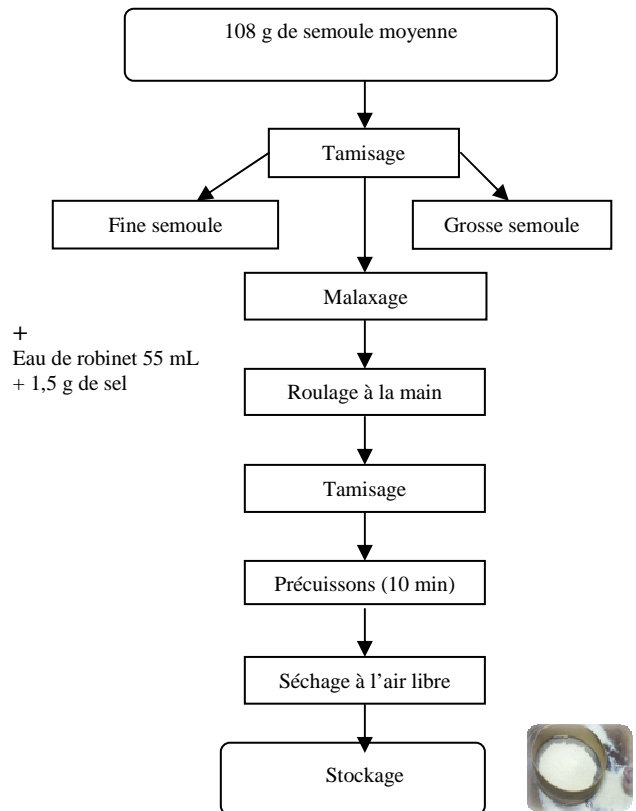


Fig. 5. Processus de fabrication du couscous artisanal sans spiruline.

**Procédé de fabrication du couscous artisanal enrichi par la spiruline**

Avant de voir cette procédure, il faut tout d'abord déterminer le taux d'incorporation de la spiruline dans les deux cas (fraîche et sèche).

Pour la spiruline fraîche, noter que pour avoir 100 g de couscous il faut 108 g de semoule agglomérée avec environs 55 mL d'eau, ce qui indique une quantité de

spiruline fraîche qui équivaut à 55mL, elle est déterminée par mesure du poids sec de 10 essais d'une culture de spiruline après l'avoir prélevée comme le montre la figure suivante:

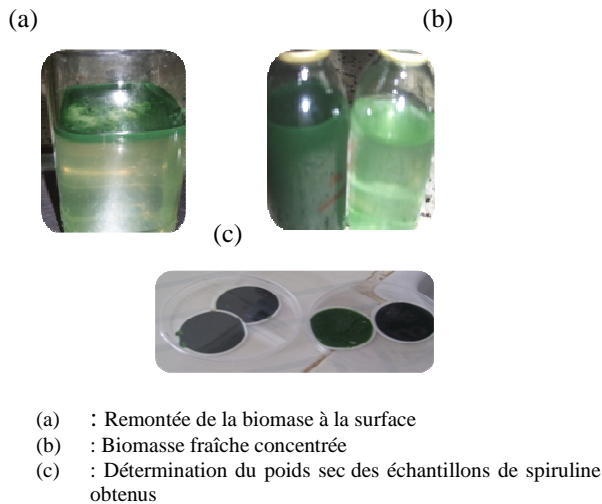


Fig. 6. Obtention de la biomasse de spiruline et détermination du poids sec exact incorporé à la semoule (1 g/55 mL)

Donc la préparation du couscous à base de spiruline fraîche consiste à agglomérer 108 g de semoule avec 55 mL de spiruline fraîche dont le poids sec est approximativement égale à 1 g.

Par contre, l'incorporation de la spiruline sèche consiste à mélanger 1 g de biomasse sèche finement broyée avec 108 g de semoule, à agglomérer avec 55 mL d'eau.

#### Analyses biométriques :

Après plusieurs tentatives et essais de la culture de spiruline HTam à l'échelle du laboratoire pour la maîtrise des conditions de cultures (température, pH, conductivité, taux d'oxygène, lumière, comptage de nombres de cellules), un suivi quotidien pendant une période de 18 jours, a permis d'établir une cinétique de croissance de  $T_0$  à  $T_{18}$ .

- Pour la préparation d'une culture de spiruline sur milieu solide, celle-ci doit être jeune âgée au maximum de 6 jours (le milieu solide est préparé en ajoutant 20 g d'agar-agar pour 1L de milieu Hiri liquide, autoclavé, coulé dans des boîtes après refroidissement). La solution mère (inoculum) est préparée à partir de cette dernière dans 100 mL de milieu.
- Préparer 19 erlenmeyers stériles de 250 mL contenant chacun 50 mL et un autre de 250 mL contenant 100 mL de milieu de culture, autoclaver l'ensemble.
- Prélever aseptiquement 5 mL de l'inoculum pour chaque erlenmeyer afin d'avoir une série allant de  $T_0$  à  $T_{18}$ .

Appliquer les conditions suivantes pour l'ensemble sauf pour le  $T_0$  (témoin).

- La température doit être maintenue à 30°C.
- L'aération est continue (24/24h pendant toute la période de 18 jours).
- La lumière est de 1512 luxmètres.

Le suivi journalier consiste à mesurer le pH, la conductivité, le taux d'oxygène, la densité optique (à 625 nm), au comptage des filaments et l'estimation du poids sec.

**Estimation du poids sec :** Cette technique repose sur une dessiccation à 80 °C pendant 24h d'un papier filtre de type Whatman GF/C, 47 mm de diamètre comprenant 25mL d'une culture de spiruline. Le poids sec de la micro-algue est déterminé par soustraction.

**Concentration de la biomasse :** Consiste en une lecture d'absorbance à 625nm par spectrométrie d'une culture de spiruline. La concentration de la biomasse ( $C_b$ ) est en g/L selon la relation suivante,  $C_b = 0,38 \times DO_{625}$

**Comptage des filaments :** La méthode de comptage cellulaire sous microscope s'effectue quotidiennement en prélevant une goutte de la culture algale disposée sur la cellule de Malassez. Le comptage des cellules viables se fait visuellement sur plusieurs essais [7].

#### Détermination de la teneur en protéines

**Cas des céréales (NA.1158/1990) :** Le principe de cette méthode, tirée de la méthode de Kjeldahl (NF 1.1.34 /1985), est basé sur une minéralisation de l'échantillon suivi d'une distillation et d'un titrage de l'ammoniac. La teneur en protéines se calcule à partir de la teneur en azote par l'intermédiaire d'un facteur de conversion, elle est exprimée en % par rapport à la matière sèche selon la relation suivante,

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

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

H: humidité (%)

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

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

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

**Cas de la spiruline :** Les protéines ont été quantifiées par spectrométrie utilisant la méthode de Bradford [8]. Un volume de 50 mL de suspension algale est centrifugé à 3000 tr/min pendant 2 à 3 min. Les cellules (culot) sont lavées à l'eau distillée et centrifugées de nouveau. Une fois les chlorophylles écartées après extraction avec de l'acétone à 90% v/v. Le culot obtenu après centrifugation

est mélangé avec 8 mL d'acétone, cette suspension est agitée vigoureusement puis placée à l'obscurité à 4°C pendant 48 h. Une centrifugation à 800 trs/min est réalisée; le surnageant obtenu renferme les chlorophylles, par contre le culot issu de cette centrifugation est additionné à 1 mL d'eau distillée et à 1,5 mL de réactif de Bradford. La densité optique à 595 nm est lue après un temps de réaction de 10 min aux fins de détermination du taux de protéines.

La courbe étalon est réalisée en préparant des concentrations connues de jaune d'œuf.

**Teneur en chlorophylles et en caroténoïdes de la spiruline (la méthode de Hansmann, 1973)** : La détermination de la teneur de ces pigments va permettre d'expliquer le changement de la couleur du produit fini (couscous enrichis).

La quantité des chlorophylles est mesurée par spectrophotométrie, 5 mg de poids sec de micro-algue sont centrifugés (800 tours pendant 2 min) puis mélangés à 8 mL d'acétone 90% (v/v) pour extraire tout les pigments.

La suspension est agitée vigoureusement puis mise à l'obscurité à 4°C. pendant 48 h. Un surnageant est obtenu après centrifugation (800 tr/min pendant 5 min). La densité optique de ce dernier est lue au spectrophotomètre (UV - Visible) à 665, 645 et 630 nm. La quantité des chlorophylles est calculée selon les équations suivantes:

$$\begin{aligned} [ch_a] &= 11,6 DO_{665} - 1,31 DO_{645} - 0,14 DO_{630} \\ [ch_b] &= 20,7 DO_{645} - 4,34 DO_{665} - 4,42 DO_{630} \\ [ch_c] &= 55,0 DO_{630} - 4,64 DO_{665} - 16,3 DO_{645} \end{aligned}$$

Ch<sub>a</sub> Ch<sub>b</sub> et Ch<sub>c</sub> sont les concentrations des chlorophylles a, b et c en mg/L.

Les caroténoïdes sont extraits en ajoutant des parts de 1 mL d'éthyle éther jusqu'à obtention d'un extrait clair. Le solvant est ensuite évaporé. Le culot obtenu est alors mis en suspension dans 5 mL d'acétone 90% (v/v) puis lu par spectrophotométrie à 444 nm. La concentration en caroténoïdes (Ct en mg/L) est donnée par l'équation suivante:

$$Ct = 4,23x DO_{444} - 0,0439$$

**Teneur en glucides :**

**Cas des céréales (la méthode de Dubois 1956)** : En milieu sulfurique et à chaud, les oses neutres donnent des dérivés du furfural qui se condensent avec le phénol pour donner un complexe de couleur brun jaune, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des glucides; la densité optique est déterminée à 490 nm.

**Cas de la spiruline (la méthode de Miron 2003)** : La méthode utilisée pour déterminer le taux des carbohydrates est inspirée de celle de la réaction acide sulfurique + anthrone adaptée à la biomasse algale.

A 100 mg de biomasse sont ajoutés 8 ml d'acide perchlorique agité fortement et laissé

Cinq mL du réactif à l'anthrone fraîchement préparé sont ajoutés à 1 mL du filtrat précédemment obtenu puis chauffés à 100°C pendant 12 minutes, une couleur verte se développe en raison de la formation d'un complexe glucose – anthrone, dont on détermine la densité optique à 630 nm après refroidissement du mélange.

Le blanc étant 5 mL du réactif additionné à 1 ml d'eau distillée. Une courbe étalon est réalisée en préparant des concentrations connues de D + glucose dissous dans de l'eau distillée. Densité optique et concentration en glucose (Cg; mg/mL) sont liés par la relation suivante:

$$Cg = 0,536 x DO_{630} + 0,0028$$

Cg : concentration de glucose (mg/mL).

**Teneur en lipides (NF V 03-905)** : La détermination des matières grasses est faite dans cette manipulation selon la méthode d'extraction par le SOXHLET en utilisant l'hexane comme solvant.

50 g d'échantillon sont placées dans le Soxhlet et y introduire 500 mL d'hexane dans le ballon, régler la température à 60°C.

Par la suite, chasser la majeure partie du solvant à l'aide de l'évaporateur rotatif pour éviter l'ébullition de l'huile qui à la longue pourrait modifier les indices d'acidité.

Le ballon contenant les lipides est placé à l'étuve pendant 30 min à 103°C, puis au dessiccateur pendant 30 min. Le poids des lipides est obtenu par la différence entre le poids final et le poids initial du ballon.

Les résultats sont donnés par la formule suivante:

$$\text{Teneur en MG (\% MS)} = (A-B) \cdot 100/C \cdot MS/100$$

A: poids du ballon + extrait en gramme

B: poids du ballon vide en gramme

C: poids de la prise d'essai en gramme

MS: matière sèche en pourcentage

**Qualité organoleptique du couscous (test de dégustation) (AFNOR V09-014)** : Le couscous préparé est apprécié par un jury composé de 10 personnes, les essais de dégustation se font avec une assiette de couscous cuit contenant 20 à 30 g, ils sont notés de 1 à 5.

**Qualité nutritionnelle du couscous** : La détermination du taux de protéines, des lipides et des glucides permet de calculer la valeur énergétique pour chaque échantillon étudié suivant la formule :

$$\text{Valeur énergétique en Kcal} = 4 \text{ glucides} + 4 \text{ protéines} + 9 \text{ lipides}$$

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Cinétique de croissance de la spiruline

La souche de spiruline étudiée a été cultivée dans un milieu non renouvelé "système clos" dans des conditions idéales de salinité (17,91 g/L) et de pH alcalin (9,4). Les courbes de croissance de la spiruline obtenue sont exprimées en fonction du poids sec et de la concentration de biomasse (Figure 7).

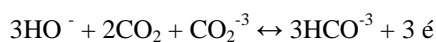
De façon globale, la tendance des courbes relatives au poids sec et à la concentration de la biomasse sont similaires. En effet, l'évolution de la quantité de biomasse obéit à la loi classique de la croissance des microorganismes en culture discontinue "batch" définie par les différentes phases.

On distingue clairement une courte phase de latence correspondant au temps d'adaptation avec les conditions du milieu. Ces dernières étant les mêmes que celles utilisées pour l'inoculum, et qui ont permis de réduire le temps d'adaptation. Selon Le Borgne [9], il faut attendre un certain temps pour remarquer un trouble visible. La durée de cette phase dépend de l'âge de l'inoculum et son adéquation enzymatique aux nouveaux substrats du milieu en question.

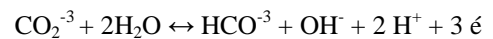
A la phase de latence succède la phase d'accélération où l'on assiste à des divisions successives pendant lesquelles le taux de croissance spécifique augmente et tend vers la valeur maximale pour arriver à son maximum à la phase exponentielle de la croissance ou logarithmique qui dure 7 - 8 jours. A partir du 9<sup>ème</sup> j survient une stabilité du poids de la biomasse ce qui correspond à la phase stationnaire d'une durée de 2 - 3 jours ( $\mu = 0$ ) pendant laquelle la population de spiruline atteint sa valeur maximale. Elle représente un équilibre entre le gain des cellules viables et celles qui commencent à se faiblir à cause des conditions difficiles du milieu. Au bout de 14 jours, le milieu de culture commence à s'appauvrir, d'où une régression de la concentration de la biomasse (poids sec) jusqu'à la lyse totale de la bactérie.

De ce qui précède, il apparaît que les méthodes préconisées (mesure du poids sec et lecture de l'absorbance) pour l'estimation et le suivi de la cinétique de croissance de la spiruline, semblent être similaires.

Par ailleurs, suivant la figure 9, la mesure du pH pendant la croissance montre une augmentation continue qui passe de 9,4 au début de la croissance et arrive à 10,6 après 10 jours. Ceci traduit une consommation du  $\text{CO}_2$  par la spiruline au cours de la photosynthèse. En effet, le  $\text{CO}_2$  réagit avec les carbonates du milieu selon la relation suivante:



Ainsi, pour chaque molécule de  $\text{CO}_2$  mobilisée, deux ions bicarbonates vont se dissocier et une molécule de  $\text{CO}_2^{-3}$  sera produite qui sera à son tour hydrolysée comme suit:



Il se reconstitue une molécule de bicarbonate et un ion  $\text{OH}^-$  ce qui amène à l'élévation du pH qui est constaté pendant la croissance notamment durant la phase exponentielle. Cette élévation représente un indicateur positif de l'efficacité photosynthétique des souches de spiruline étudiées dans les conditions opératoires.

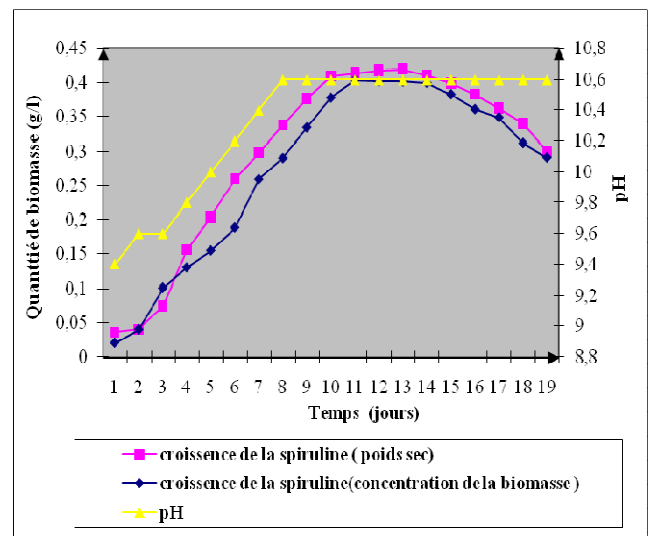
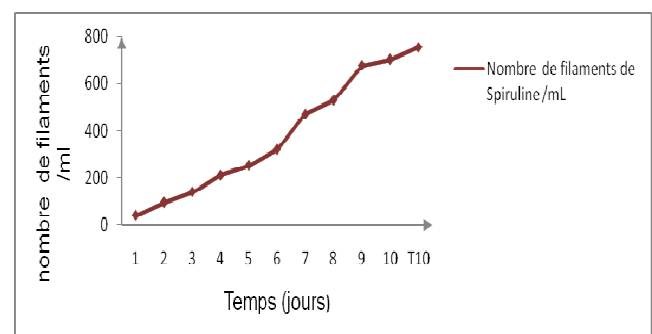


Fig. 7. Evolution du poids sec, de la biomasse de la souche de spiruline Htam et mesure du pH en fonction du temps

En utilisant la méthode de comptage des filaments sur cellule de Malassez, une évolution similaire et complémentaire des résultats est notée. En effet, une correspondance évidente est constatée entre le nombre des filaments (divisions cellulaires) et le poids sec notamment pendant les phases d'accélération et exponentielle (Figure 8).

Les observations des filaments de spiruline au microscope optique sont présentées au niveau de la figure 9.



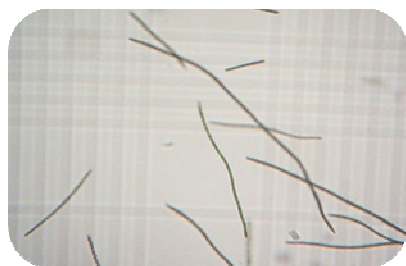
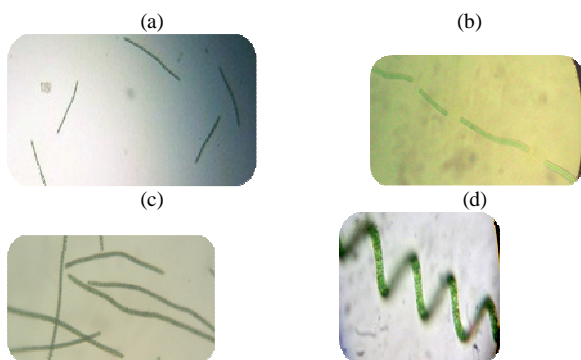


Fig. 8. Observation microscopique de la spiruline (grossissement 10x10)



(a): Vue au microscope optique (G 10x10) des filaments de spiruline issu de la solution mère  
 (b): Division cellulaire de la spiruline vue au microscope optique (G 10x10) après 1 jour de croissance  
 (c): Vue au microscope optique (G 40x10) des filaments de spiruline après 6 jours de croissance  
 (d): Vue au microscope optique (G 100x10) des filaments de spiruline après 10 jours de croissance

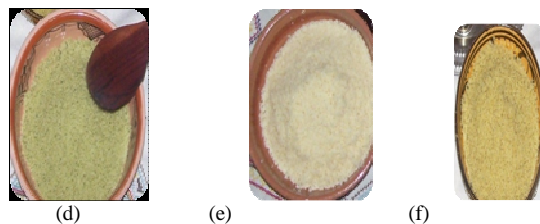
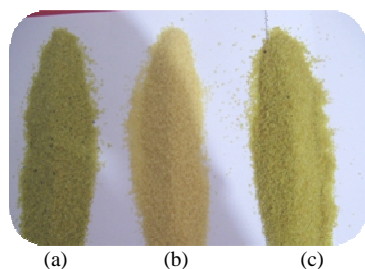
Fig. 9. Observation microscopique de la spiruline

### 3.2. Différents types de couscous obtenus

Les 28 litres de cultures obtenus, ont produit 10 g de spiruline sèche soit 0,357 g pour un litre de milieu, un résultat correspondant aux normes. À partir d'un litre de milieu de culture, la quantité de spiruline obtenue est comprise entre 0,3 et 0,7 g/L [5].

L'addition de la spiruline au couscous artisanal a permis d'obtenir deux types de couscous, respectivement couscous spiruline sèche et couscous spiruline fraîche.

La figure ci-dessous indique l'aspect des couscous obtenus avant et après la cuisson:



(a): Couscous spiruline sèche avant cuisson  
 (b): Couscous sans spiruline avant cuisson  
 (c): Couscous spiruline fraîche avant cuisson  
 (d): Couscous spiruline sèche après cuisson  
 (e): Couscous sans spiruline après cuisson  
 (f): Couscous spiruline fraîche après cuisson

Fig.10. Différents type de couscous analysés avant et après la cuisson

Tableau 2  
 Teneur en protéines des échantillons étudiés (normes françaises NF utilisées dans la semoulerie SOSEMIE)

	Teneur en protéines (% MS)				
	Grain de blé dur	Semoule	Couscous Sans spiruline	Couscous enrichi	
				Spiruline Fraîche	Spiruline Séchée
Essai 1	12,62	12,55	ND	ND	ND
Essai 2	12,78	12,51	12,46	13,64 g	13,51 g
Moyenne	12,70	12,53	ND	ND	ND
Norme (NF)	10 - 12,5	9 - 15	9 - 15	ND	ND

### 3.3. Estimation de la quantité des protéines

**Teneur en protéines de la spiruline :** En utilisant la méthode de dosage Bradford suivant laquelle un complexe coloré est obtenu (réactif Bradford – protéine), les résultats indiquent que la spiruline étudiée est composée de 8 à 20 mg de protéines par gramme de matière sèche. Seulement cette quantité mesurée est inférieure à celle attendue théoriquement, puisque la spiruline est constituée d'environ 65% de protéines (650 mg). Ceci est principalement dû à deux raisons essentielles; à savoir:

- Le choix de la protéine référence utilisée qui est celle du jaune d'œuf différente sur le plan structural de celle de la spiruline pour laquelle on préconise préférentiellement la protéine standard SBA (sérum d'albumine bovine),
- Les concentrations choisies pour réaliser la courbe d'étalonnage ne concordent pas avec les quantités attendues.

Quoiqu'il en soit, la technique utilisée reste valable pour doser approximativement les protéines présentes sans être précise sur le plan quantitatif. De ce fait, il apparaît qu'il serait plus judicieux de choisir des protéines plus spécifiques.

**Teneur en protéines du couscous :** Concernant le dosage des protéines totales présentes dans les autres échantillons (blé et ses dérivés enrichis et/ou non de spiruline), mesuré par la méthode de Kjeldahl, les résultats consignés sur le tableau 2, montrent que les grains présentent une teneur importante en protéines (12,7 %). Celle-ci varie significativement d'une variété à une autre et selon les conditions de cultures (apport de la fertilisation azotée).

La teneur en protéines est un critère important d'appréciation de la qualité nutritionnelle du produit fini. Les protéines du blé dur apportent, sur le double plan quantitatif et qualitatif, un rôle important et fondamental dans l'expression de la qualité culinaire du couscous. En effet, la formation d'un réseau de gluten confère à la semoule des propriétés rhéologiques appréciables [10].

En revanche, la teneur en protéines de la semoule étudiée estimée à 12,53 %, est légèrement inférieure à celle des grains. Cela s'explique par l'augmentation du taux de protéines en allant de l'albumen central vers l'albumen périphérique d'où provient la grande majorité de la semoule [11].

La teneur en protéines du couscous est de 12,46 % seulement. Elle dépend d'une part, des composants biochimiques présents dans la semoule de blé dur et d'autre part des conditions de fabrication.

En ce qui concerne le couscous enrichi en spiruline, une hausse significative du taux de protéines d'environ de 1 % est constatée avec 13,64 g pour celui préparé avec de la biomasse fraîche et de 13,51 g pour la spiruline séchée, rappelant que cette élévation en protéines est obtenue par l'incorporation de seulement un gramme de biomasse dans 100 g de semoule, ce qui atteste de l'efficacité de l'ajout d'un minimum de biomasse de spiruline pour augmenter le taux de protéine dans le produit fini.

### 3.4. Teneur en chlorophylles et caroténoïdes de la spiruline

La spiruline possède l'un des taux les plus élevés en pigments chlorophylliens que l'on puisse trouver dans la nature (env. 1 %). Elle ne dépasse pas cependant les niveaux de la chlorelle (2 à 3 %) qui est aussi une micro-algue très intéressante sur le plan nutritionnel.

Elle est aussi l'un des aliments les plus riches en  $\beta$ -carotène, présentant également un spectre large de 10 types de caroténoïdes différents dont la moitié est constituée de carotènes orangés ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) et l'autre moitié des xanthophylles.

Selon les résultats obtenus (Figure 13), on constate que la teneur en chlorophylle augmente en fonction du temps indiquant une activité photosynthétique importante visible à l'œil nu (accentuation de la couleur vert à bleu vert), avec un maximum de 9,44 mg/L observé au 10<sup>ème</sup> jour de croissance. La chlorophylle a, est le pigment le plus représenté avec un taux de 5,22 mg/L suivi du type b avec 2,34 mg/L et en fin la chlorophylle c, une valeur de 1,88

mg/L. Pour les caroténoïdes, l'augmentation atteint un maximum de 3,2 mg/L au 10<sup>ème</sup> jour.

La teneur de chlorophylle chez la spiruline testée est de 2600 mg/Kg de MS et de 300mg/kg MS de caroténoïdes, soit des valeurs inférieures comparées aux données rapportées par d'autres auteurs qui sont de 7600 mg de chlorophylles/kg de MS et de caroténoïdes 1900 mg/kg de MS [12].

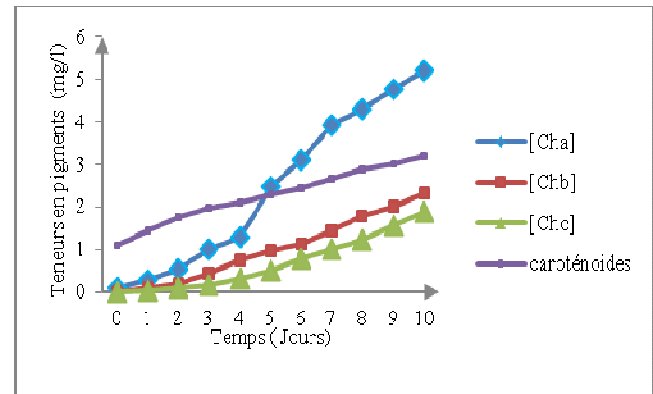


Fig. 11. Teneurs en pigments chez la spiruline

La mesure des pigments nous permet d'expliquer l'augmentation des indices de coloration du couscous à savoir l'indice de jaune (de 35,87 pour le témoin et 38,38 pour le couscous à la spiruline) et l'indice de brun (de 22,78 pour le témoin et 36,55 pour le couscous à la spiruline) cette dernière est due à la richesse de la spiruline en pigments chlorophylles, caroténoïdes et même en phycocyanines se traduisant par un changement de la couleur.

### 3.5. Teneur en glucides

En règle générale, les céréales sont des produits énergétiques riches en glucides qui se présentent sous une forme simple et complexe, le plus important est l'amidon qui est la substance énergétique par excellence.

Le tableau ci-dessous indique une similitude entre les taux des glucides dans le couscous enrichi mesurés respectivement à 71,87g et 71,51 g après addition de la spiruline fraîche ou sèche.

Tableau 3  
Teneur en glucides des échantillons étudiés

	Teneur en glucides (%MS)		
	Couscous Sans spiruline	Couscous enrichis	
		spiruline fraîche	spiruline séchée
Moyenne	71.42	71.87	71.51
Norme		73.59	



### 3.6. Teneur des lipides

Dans les échantillons de couscous testés, la quantité de lipides mesurée équivaut à 0,5 % qui reste proche de la norme (0,64 %) citée par Souccar [13].

Toutefois, plusieurs travaux [14] donnent une valeur de 5,6 à 7 % du poids sec de spiruline constitué de lipides. Or, les résultats obtenus montrent que les lipides dans la spiruline sont à l'état de traces difficilement mesurables.

### 3.7. Qualités nutritionnelles

La ration alimentaire est définie comme l'alimentation nécessaire à l'organisme pour ses dépenses pendant une durée de 24h. Pour établir sa composition rationnellement, il est nécessaire de connaître les besoins énergétiques d'un organisme donné.

Par exemple, pour un homme adulte ayant une faible activité physique, sa ration alimentaire moyenne sera d'environ 2400 Kcal/jour ( $\approx 10\,000$  K joules) [15].

Il est conseillé donc, de prendre trois repas par jour pour un apport énergétique reparti comme suit;

- 20 à 25 % de la ration alimentaire au petit déjeuner
- 40 à 45 % de la ration alimentaire au déjeuner
- 25 à 30 % de la ration alimentaire au dîner.

Deux principes sont à la base de cette évaluation:

- Toute part assimilée d'un aliment fournit un nombre de calories en rapport avec la quantité ingérée. L'essentiel des besoins énergétiques est assuré par les glucides et les lipides. Par contre l'utilisation des protéines est limitée à 8% des dépenses énergétiques totales.
- Les principaux constituants des aliments (protéines, graisses, hydrates de carbone, vitamines,...) peuvent généralement se substituer les uns aux autres (loi de l'isodynamie). Il s'ensuit que le nombre total de calories d'une denrée s'obtient directement par addition des valeurs caloriques des différents nutriments [15].

Le couscous est un aliment riche en glucides, en fibres, en phosphore et en vitamine B, mais pauvre en lipides, en sodium et en certains acides aminés essentiels tels que la lysine. Par contre sa richesse en amidon lui confère un apport appréciable en calories. Par ailleurs, la spiruline est considérée comme une excellente source de nutriments riche en acides aminés soufrés telles que la lysine et la méthionine.

En effet un gramme de spiruline peut couvrir les besoins énergétiques journaliers d'une personne, ce qui représente un gain de poids considérable et une valeur nutritionnelle très intéressante.

A titre d'exemple, prendre 2 cuillérées à thé (10 g) de spiruline, équivaut à peu près à  $\frac{1}{2}$  à 1 tasse de brocoli (pour

le fer), 1 carotte (pour les caroténoïdes) et à 1 œuf (pour les protéines).

Selon le tableau 4, l'enrichissement du couscous en spiruline a un effet positif sur sa qualité nutritionnelle menant à une augmentation de la valeur énergétique par rapport à l'enrichissement avec seulement 1% de la part protéinique apportée par la spiruline (résultat cité antérieurement).

Tableau 4  
Détermination de la valeur énergétique des échantillons étudiés

	Qualité nutritionnelle		
	Couscous artisanal sans spiruline	Couscous artisanal enrichi spiruline fraîche	Couscous artisanal enrichi spiruline séchée
Protéines totales	12,46 g	13,64 g	13,51g
Glucides totaux	71,42 g	71,87 g	71,52 g
Lipides totaux	0,50 g	0,52 g	0,52 g
Valeur énergétique	Valeur énergétique (kcal) = 4 glucides + 4 protéines + 9 lipides		
	340 kcal (1421 kJ)	346 kcal (1446 kJ)	344 kcal (1438 kJ)

Il demeure par ailleurs indispensable d'effectuer une analyse nutritionnelle supplémentaire après la cuisson du couscous enrichi afin de mesurer le degré d'altération des composants de la spiruline sous l'effet de la température.

La cuisson à la vapeur est réputée pour la conservation des vitamines et des sels minéraux. En général le couscous suit la même opération pour sa cuisson, une technique dans laquelle les aliments sont cuits non pas par la chaleur directe du feu, mais par celle de la vapeur produite par un liquide en ébullition, en général de l'eau ou du bouillon. Il est nécessaire de s'équiper d'un cuiseur à vapeur constitué d'un ou de plusieurs étages.

De ce fait, la cuisson ne détruit pas toutes les qualités de la spiruline. Cependant il faut savoir que la phycocyanine est détruite au-dessus de 70°C. en présence d'eau. Par contre l'acide gamma-linolénique n'est pas détruit lors de la cuisson (10 minutes à l'ébullition) d'un bouilli de sevrage à base de farines de céréales et de spiruline sèche, comme l'ont montré des essais faits par Dupire [16].

L'ajout de spiruline dans certains produits laitiers industriels a été envisagé, de même dans les aliments pour enfants, et depuis quelques années, une série de formulations de farines de sevrage contenant de la spiruline sont apparues dans divers pays comme la farine Xeweul au Sénégal, la farine SOSPISOMA en République Démocratique du Congo ou encore la farine MISOLA au Burkina-Faso [17].

L'essai le plus probant reste évidemment celui des populations consommant traditionnellement de la spiruline, comme les Kanembous du Tchad [18].

Cette étude implique aussi une différenciation des deux produits obtenus (spiruline fraîche et séchée) sur le plan.

La spiruline fraîche est environ deux fois plus efficace que la spiruline séchée et trois fois plus que la spiruline séchée et cuite. Elle est plus digeste et plus riche en certains éléments actifs comme le bêta-carotène, la phycocyanine, l'acide gamma linoléique et le fer assimilable [5].

Le conditionnement du couscous enrichi présente aussi un effet sur sa qualité nutritionnelle à long terme, car la spiruline présente un phénomène de bleuissement après une forte exposition à la lumière, en effet la chlorophylle est vite détruite par des réactions photochimiques, la couleur bleue de la phycocyanine apparaît alors comme dominante. Préserver de la lumière et de l'oxydation la spiruline ne perd que très peu de sa valeur nutritionnelle, même après 4 ans de stockage.

Le couscous doit être emballé pour la vente au détail dans des récipients de nature à préserver les qualités hygiéniques, nutritionnelles et technologiques du produit.

Les récipients, y compris les matériaux d'emballage doivent être fabriqués avec des substances sans danger et convenant à l'usage auquel ils sont destinés, ne doit pas transmettre des substances toxiques, d'odeur ou saveur indésirable au produit. Les dispositions spécifiques du nom du produit à déclarer sur l'étiquette doivent être bien visibles.

De ce fait le choix d'un emballage pour le couscous enrichi en Spiruline doit être conforme aux normes.

### 3.8. Qualités organoleptiques

L'appréciation de la qualité culinaire des différents échantillons de couscous étudiés est résumée au niveau du tableau 5.

Tableau 5  
Appréciation de la qualité culinaire des différents échantillons de couscous étudiés

appréciations du jury (%)			Types
Couscous spiruline fraîche	Couscous spiruline sèche	Couscous sans spiruline	
70	70	70	Aspect extérieur
64	80	70	Couleur
70	80	70	Aspect intérieur
64	84	64	Odeur
84	84	56	Texture
76	98	70	Saveur
Saveur et odeur très forte rappelant celle de la micro algue, non collant, acceptable	Produit très agréable du point de vue aspect extérieur, couleur très apprécié	Très agréable, léger, sans saveur	Conclusion

Le test de dégustation effectué sur les différents échantillons du couscous à l'état cuit par le jury nous a permis de conclure que l'apprétabilité du couscous enrichi par la spiruline ne fait pas défaut par sa couleur ni par son odeur légèrement accentuée en rappelant le goût et la saveur des plats de couscous préparés à base de poissons très appréciés dans l'Est Algérien. De même pour certains dégustateurs, la couleur ne risque pas d'influencer le choix du consommateur puisque il existe une gamme très riche sur le marché algérien de couscous de couleur plus foncée (couscous Lahlou) très appréciés depuis leur commercialisation.

La spiruline fraîche ne présente pratiquement aucun arôme et aucun goût; il n'en va pas de même de la spiruline séchée (surtout si elle est réduite en poudre) [21]. Son odeur spécifique rappelle l'algue et le champignon, fort heureusement, il a été démontré que l'acceptabilité alimentaire est excellente lorsque l'on s'adresse aux enfants en bas âges pour des doses de quelques grammes par jour lorsqu'elle est introduite dans des formulations basées sur des aliments traditionnels. De ce principe, l'apprétabilité des deux produits finis diffère d'une personne à une autre selon les goûts et les couleurs de chacun [22, 23].

## 4. Conclusion

L'objectif principal de ce travail porte sur l'étude des effets de l'incorporation de la spiruline dans la semoule de blé dur pour l'obtention d'un couscous enrichi. L'appréciation de ce dernier se manifeste dans ses propriétés nutritionnelles, technologiques et organoleptiques. En effet, les résultats obtenus sont satisfaisants et en accord avec les retombées attendus puisque les données ont permis de prendre en considération tous les paramètres essentiels pour l'obtention d'un nouveau produit très riche en nutriments tout en gardant les mêmes caractéristiques du couscous traditionnellement consommé par les populations du monde entier.

L'aspect nutritionnel représente un facteur primordial dans cette étude. En effet, le déficit constaté en protéines particulièrement en lysine peut être comblé par l'addition de la spiruline, Les calculs des valeurs énergétiques ont permis de noter une différence entre le couscous simple et celui enrichi en spiruline en tenant compte du taux d'incorporation de 1 g de spiruline pour 100 g de semoule (1 %).

Par ailleurs, nous avons constaté, au moment de la préparation du couscous, une viscosité élevée de la spiruline ce qui peut contribuer à la formation de grumeaux et induire une élévation de la prise de masse.

De plus, les essais pratiqués dans ce travail ont aussi porté sur la comparaison entre un couscous fabriqué à base de spiruline fraîche et celui préparé avec une biomasse sèche.

La campagne de dégustation reflète les goûts d'une minorité de personnes, connaisseurs en la matière, a permis de conclure que la présence d'une couleur verte ou/et une odeur rappelant les produits de la mer, pourrait être un critère de taille pour que le nouveau produit puisse trouver une place de choix dans les repas quotidiens des populations.

Au vu des résultats obtenus, on peut conclure que l'introduction et l'association de la spiruline dans le couscous a été une opération satisfaisante et encourageante. Il serait donc souhaitable de poursuivre les recherches dans ce domaine et réaliser entre autres perspectives:

- L'industrialisation du couscous enrichi par la spiruline tout en validant sa qualité nutritionnelle et technologique, complétée par des essais et des analyses plus précis (analyse des acides aminés, analyses nutritionnelles après cuisson.....).
- L'élargissement du champ de production et promouvoir l'utilisation de la spiruline en Algérie par son incorporation dans d'autres produits alimentaires, tels que les biscuits, les pâtes, les galettes de pain,....
- L'implication de la spiruline dans l'industrie agroalimentaire afin de garantir un libre accès à une nourriture plus saine et moins coûteuse et envisager la création de fermes de production utilisant d'autres micro-algues à haute valeur nutritionnelle dans le but de lutter contre la malnutrition dans le monde.
- Envisager une culture de spiruline 100 % naturelle permettant d'avoir des produits biologiques sains et de minimiser l'utilisation des produits de synthèse.

## Notes

En fonction du principe de la méthode utilisée, la protéine de référence c'est BSA mais son non disponibilité au moment de la manipulation, a conduit à utiliser une autre pour la préparation des courbes d'étalonnages (le jaune d'œuf).

SOSEMIE est une marque déposée.

## Références bibliographiques

- [1] W. Hamroun - *Etat d'infestation de quelques régions céréalières d'Algérie*. Thèse de Magister, INA, El-Harrach, (2006) 120 p.
- [2] M. J. Paniagua, E. Dujardin et C. Sironval - Concentré de spirulines source de protéines comestibles chez les Aztèques. *Cahiers de l'Agriculture*, 2 (1993): 283 - 287.
- [3] J. Flaquet et J.-P. Hurni - *Aspect nutritionnels de la spiruline*. Antenna Technologies, Genève. (2006) 41 p.
- [4] S. Chader, T. Mila, A. Rabhi, A. Chegrane, H. Rahmoun et N. Chibane - *Sélection des Souches locales de microalgue d'intérêt industriel*. Rapport interne projet 6/7 CNRPDA / MPRH. Algérie (2009).
- [5] J. P. Jourdan - *Cultivez votre Spiruline. Manuel de culture artisanale pour la production de la spiruline*. Publication Antenna Technologies (dernière mise à jour 1/3/2006) (2006).
- [6] A. Sanchez Miron, M.-C. Ceron Garcia and A. Contreras Gomez - Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricoratum* in quasi-steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors. *Biochem. Eng.*, 16 (2003): 287 - 297.
- [7] A. Bechagara - *Culture de micro-algue*. Mémoire d'études universitaires appliquées (D.E.U.A.) en aquaculture, I.S.M.A.L., Alger, (1997) 89 p.
- [8] M. Bradford - A Rapid and Sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72 (1976): 248 - 254.
- [9] Y. Le Borgne - La culture des micro-algues. In: *Aquaculture I* (Technique et Documentation ed), Paris, (1986) 181 - 192.
- [10] L. Guezlane - *Mise au point de méthodes de caractérisation et études des modifications physico-chimiques sous l'effet de traitements hydro-thermiques en vue d'optimiser la qualité du couscous du blé dur*. Thèse de Doctorat d'état, INA, El-Harrach, (1993) 89 p.
- [11] E. Houliaropoulos, J. Abecassis et J. C. Autran - Produits de mouture du blé dur: coloration et caractéristiques culinaires. *Industries des Céréales*, 12 (1981): 3 - 13.
- [12] J. C. Palla et F. Busson - Etude des caroténoïdes de *Spirulina platensis* (Gom.) Geitler (Cyanophycées). *C.R. Acad. Sc.*, Paris, 269 (1969): 1704 - 1707.
- [13] T. Souccar A. Periault, P. Trembalais, N. Elvir, V. Molean - la nutrition. Edi Axis Media (1992) [www.Lanutrition.fr/aliments-index.php](http://www.Lanutrition.fr/aliments-index.php) Consulté le 10/04/2010.
- [14] E. Bujard, U. Braco, J. Mauron, F. Mottu, A. Nabholz, J. J. Wuhrmann et G. Clement - Composition and nutritive value of blue-green algae (spirulina) and their possible use in food formulations. 3rd International Congress of Food Science and Technology, Abstracts. Washington. (1970).
- [15] N. Boisseau et X. Bigard - *Nutrition et bioénergie du sportif; Base fondamentale*. Ed. Masson. Paris, (2005) 217 p.
- [16] J. Dupire - *Objectif: malnutrition*. Ed. Similia, Paris, (1998) 224 p.
- [17] J. Simpore, F. Kabore, F. Zongo, D. Dansou, A. Bere, S. Pignatelli, D. M. Bodi, G. Ruberto and S. Musumeci - Nutrition rehabilitation of undernourished children utilizing *Spirulina* and *Misola*. *Nutrition journal*, 5 (2006): 475 - 481.
- [18] F. Delpeuch, A. Joseph et C. Cavelier - Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (*Oscillatoria platensis*) chez quelques populations du Kanem (Tchad). *Ann. Nutr. Aliment.*, 29 (1975): 497 - 515.
- [19] A. Belay - *Mass culture of Spirulina outdoor - The earthrise farms experiences*. In Vonshak A., ed. *Spirulina platensis, Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor and Francis, New York, (1997) pp. 131 - 158.
- [20] Codex Stan 202., 1995. Recueil des Normes Codex pour le couscous de Blé dur. Consulter le 12.04.2010 [www.codexalimentarius.net](http://www.codexalimentarius.net).
- [21] H. Degbey, H. Boureima et H. Oumarou - Evaluation de l'efficacité de la supplémentation en spiruline du régime habituel des enfants atteints de malnutrition sévère. *Colloque international «Les Cyanobactéries pour la Santé, la Science et le Développement»*, Île des Embiez, 3 - 6 mai 2004 (2004).
- [22] A. Doumandji, communication personnelle, 2010 - Etude de l'impact de l'incorporation de la spiruline sur les propriétés nutritionnelles, technologiques et organoleptiques du couscous artisanal. 6<sup>èmes</sup> journées scientifiques de la Société Tunisienne de Microbiologie, Hammamet, 22-24 octobre 2010.
- [23] A. Doumandji, communication personnelle, 2010 - Caractérisation nutritionnelles, technologiques et organoleptiques d'un couscous artisanal enrichi en spiruline, Journées d'études sur les Sciences de la Nature et de la Vie Béjaia, 06 et 07 décembre 2010.