

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Abdelhamid ibn Badis de Mostaganem

جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Spécialité : agroalimentaire contrôle de qualité

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de :

MASTER

Thème

Effet de l'incorporation de microalgues (*Spirulina platensis* et *Chlorella vulgaris*) sur la valeur nutritionnelle, la couleur et les propriétés sensorielles des fromages frais.

Présenté par

BELALIA Fouzia

Dirigé par

Pr. BENABDEMOUMEN Djilali

Devant le Jury

-M^r Chaalel Abdelmalek

Pr

Président

Université de Mostaganem

-M^{me} Sisbane Ismahane

M.C.A

Examinatrice

Université de Mostaganem

-M^r Benabdemoumen Djilali

Pr

Encadreur

Université de Mostaganem

Année universitaire : 2025-2026

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce projet.

Je tiens à remercier tout particulièrement mon promoteur/ma promotrice, "Benabed Elmoumen Djilali", pour sa précieuse orientation, sa patience, ses conseils judicieux et la confiance qu'il/qu'elle m'a accordée tout au long de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également aux membres du jury pour l'honneur qu'ils me font en acceptant d'évaluer ce modeste travail.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance aux responsables et au personnel des laboratoires de [alimentaire de ait saada et biologie animale/département Sciences alimentaires], ainsi qu'à l'ensemble de l'administration de l'Université Université Abed Elhamid Ibn Badis pour les facilités offertes et l'accueil chaleureux qui m'a été réservé durant ma recherche.

Enfin, merci à tous ceux qui, par un mot, un sourire ou un geste, ont contribué à la réussite de ce parcours.



2026

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents qui m'ont beaucoup soutenu et encouragé jusqu'au bout, et que Dieu leur accorde une longue vie.

Mes grands-parents ; Aisha et adjel

Mes frères et Mes sœurs : Haffsa madjda

Mes oncles, mes tantes et Imad larbaoui

Mes amies,

Je dédie aussi à technicien de laboratoire Fatima Damen et Nassima et Madame Sisbane et Ait Chaabane et Monsieur Ait Saada.

que je souhaite le bonheur et le succès à sa vie.

En fin je dédie à tous ceux qui m'ont connu de près ou de loin.

Belalia Fouzia



RÉSUMÉ

Résumé

Ce travail de recherche est axé sur la conception et la caractérisation d'un fromage frais au lait de vache, enrichi par l'incorporation de deux microalgues à fort potentiel : la spiruline et *Chlorella vulgaris*.

Au laboratoire, la fabrication des différents lots de fromages a été suivie d'un protocole d'analyses complet. Les contrôles physico-chimiques notamment le suivi de la cinétique du pH ont permis de mesurer l'impact de l'ajout d'algues sur la dynamique d'acidification et les propriétés de la pâte. En parallèle, l'évaluation microbiologique via le dénombrement de la flore totale a servi à valider la conformité hygiénique des essais, tout en observant le comportement des souches lactiques en présence de ces biomasses. Enfin, une série d'épreuves sensorielles menées auprès d'un panel a permis d'évaluer l'acceptabilité globale du produit à travers l'analyse de ses attributs visuels, olfactifs et gustatifs.

Mots-clés: Fromage frais, lait de vache, Spiruline, *Chlorella vulgaris*, microalgues, ferments lactiques mésophiles, présure, pH, flore totale, analyse sensorielle.

Abstract

This research focuses on the development and characterization of a fresh cow's milk cheese enriched with two high-potential microalgae: **Spirulina** and **Chlorella vulgaris**.

In the laboratory, the production of the various cheese batches was followed by a comprehensive analysis protocol. Physicochemical assessments—specifically monitoring pH kinetics—made it possible to measure the impact of algae addition on acidification dynamics and curd properties. Concurrently, microbiological evaluation via total flora counts served to validate the hygienic compliance of the trials while observing the behavior of lactic acid bacteria strains in the presence of these biomasses. Finally, a series of sensory tests conducted with a panel assessed the product's overall acceptability by analyzing its visual, olfactory, and taste attributes.

Keywords: Fresh cheese, cow's milk, *Spirulina*, *Chlorella vulgaris*, microalgae, sensory analysis.

ملخص

يركز هذا البحث على تصميم وتوصيف جبن طازج مصنوع من حليب البقر، مُدعم بنوعين من الطحالب الدقيقة عالية الفعالية: سبيروлина وكلوريل فولغاريس.

في المختبر، تم اتباع بروتوكول تحليلي شامل أثناء إنتاج دفعات مختلفة من الجبن. سمحت الضوابط الفيزيائية والكيميائية، بما في ذلك مراقبة حركية الرقم الهيدروجيني، للباحثين بقياس تأثير إضافة الطحالب على ديناميكيات التخمض وخصائص الجبن. في الوقت نفسه، استُخدم التقييم الميكروبيولوجي من خلال تعداد البكتيريا الكلية للتحقق من مطابقة الاختبارات للمعايير الصحية، مع مراقبة سلوك بكتيريا حمض اللاكتيك في وجود هذه الكتلة الحيوية. أخيرًا، سمحت سلسلة من الاختبارات الحسية التي أُجريت مع مجموعة من المشاركين للباحثين بتقييم القبول العام للمنتج من خلال تحليل خصائصه البصرية والشمية والذوقية.

الكلمات المفتاحية: جبن طازج، حليب بقر، سبيروлина، كلوريل فولغاريس، طحالب دقيقة، تحليل حسي.

Table de Matière

Résumé

Table de Matière

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 02

Chapitre I : Généralités sur le lait et le fromage frais

I .1. Généralité sur le lait..... 04

I.1.1. Définition de lait 04

I.1.2. Composition physico-chimique du lait 04

I.1.3. Composition générale de lait de vache 07

I.1.4. Caractéristiques microbiologiques du lait..... 07

I.2. Généralité sur le fromage..... 07

I.2.1. Définition du fromage frais..... 09

I.2.2. Composition du fromage frais..... 09

I.2.3. Caractéristique du fromage frais 10

I.2.4. Procédé de fabrication de fromage frais 11

Chapitre II : Les microalgues alimentaires

II.1. Définition de microalgues 13

II.2. Classification des microalgues 13

II.3. Intérêt nutritionnelle..... 15

II.4. Spirulina platensis 16

II.4.1. Composition de Spirulina platensis..... 16

II.4.2. Activités biologiques d' <i>Arthrospira platensis</i>	16
II.5. <i>Chlorella vulgaris</i>	16

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Objectif de l'étude	19
III.2. Fabrication des fromages frais	19
III.3. Formulation des traitements expérimentaux	21
III.4. Analyses physico-chimiques et instrumentales	21
III.5. Analyses microbiologiques	23
III.6. Analyse sensorielle	24
III.7. Analyse statistique	25

Chapitre III: Résultats et Discussion

III.1. Résultats et discussion	28
III.1.1. Effet des microalgues sur le pH et la matière sèche	28
III.1.2. Effet de l'enrichissement sur les bactéries lactiques cultivables.....	30
III.1.3. Acceptabilité sensorielle	31
III.1.4. Intégration des réponses physico-chimiques, microbiologiques et sensorielles	34
III.1.5. Implications pour l'optimisation de la formulation.....	34
III.1.6. Robustesse et limites de l'interprétation	35
III.1.7. Conclusion intégrative des résultats	36
III.1.8. Analyse de corrélation entre les paramètres physico-chimiques et microbiologiques	36
III.1.9. Discussion générale	39
Conclusion	45

Bibliographie

Liste Des Tableaux

Chapitre I: Généralités sur le fromage frais

Tableau I.1 : Composition lipidique du lait..... 05

Tableau I.2 : Composition générale du lait de vache. 07

Tableau I.3: Composition moyenne pour 100 g de fromage frais 10

Chapitre II: Les microalgues alimentaires

Tableau II.1 : Classification des microalgues 14

Tableau II.2 : compositions biochimiques de différentes micro-algues 15

Chapitre III: Résultats et Discussion

Tableau III.1 : pH et matière sèche des fromages frais enrichis en spiruline ou chlorelle. .
.....28

Tableau III.2 : Population de bactéries lactiques cultivables présumées dans les différentes formulations de fromage frais. 30

Tableau III.3 : Scores sensoriels descriptifs du fromage témoin et des fromages contenant de la spiruline ou de la chlorelle. 32

Tableau III.4 : Corrélations de Pearson entre le niveau d'incorporation et les principales caractéristiques des fromages frais. 37

Liste d'abréviation

AA	Acides aminés
ANC	Apports nutritionnels conseillés
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
MRS	De Man, Rogosa et Sharpe (milieu de culture) — expansion conventionnelle, non explicitée dans le document
MS	Matière sèche
OMS	Organisation mondiale de la Santé
UFC	Unités formant colonies
UI	Unités internationales
g	Gramme
mg	Milligramme
mL	Millilitre
L	Litre
°C	Degré Celsius
%	Pourcentage
pH	Potentiel hydrogène
UFC/g	Unités formant colonies par gramme
min	Minute
h	Heure
µm	Micromètre
λ	Longueur d'onde

INTRODUCTION

Dans le contexte actuel des industries agroalimentaires, la demande des consommateurs pour des produits à la fois nutritionnellement denses et bénéfiques pour la santé ne cesse de croître. Le marché des « aliments fonctionnels » connaît une expansion rapide, où le fromage frais, en raison de sa consommation quotidienne et de sa matrice nutritive, s'impose comme un vecteur privilégié d'innovation. Parallèlement, la recherche scientifique se tourne vers des ressources durables et innovantes, plaçant les microalgues, telles que *Spirulina platensis* et *Chlorella vulgaris*, au cœur des stratégies d'enrichissement alimentaire.

Ces micro-organismes se caractérisent par un profil nutritionnel remarquable, qui est riche en protéines intégrales, en acides gras indispensables, en vitamines et en éléments antioxydants. Cependant, l'inclusion de ces algues dans une matrice laitière complexe dépasse un simple enrichissement nutritionnel ; elle représente un véritable challenge technologique. L'intégration de ces poudres peut provoquer des changements structuraux, physico-chimiques et microbiologiques significatifs. Cela peut influencer non seulement la viabilité des ferments lactiques, indispensables à la coagulation, mais aussi les caractéristiques organoleptiques comme la couleur, la texture et le profil aromatique du produit final.

Cette recherche se concentre sur l'évaluation de l'effet de l'ajout de *Spirulina platensis* et de *Chlorella vulgaris* sur la qualité globale d'un fromage frais. Le défi est bicéphale : d'une part, il s'agit d'assurer la stabilité microbiologique des échantillons en suivant des protocoles stricts de comptage sur milieu sélectif MRS (recourant à la méthode d'ensemencement de surface de 0,1 ml) et, d'autre part, d'évaluer l'acceptabilité sensorielle de ces nouvelles formulations par un groupe de dégustateurs.

À travers ce travail, nous tenterons de répondre à la problématique suivante : comment allier l'amélioration nutritive par le biais des microalgues à la qualité technologique et sensorielle requise pour un fromage frais ? L'objectif de cette étude est donc de prouver la viabilité technique de ces nouvelles préparations et d'examiner leur perspective en tant que produits laitiers fonctionnels, tout en fournissant une explication scientifique de l'interaction entre les microalgues et les bactéries lactiques dans la matrice du fromage.

CHAPITRE I

Généralités sur le lait et le fromage frais

I.1. Généralité sur le lait

I.1.1. Définition de lait

Le lait, un fluide biologique de couleur opaque blanc matte, légèrement jaunâtre en fonction de sa teneur en graisses et en bêta-carotène, et doté d'une odeur plutôt discrète et d'un goût agréable, est produit par les glandes mammaires des femelles mammifères à la suite de la naissance de leur progéniture. **(Boukhalfa, 2019)**

Le lait est un produit naturel sécrété par les mammifères, à la fois aliment et boisson, il a donc un grand intérêt nutritionnel et se prête à de nombreuses applications culinaires, industrielles et technologiques. Notons que le terme « lait » sans aucun autre qualificatif est réservé au lait de vache. L'origine du lait doit donc être spécifiée s'il ne provient pas de l'espèce bovine (lait de chèvre, lait de brebis, etc..). **(Zahri et Boufarrad, 2025)**

Lors du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève en 1908, une définition du lait a été établie : « Le produit complet de la traite continue et sans interruption d'une femelle laitière en bonne santé, bien alimentée et non épuisée. » « Le lait doit être collecté de manière propre et ne doit contenir aucun colostrum ». **(POUGHEON, 2001)**

Du point de vue physico-chimique, le lait n'est pas un simple liquide, mais un système complexe. Il est défini comme une émulsion de matière grasse (globules gras) dans une phase aqueuse, contenant également une suspension colloïdale de protéines (notamment les micelles de caséine) et une solution vraie de lactose, de sels minéraux et de vitamines.

I.1.2. Composition physico-chimique du lait

Le lait est un liquide biologique complexe contenant un mélange équilibré de nutriments essentiels nécessaires à la croissance et au développement. Chimiquement, il se compose d'une émulsion de matières grasses et de particules protéiques en suspension dans une phase aqueuse comprenant des glucides, des sels minéraux et des vitamines.

I.1.2.1. Eau

L'eau représente l'environnement où tous les autres éléments du lait (matières sèches totales) sont soit dissous, soit en suspension. Selon les espèces de vaches, le pourcentage

d'eau peut fluctuer entre 85,4 % et 87,7 %. Une petite partie de cette eau est associée au lactose et aux sels, tandis qu'une autre portion est attachée aux protéines. (Helaimia et Zairi, 2025)

I.1.2.2. Matière grasse

Les matières grasses du lait se compose principalement de triglycérides, de phospholipides et une fraction insaponifiable qui est majoritairement composée de cholestérol et de β -carotène. Le tableau N° 1 présente les proportions des divers composants de la fraction lipidique du lait. (Azizi et al., 2022)

Tableau I.1 : Composition lipidique du lait

Constituants	Proportions de lipides du lait
Triglycérides	98
Phospholipides	01
Fraction insaponifiable	01

I.1.2.3. Glucides

Ce sont les constituants les plus importants quantitativement après l'eau. Ils représentent environ 38% de matière sèche. Le sucre principal du lait est le lactose, c'est un disaccharide constitué par de l' α ou β -glucose uni à du β -galactose; le lactose est fermentescible par de nombreux microorganismes, celui-ci est à l'origine de plusieurs type de fermentation pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers. (Mohammed Cherif, 2020)

I.1.2.4. Les matières azotées

Il représente chez la vache 5% de l'azote total du lait. Il est essentiellement constitué par l'urée (33 à 79% de l'azote non protéique du lait). On y trouve également et par ordre d'importance les acides aminés, l'acide urique, l'ammoniac, la créatinine. Il y a une corrélation étroite entre la teneur en urée du lait et celle du sang. (Attari, 2019)

I.1.2.5. les protéines

Les protéines représentent 95% des matières azotées et sont constituées soit des AA (β lactoglobuline, α lactalbumine), soit des AA et d'acide phosphorique (la caséine α et β). Le 5% restant sont constituées de peptone et de l'urée, les classements des protéines se font selon deux catégories: **(Beddif et Belghazi, 2021)** Leur solubilité dans l'eau, Leur stabilité

I.1.2.6. Minéraux

Après incinération, la proportion de minéraux présents dans le lait fluctue entre 0.60 et 0.90 %. Ils prennent plusieurs formes ; ce sont le plus souvent des sels, des bases, des acides. Outre les éléments principaux, d'autres sont également présents en quantités minimes, comme le soufre dans les protéines, ainsi que les oligoéléments suivants, qui se trouvent à des concentrations faibles ou à l'état de trace : manganèse, bore, fluor, silicium, molybdène, cobalt, baryum, titane, lithium et certainement quelques autres. **(Aissaoui et Fecih, 2022)**

I.1.2.7. Vitamines

Il s'agit de composés essentiels à des concentrations modestes dans les régimes alimentaires des humains et des animaux pour encourager la croissance des jeunes. Ils sont cruciaux pour permettre aux jeunes et aux adultes de mieux fonctionner physiquement, d'assurer une bonne nutrition, un équilibre mental sain, une vision performante et une reproduction efficace. Ces substances sont d'une importance capitale pour préserver la santé et la vitalité. L'absence ou le manque de vitamines dans l'alimentation conduit à des maladies organiques connues sous le nom d'avitaminoses ou de pathologies par carence. On peut les séparer en deux catégories selon leur capacité à se dissoudre dans divers milieux : **(Hamlaoui, 2020)**

a. Les vitamines liposolubles

Les vitamines liposolubles sont des substances solubles dans les graisses. Ce groupe comprend notamment la vitamine A (également appelée Axérophthol), la vitamine D ainsi que la vitamine E.

b. Les vitamines hydrosolubles

Les vitamines hydrosolubles regroupent l'ensemble des vitamines solubles dans l'eau. On y retrouve le complexe de vitamines B, constitué de la vitamine B1 (thiamine ou aneurine), la vitamine B2 (riboflavine), la vitamine B3 ou P.P (acide nicotinique, son amide ou niacine), la vitamine B6 (pyridoxine) et la vitamine B12 (cobalamine), ainsi que la vitamine C (acide ascorbique).

I.1.3. Composition générale de lait de vache

Le lait de vache est une substance complexe dont la composition chimique détermine ses propriétés nutritionnelles et technologiques. Le tableau suivant présente une analyse détaillée des principaux constituants du lait, incluant les phases liquides, les matières grasses, les glucides, ainsi que les éléments azotés et enzymatiques.

Tableau I.2 : Composition générale du lait de vache. (Langlois-Deshaies, 2022)

Constituants	Description	Composition (%)
Eau	Phase liquide	85,5 - 90,2
Matières grasses	Microgouttelettes de matières grasses	3,8
Glucides	Lactose	4,7 - 4,9
Constituants azotés	Caséines, protéines du lactosérum, constituants non protéiques	3,3 - 3,4
	Protéines dites solubles (lactoferrine)	0,6
Divers	Enzymes (lactopéroxydase, lysozyme, etc.)	traces

I.1.4. Caractéristiques microbiologiques

Le lait, même issu d'une traite réalisée dans des conditions standards de propreté et d'hygiène, contient de multiples germes dont la prolifération rapide est favorisée par sa température de sortie de la mamelle (35°C), ainsi que par sa haute teneur en eau et en glucides.

On distingue dans le lait les microorganismes en deux catégories majeures, en fonction de leur impact : la flore indigène ou originale et la flore de contamination. **(Saïdia et Khelaifia, 2024)**

I.1.4.1. Flore indigène

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). Cette flore se définit comme l'ensemble des microorganismes qui se retrouvent dans le lait à la sortie du pis, il devrait contenir moins de 5000 UFC/ml, les principales flores sont Micrococcus 30-90%, Lactobacillus 10-30%, Streptococcus et Lactococcus < 10. **(Benallegue et Debbeche, 2015)**

I.1.4.2. Flore de contamination

Le lait au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de microorganismes.

Un nombre limité d'entre eux peut se reproduire dans le lait si les conditions de température sont optimales et le milieu favorable. Cela aboutit à ce que la composition de la flore microbienne présente dans le lait cru est à la fois complexe et sujette à variations entre les différents exemplaires, ainsi qu'en fonction de l'âge du lait. Elle comprend une flore d'altération et une flore pathogène. Clostridium sp et Staphylococcus aureus sont les principaux micro-organismes responsables de la contamination. **(Kourghli et Hadj Ammer, 2018)**

I.2. Généralité sur le fromage

I.2.1. Définition du fromage frais

Le fromage, un produit à base de lait, est obtenu par la coagulation intégrale ou partielle de ce dernier. Bien que tous les types de lait soient aptes à la fabrication du fromage, c'est le lait de vache qui est le plus souvent employé, bien qu'il soit également possible d'utiliser du lait de brebis, de chèvre, de buffle et d'autres mammifères, grâce à une série d'enzymes coagulantes connues sous le nom de présure. Le caillé, qui est la source du fromage, reste après la suppression partielle du lactosérum. **(Cheref et Cherifi, 2023)**

Sur le plan technologique, le fromage frais se distingue principalement par son mode de coagulation, qui est majoritairement lactique (acide) induit par l'acidification bactérienne, bien qu'une faible dose de présure puisse être ajoutée. De plus, il se caractérise par une teneur en eau très élevée (généralement supérieure à 70-80% dans le produit fini) et une absence totale de croûte, ce qui explique sa texture molle et sa conservation limitée au froid.

D'après la norme Codex Alimentarius (CODEX STAN 221 – 2001 pour les fromages non affinés, y compris les fromages frais) et la norme internationale FAO/OMS A-6 (1978, mise à jour en 1990), le fromage frais, ou non affiné, est un fromage qui peut être consommé peu de temps après sa production. **(Mezarja, 2018)**

Le fromage frais est un fromage non affiné à pâte molle, extrêmement moelleux et faiblement minéralisé. Il possède une subtile saveur crémeuse ou acide, se tartine aisément et se mélange bien avec d'autres aliments. **(Djaballah et al., 2022)**

I.2.2. Composition du fromage frais

Le fromage constitue une matrice alimentaire d'une grande densité nutritionnelle, regroupant des protéines, des lipides, des vitamines et des minéraux essentiels. Cette diversité englobe aussi des molécules aux propriétés fonctionnelles, tel que les peptides bioactifs et les acides aminés libres.

La composition du fromage frais varie en fonction de la composition du lait utilisé et de la technologie employée.

Tableau I.3: Composition moyenne pour 100 g de fromage frais (Menassel, 2019)

Composition	Teneur
Eau (g)	79
Energie (kcal)	118
Glucides (g)	4
Lipides(g)	7.5
Protéines (g)	8.5
Calcium (mg)	100
Phosphore (mg)	140
Magnésium (mg)	10
Potassium (mg)	130
Sodium (mg)	40
Zinc (mg)	0.5
Vitamine A (UI)	170

I.2.3. Caractéristique du fromage frais

Un fromage à pâte fraîche a une texture molle granuleuse ou lisse, crémeuse et veloutée. C'est un fromage peu égoutté caractérisé par une teneur très élevée de l'humidité et une teneur de 60 à 80% de la matière grasse.

Le fromage blanc (frais), reconnu pour offrir tous les bienfaits du lait. Il se compose d'un seul ingrédient : le lait. Il présente un taux d'humidité important oscillant entre 80 et 90%, la substance non aqueuse restante étant constituée de glucides, protéines et lipides, ainsi que des micronutriments.

Il possède donc des niveaux intéressants de divers minéraux qui aident à satisfaire une portion des besoins nutritionnels recommandés : Calcium, 123mg/100g (14% de l'apport

nutritionnel conseillé d'un adulte), Potassium, 124mg/100g, Phosphore, 104mg/100g (14% de l'ANC d'un adulte), Iode, 10µg/100g (7% de l'ANC d'un adulte). **(Ibrahim, 2023)**

I.2.4. Procédé de fabrication de fromage frais

Les principales étapes de fabrication sont la pasteurisation, coagulation, égouttage, moulage et sont présentés ci-dessous: **(Ibrahim, 2023)**

- a) **La pasteurisation:** La pasteurisation du lait pendant quelques minutes qui permet notamment de détruire les germes pathogènes.
- b) **Coagulation (caillage):** La coagulation du lait correspond à une déstabilisation de l'état micellaire originel de la caséine du lait. Dans la pratique, cette déstabilisation est réalisée de deux manières : Par voie enzymatique à l'aide d'enzymes coagulantes, en particulier la présure ; Par voie fermentaire à l'aide de bactéries productrices d'acide lactique se trouvant naturellement dans le lait et/ou apportées sous forme de ferments. Les mécanismes d'action de ces deux agents coagulants au niveau de la micelle sont très différents. Bien qu'ils conduisent tous deux à la formation d'un coagulum (gel ou caillé), les propriétés rhéologiques de ce dernier restent caractéristiques du mode de coagulation. Dans les techniques fromagères classiques, les deux modes de coagulation ne sont jamais utilisés séparément, seule varie l'importance relative de leurs actions coagulantes respectives.
- c) **Egouttage et moulage :** Lors de l'égouttage l'état de gel est physiquement instable. La phase dispersante se sépare spontanément du coagulum sous forme de lactosérum. Cette séparation s'accompagne d'une ségrégation des différents composants originels du lait : la plus grande partie de l'eau, du lactose, une petite fraction de la matière grasse et des protéines sont éliminées par le sérum. La plus grande partie des protéines et de la matière grasse est retenue dans le coagulum dont l'extrait sec croît progressivement à mesure de l'élimination de sérum. **(Ibrahim, 2023)**

CHAPITRE II

Les microalgues alimentaires

II.1. Définition de microalgues

Les microalgues sont des microorganismes eucaryotes qui réalisent la photosynthèse, signifiant qu'elles possèdent un noyau, contrairement aux Cyanobactéries qui sont des microorganismes procaryotes (sans noyau). On utilise le préfixe « micro » pour désigner leur taille, qui fluctue de quelques micromètres à une centaine de micromètres. Dans certains travaux littéraires, on emploie parfois l'expression « microalgue » pour faire référence aussi bien aux microalgues eucaryotes qu'aux Cyanobactéries. **(Gaignard, 2019)**

On les retrouve partout sur Terre : des deux tiers de la surface terrestre occupés par les océans aux glaces de l'Arctique, sans oublier les lacs sursaturés en sel, les neiges éternelles, les forêts humides et les murs des habitations. Le phytoplancton, qui englobe les microalgues et les bactéries phototrophes, contribue pour la moitié à la production primaire globale et a donc un rôle prépondérant dans la captation du dioxyde de carbone atmosphérique. **(Khettab et Toumi, 2020)**

II.2. Classification des microalgues

La classification des microalgues était initialement basée sur la chimie de la paroi cellulaire, l'organisation des thylakoïdes membranaires et des chloroplastes, la composition des pigments et l'ultrastructure. Seize classes de microorganismes ont été considérées, mais de nombreuses divergences persistent encore dans cette classification phylogénétique. **(Rida, 2024)**

Tableau II.1 : Classification des microalgues (Marouf et Mecheri, 2020)

Règne	Division	Embranchement/ Classe
Procaryote	Cyanophyta	Cyanophytes
	Prochlorophyta	
Eucaryote	Chlorophyta	Rhodophytes
		Micromonadophytes
		Charophytes
		Ulvophytes
		Chlorophytes
	Dinophyta	Dinophytes
	Chrysophyta	Chrysophytes
		Synurophytes
	Prymnesiophyta	Prymnesiophytes
	Bacillariophyta	Bacillariophytes
	Xanthophyta	Xanthophytes
	Eustigmatophyta	Eustigmatophytes
	Rhaphidophyta	Rhaphidophytes
	Phaeophyta	Phaeophytes

II.3. Intérêt nutritionnelle

Les microalgues apportent véritablement des nutriments. On utilise ces micro-organismes dans l'alimentation aussi bien animale qu'humaine, ainsi que dans le domaine de l'aquaculture. La biomasse peut être fabriquée en diverses formes telles que la poudre, les tablettes, les capsules, les pastilles, etc... **(Filali, 2012)**

L'utilisation des microalgues comme source de nourriture vient des pratiques ancestrales de populations sujettes à la famine. Les chinois utilisaient la microalgue Nostoc commune pour assurer leur alimentation il y a plus de 2000 ans. **(Aissaoui et Zarza, 2021)**

L'intérêt des microalgues réside dans la diversité de leurs compositions biochimiques. Cette biomasse se distingue des autres végétaux par sa richesse en lipides, protéines, polysaccharides, vitamines, pigments et antioxydants **(Dejoye Tanzi, 2013)**. Grâce à cette richesse nutritionnelle, les microalgues ont attiré l'attention des industriels. De plus, les microalgues constituent une source de colorants alimentaires extraits de leurs pigments tels que le β -carotène et les phycobiliprotéines, utilisés comme additifs alimentaires et compléments nutritionnels. Parmi les espèces les plus répandues dans l'alimentation humaine et animale figurent *Chlorella vulgaris* et *Dunaliella salina*. **(Kadri et Zehi, 2019)**

Tableau II.2 : compositions biochimiques de différentes micro-algues.

Micro-algues	Protéines (%)	Polysaccharides (%)	Lipides (%)
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9
<i>Synechococcus sp</i>	63	15	11

Les microalgues sont une source significative de presque toutes les vitamines indispensables : B1, B6, B12, C, E, K1, et possèdent une grande variété de pigments, fluorescents ou non, qui peuvent également jouer un rôle antioxydant. Outre la chlorophylle

(qui représente 0,5 à 1 % de la matière sèche), principal pigment photosynthétique présent dans toutes les algues photosynthétiques. **(Dejoye Tanzi, 2013)**

II.4. Spirulina platensis

La *Spirulina platensis* (Oscillatoriaceae), une microalgue bleue-verte, a été identifiée par divers scientifiques et nutritionnistes comme un aliment fonctionnel exceptionnellement riche en nutriments. Avec une productivité importante et un coût de production modique, sa culture est disséminée à travers le globe. Cette algue a une tendance à se proliférer dans des eaux riches en azote et en phosphore, chaudes et alcalines, semblables à celles présentes dans certains lacs d'Afrique, d'Amérique Latine et d'Asie du Sud. On la retrouve aussi dans les zones tropicales et semi-tropicales. **(Ama Moor et al., 2016)**

II.4.1. Composition de Spirulina platensis

Il est bien établi que les variations de conditions de culture provoquent facilement de forts changements dans la composition biochimique des spirulines. Cependant en moyenne, la *Spirulina platensis* est particulièrement réputée pour sa richesse exceptionnelle en protéines, jusqu'à 70 % de sa matière sèche, 15 à 25 % de glucides, jusqu'à 11 % de lipides ainsi que des vitamines (principalement du groupe B), des minéraux (principalement des oligoéléments), de la chlorophylle et des phycobiliprotéines. **(Sguera, 2008)**

II.4.2. Activités biologiques d'Arthrospira platensis

Arthrospira platensis, communément appelée spiruline, est une microalgue reconnue depuis longtemps pour sa richesse nutritionnelle exceptionnelle. Bien au-delà de son rôle de complément alimentaire, cette cyanobactérie suscite un intérêt croissant dans le domaine biomédical en raison de ses propriétés pharmacologiques prometteuses. L'infographie ci-contre synthétise les diverses activités biologiques de la spiruline, validées par de nombreuses études scientifiques aussi bien in vitro qu'in vivo.

II.5. Chlorella vulgaris

Chlorella vulgaris est une micro-algue verte, unicellulaire, eucaryote, se développant dans les eaux douces, dite micro-algue dulcicole. En taxonomie, elle fait partie de la classe des Chlorophytes. Cette algue sphérique mesure entre 2 et 8 µm et possède un noyau bien

spécifique et une membrane cellulosique. Elle est constituée de 50 à 60% de protéines, de nombreux minéraux (cuivre, fer, magnésium,...), d'acides gras dont certains oméga-3 et de pigments tels que la chlorophylle qui représente de 2 à 4% de son poids sec. La souche utilisée pour réaliser ces travaux nous a été fournie par Alphabiotech (Asserac, France). Cette souche a été cultivée en raceway sans conditions particulières de carence. La biomasse a été récoltée par filtration membranaire, centrifugée afin d'obtenir une "pâte algale" à 20% de matière sèche puis lyophilisée. **(Dejoye Tanzi, 2013)**

Sur le plan fonctionnel et technologique, *Chlorella vulgaris* est largement utilisée comme ingrédient fonctionnel et enrichissant dans l'industrie agroalimentaire. Sa richesse en chlorophylle lui confère un fort pouvoir antioxydant et une couleur verte naturelle recherchée, tandis que sa teneur élevée en protéines et en acides gras essentiels améliore la valeur nutritionnelle des produits formulés. Toutefois, sa paroi cellulosique rigide nécessite parfois un traitement spécifique pour maximiser la bioaccessibilité et la digestibilité de ses composés intracellulaires.

CHAPITRE III

Matériels et méthodes

III.1. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude est de développer des fromages frais enrichis en deux microalgues alimentaires, la spiruline (*Arthrospiraplatensis*) et la chlorelle (*Chlorella vulgaris*), et d'évaluer l'effet de leur incorporation à différentes concentrations sur les caractéristiques physico-chimiques, instrumentales, microbiologiques et sensorielles du produit fini. Sept formulations sont étudiées : un fromage frais témoin sans microalgue et six fromages enrichis avec de la spiruline ou de la chlorelle à trois concentrations, correspondant à 0,25, 0,50 et 0,75 % (m/m). L'étude vise notamment à déterminer l'influence du type de microalgue et de sa concentration sur le pH, la matière sèche, l'humidité, la couleur, les propriétés texturales, la population de bactéries lactiques mésophiles cultivables présumées et l'acceptabilité sensorielle des fromages. Cette approche est justifiée par le fait que l'incorporation de biomasses microalgales dans les matrices laitières peut modifier simultanément leur composition, leur structure, leur coloration, leur texture et leurs propriétés sensorielles (Falcão et al., 2023).

III.2. Fabrication des fromages frais

III.2.1. Plan expérimental

L'expérimentation comprend sept traitements. Chaque formulation est produite au cours de trois fabrications indépendantes réalisées dans les mêmes conditions expérimentales, chaque fabrication constituant une répétition biologique ou technologique indépendante ($n = 3$). Les mesures réalisées plusieurs fois sur le même fromage sont considérées comme des répétitions techniques et leur moyenne est utilisée comme valeur représentative de la répétition expérimentale afin d'éviter toute pseudoréplication. Pour chaque répétition, le lait utilisé provient d'un même lot initial et est réparti entre les différentes formulations afin de limiter l'influence de la variabilité de la matière première.

III.2.2. Matières premières

Le fromage frais est élaboré à partir de lait entier de vache. Les microalgues utilisées sont des poudres alimentaires déshydratées de *Arthrospiraplatensis* pour la spiruline et de *Chlorella vulgaris* pour la chlorelle. Les poudres sont conservées dans leurs emballages d'origine hermétiquement fermés, dans un endroit sec, à température ambiante contrôlée et à

l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à leur utilisation. Les informations de traçabilité disponibles, notamment l'origine, le fournisseur, le numéro de lot et la date limite d'utilisation, sont consignées. Un ferment lactique mésophile commercial dominé par *Lactococcus lactis* est utilisé pour l'acidification du lait, tandis qu'une présure alimentaire contenant principalement de la chymosine est utilisée pour induire la coagulation enzymatique.

III.2.3. Traitement thermique du lait

Le lait est d'abord filtré à l'aide d'un dispositif propre et désinfecté afin d'éliminer les éventuelles impuretés visibles. Il est ensuite chauffé à 85 °C pendant 10 min, puis refroidi rapidement jusqu'à 32 ± 1 °C. Ce traitement thermique permet de réduire la charge microbienne initiale, d'améliorer la reproductibilité du procédé et de favoriser la dénaturation partielle des protéines sériques, phénomène susceptible d'améliorer la rétention d'eau et le rendement des fromages frais. Les mêmes conditions de chauffage et de refroidissement sont appliquées à toutes les fabrications.

III.2.4. Ensemencement et coagulation

Lorsque la température du lait atteint 32 ± 1 °C, le ferment lactique mésophile est ajouté à raison de 0,02 % (m/v). Le lait est mélangé doucement pendant environ 2 min afin d'assurer une distribution homogène du ferment, puis maintenu à 32 ± 1 °C pendant 30 min afin de permettre le démarrage de l'activité fermentaire. La présure, préalablement diluée dans une faible quantité d'eau distillée froide, est ensuite ajoutée à raison de 0,02 % (v/v). Après une agitation douce d'environ 1 min, le lait est maintenu au repos à 32 ± 1 °C pendant 45 à 60 min jusqu'à l'obtention d'un caillé ferme présentant une rupture nette. La durée effective de coagulation est enregistrée pour chaque fabrication.

III.2.5. Découpage et égouttage

Après coagulation, le caillé est découpé en cubes réguliers d'environ 1 cm de côté au moyen d'un couteau propre et désinfecté. Le caillé découpé est laissé au repos pendant 10 min afin de favoriser la synérèse initiale, puis transféré dans des étamines propres et désinfectées. L'égouttage est réalisé à 4 ± 1 °C pendant 18 h. La taille des cubes, la durée de repos, les conditions d'égouttage et la température sont maintenues constantes pour toutes les

répétitions. Après égouttage, la masse de fromage obtenue est enregistrée. Lorsque le rendement fromager est déterminé, il est calculé selon la relation suivante: $\text{rendement (\%)} = [\text{masse du fromage après égouttage} / \text{masse du lait utilisée}] \times 100$.

III.3. Formulation des traitements expérimentaux

Après égouttage, le fromage est homogénéisé puis divisé en portions identiques. Le traitement T0 correspond au fromage témoin sans microalgue. Les traitements T₁, T₂ et T₃ correspondent respectivement aux fromages contenant 0,25, 0,50 et 0,75 % (m/m) de spiruline, tandis que les traitements T₄, T₅ et T₆ correspondent respectivement aux fromages contenant 0,25, 0,50 et 0,75 % (m/m) de chlorelle. Les concentrations sont exprimées par rapport à la masse finale du produit.

La masse de poudre nécessaire est déterminée selon l'équation:

$m(\text{poudre}) = [C \times m(\text{fromage})] / (100 - C)$, où C représente la concentration finale souhaitée en pourcentage, m(fromage) la masse initiale de fromage avant incorporation et m(poudre) la quantité de microalgue à ajouter. Cette méthode permet de respecter précisément la concentration finale définie pour chaque formulation.

La poudre de microalgue est ajoutée progressivement puis incorporée au fromage pendant 2 min jusqu'à l'obtention d'une matrice visuellement homogène. Le fromage témoin est soumis au même traitement mécanique pendant la même durée afin que l'homogénéisation ne constitue pas un facteur de variation entre les formulations. Les fromages sont ensuite conditionnés dans des récipients alimentaires stériles ou préalablement désinfectés, fermés hermétiquement et conservés à 4 ± 1 °C jusqu'aux analyses. Les analyses sont réalisées sur des échantillons provenant séparément de chaque fabrication indépendante.

III.4. Analyses physico-chimiques et instrumentales

III.4.1. Mesure du pH

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH-mètre muni d'une électrode adaptée aux matrices alimentaires semi-solides. L'appareil est étalonné avant chaque série de mesures à l'aide de solutions tampons certifiées de pH 4,00 et 7,00. Pour chaque échantillon, 10,0 g de fromage

homogénéisé sont mélangés avec 10 mL d'eau distillée afin d'obtenir une suspension homogène. Après homogénéisation pendant environ 1 min, l'électrode est introduite dans la préparation et la valeur est enregistrée après stabilisation du signal. L'électrode est rincée à l'eau distillée et séchée délicatement entre les mesures. Deux déterminations techniques sont réalisées pour chaque répétition expérimentale et leur moyenne est utilisée pour l'analyse statistique.

III.4.2. Matière sèche et humidité

La teneur en matière sèche est déterminée par méthode gravimétrique jusqu'à obtention d'une masse constante. Une capsule propre est séchée, refroidie dans un dessiccateur puis pesée afin d'obtenir la masse P_0 . Une quantité de $5,00 \pm 0,10$ g de fromage homogénéisé est ensuite introduite dans la capsule et l'ensemble est pesé afin d'obtenir P_1 . Les échantillons sont placés dans une étuve réglée à 102 ± 2 °C. Après séchage, les capsules sont refroidies pendant environ 30 min dans un dessiccateur puis pesées. Les cycles de séchage, refroidissement et pesée sont répétés jusqu'à ce que deux pesées successives indiquent une masse constante, correspondant à P_2 . La matière sèche est calculée selon l'équation $MS (\%) = [(P_2 - P_0)/(P_1 - P_0)] \times 100$. L'humidité est calculée selon la relation $Humidité (\%) = 100 - MS (\%)$. Les résultats sont exprimés en pourcentage de produit frais.

III.4.3. Mesure instrumentale de la couleur

La couleur des fromages est déterminée dans le système CIELAB à l'aide d'un colorimètre calibré sur une référence blanche avant chaque série d'analyses. Les paramètres L^* , a^* et b^* sont enregistrés, L^* représentant la luminosité sur une échelle allant du noir au blanc, a^* l'axe vert-rouge et b^* l'axe bleu-jaune. Les mesures sont réalisées sur une surface fraîchement préparée du fromage afin de limiter l'influence de la déshydratation superficielle. Trois mesures sont effectuées à différents endroits de chaque échantillon et leur moyenne est retenue. Cette analyse est particulièrement pertinente dans les fromages enrichis en spiruline et en chlorelle en raison de la forte pigmentation chlorophyllienne et phycocyannique de ces biomasses, susceptible de modifier fortement l'apparence du produit et, par conséquent, son acceptabilité sensorielle.

III.4.4. Analyse instrumentale de la texture

Les propriétés texturales sont évaluées à l'aide d'un analyseur de texture selon un test de profil de texture en double compression. Les échantillons sont maintenus à une température standardisée avant l'analyse et découpés en portions de dimensions identiques. Une compression correspondant à environ 30 % de la hauteur initiale de l'échantillon est appliquée deux fois successivement à vitesse constante. Les paramètres principaux déterminés sont la fermeté, la cohésivité, l'adhésivité et, lorsque le profil de l'échantillon le permet, l'élasticité. Au moins trois mesures sont réalisées par répétition expérimentale et leur moyenne est utilisée pour l'analyse statistique. L'analyse instrumentale de la texture permet de compléter l'évaluation sensorielle et d'identifier d'éventuelles modifications structurales provoquées par l'incorporation des biomasses microalgales.

III.5. Analyses microbiologiques

Le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles est effectué selon le principe de la norme ISO 15214:1998. Compte tenu de la sélectivité imparfaite du milieu MRS, les microorganismes dénombrés sont désignés comme bactéries lactiques mésophiles cultivables présumées.

Pour chaque traitement et chaque répétition expérimentale, 10,0 g de fromage sont prélevés aseptiquement puis introduits dans un sachet stérile contenant 90 mL de diluant peptoné stérile, correspondant à une dilution initiale de 10^{-1} . La préparation est homogénéisée au Stomacher pendant 2 min. Des dilutions décimales successives sont ensuite réalisées en transférant 1,0 mL de la dilution précédente dans 9,0 mL de diluant stérile jusqu'à obtention des concentrations appropriées au dénombrement.

Pour chaque dilution retenue, 1,0 mL est transféré aseptiquement dans une boîte de Petri stérile. Environ 15 mL de gélose MRS fondue et refroidie à environ 47 °C sont ensuite ajoutés, puis l'inoculum est mélangé soigneusement au milieu. Les analyses sont réalisées en double pour chaque dilution. Après solidification, les boîtes sont incubées à 30 ± 1 °C pendant 72 ± 3 h. Un témoin de stérilité du milieu accompagne chaque série d'analyses.

Après incubation, les boîtes présentant un nombre de colonies conforme aux critères de dénombrement sont retenues. Lorsque deux dilutions décimales successives sont exploitables,

la concentration est calculée selon l'équation $N = \Sigma C / [(n1 + 0,1n2) \times d]$, où ΣC représente la somme des colonies comptées, $n1$ le nombre de boîtes retenues à la première dilution, $n2$ le nombre de boîtes retenues à la dilution suivante et d la première dilution retenue. Les résultats sont exprimés en UFC/g puis transformés en $\log_{10}$ UFC/g avant l'analyse statistique.

III.6. Analyse sensorielle

L'évaluation sensorielle est réalisée afin de déterminer l'effet de l'incorporation de spiruline et de chlorelle sur l'acceptabilité du fromage frais. Le test est conduit auprès de 60 consommateurs adultes non entraînés âgés d'au moins 18 ans et consommateurs habituels de produits laitiers. Les participants ne doivent présenter aucune allergie ou intolérance connue au lait ou aux ingrédients étudiés et ne doivent présenter aucun trouble susceptible d'altérer temporairement le goût ou l'odorat au moment de l'évaluation. Leur participation est volontaire et les réponses sont recueillies de manière anonyme.

Chaque participant reçoit environ 5 g de chacune des sept formulations. Les échantillons sont servis dans des récipients identiques à une température d'environ 12 ± 2 °C et sont identifiés par des codes aléatoires à trois chiffres. L'ordre de présentation est équilibré entre les participants afin de réduire les effets de position, de contraste et de fatigue sensorielle. L'évaluation est conduite dans une salle calme, propre, correctement éclairée et dépourvue d'odeurs parasites. De l'eau potable et des crackers non salés sont fournis afin de permettre le nettoyage du palais entre deux échantillons, avec un intervalle d'environ 60 s entre les dégustations.

Les participants évaluent l'aspect visuel et la couleur, l'odeur et l'arôme, la texture en bouche, le goût et la saveur ainsi que l'acceptabilité globale à l'aide d'une échelle hédonique structurée à neuf points allant de 1, correspondant à « extrêmement désagréable », à 9, correspondant à « extrêmement agréable », la valeur 5 indiquant une appréciation neutre. L'aspect visuel permet notamment d'apprécier l'homogénéité du fromage et l'acceptabilité de la coloration liée aux pigments des microalgues. L'odeur et l'arôme permettent d'identifier l'acceptabilité des notes lactiques, végétales ou algales. La texture en bouche prend en considération l'onctuosité, la fermeté, le fondant et la tartinabilité, tandis que le goût et la saveur permettent d'évaluer l'équilibre général des perceptions lactiques, acides, salées et végétales. L'acceptabilité globale représente l'appréciation générale du produit par chaque consommateur.

III.7. Analyse statistique

Les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel R. Pour les paramètres physico-chimiques, instrumentaux et microbiologiques, la fabrication indépendante constitue l'unité expérimentale ($n = 3$). Les répétitions techniques réalisées sur un même échantillon sont moyennées avant l'analyse afin d'éviter la pseudoréplication. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type. La normalité des résidus est vérifiée par le test de Shapiro–Wilk et l'homogénéité des variances par le test de Levene. Le seuil de signification statistique est fixé à $p < 0,05$.

Dans une première approche, les sept formulations T_0 à T_6 sont comparées par une analyse de variance à un facteur. Lorsqu'un effet significatif de la formulation est observé, les moyennes sont comparées à l'aide du test post-hoc de Tukey HSD. Les groupes homogènes sont indiqués dans les tableaux par des lettres minuscules placées en exposant après les valeurs moyennes.

Une analyse complémentaire est réalisée sur les six formulations enrichies selon un plan factoriel 2×3 comprenant deux types de microalgues, spiruline et chlorelle, et trois niveaux d'incorporation, 0,25, 0,50 et 0,75 %. Le modèle prend en considération l'effet du type de microalgue, l'effet de la concentration et l'interaction entre ces deux facteurs. Le témoin T_0 n'est pas intégré à cette analyse factorielle car aucun type de microalgue ne lui est associé.

Les valeurs microbiologiques sont transformées en $\log_{10}$ UFC/g avant leur analyse. Pour les données sensorielles, chaque participant évaluant toutes les formulations, la dépendance entre les observations provenant d'un même consommateur est prise en compte à l'aide d'un modèle linéaire mixte dans lequel la formulation constitue un effet fixe et le consommateur un effet aléatoire. Lorsque l'effet de la formulation est significatif, les comparaisons multiples sont ajustées selon la procédure de Tukey. Lorsque les conditions d'application d'un modèle paramétrique ne sont pas satisfaites, le test de Friedman est utilisé comme analyse non paramétrique des mesures répétées.

Les relations entre les principaux paramètres instrumentaux, physico-chimiques et sensoriels peuvent également être explorées par des coefficients de corrélation de Pearson lorsque les conditions paramétriques sont satisfaites, afin notamment d'identifier les

associations entre les coordonnées colorimétriques, la texture instrumentale et l'acceptabilité sensorielle. Les résultats statistiques sont considérés comme significatifs lorsque $p < 0,05$.

CHAPITRE III

Résultats et Discussion

III.1. Résultats et discussion

L'incorporation d'*Arthrospiraplatensis* et de *Chlorella vulgaris* a affecté de manière différenciée les propriétés physico-chimiques, microbiologiques et sensorielles du fromage frais. Dans l'ensemble, le pH est demeuré relativement stable malgré l'enrichissement, tandis que la population de bactéries lactiques cultivables a présenté une réponse non linéaire au niveau d'incorporation. Les changements les plus marqués concernaient les caractéristiques sensorielles, en particulier l'aspect, la couleur et l'arôme. Cette réponse multidimensionnelle est cohérente avec les travaux consacrés aux produits laitiers enrichis en microalgues, qui montrent que ces biomasses peuvent simultanément modifier la composition, la structure, la couleur, la texture et la perception sensorielle de la matrice (Hernández et al., 2022; Falcão et al., 2023).

III.1.1. Effet des microalgues sur le pH et la matière sèche

Les valeurs de pH et de matière sèche sont présentées dans le Tableau 1. Le fromage témoin présentait un pH de 5,30, tandis que les formulations enrichies variaient entre 5,20 et 5,40. L'amplitude totale n'était donc que de 0,20 unité, indiquant que l'incorporation de spiruline ou de chlorelle à des concentrations comprises entre 0,25 et 0,75 % n'a pas entraîné de modification importante de l'acidité active du fromage.

Tableau III.1 : pH et matière sèche des fromages frais enrichis en spiruline ou chlorelle

Traitement	Formulation	Incorporation (%)	pH	Matière sèche (%)
T0	Témoin	0	5,30	40
T1	Spiruline	0,25	5,40	40
T2	Spiruline	0,50	5,30	40
T3	Spiruline	0,75	5,20	40
T4	Chlorelle	0,25	5,40	40
T5	Chlorelle	0,50	5,20	50
T6	Chlorelle	0,75	5,30	ND†

†ND : donnée non retenue en raison d'une incohérence interne entre les masses enregistrées et la valeur de matière sèche reportée dans la feuille expérimentale.

Avec la spiruline, le pH diminuait progressivement de 5,40 à 0,25 % à 5,20 à 0,75 %, alors que la chlorelle ne présentait pas de relation concentration réponse claire. Les valeurs observées suggèrent donc que l'effet sur l'acidité demeure modéré et dépend davantage des interactions entre la biomasse et la matrice fromagère que d'une simple augmentation de la concentration. À ces faibles niveaux d'incorporation, la contribution des protéines, minéraux et constituants ionisables des microalgues semble insuffisante pour modifier profondément le système tampon du fromage.

Cette stabilité est cohérente avec la littérature. Hernández et al. (2022) ont montré que l'effet des microalgues sur le pH des produits laitiers dépend fortement du type de matrice, de l'espèce incorporée, de la concentration et du système fermentaire. Dans les fromages frais étudiés par Falcão et al. (2023), l'incorporation de 2 ou 4 % de *C. vulgaris* a surtout influencé la composition, la couleur et la structure, tout en permettant le maintien d'une matrice fromagère technologiquement acceptable.

La matière sèche était de 40 % pour le témoin, les trois formulations à base de spiruline et le traitement contenant 0,25 % de chlorelle. L'augmentation à 50 % observée avec 0,50 % de chlorelle peut traduire soit une plus forte concentration en solides, soit une modification de la rétention d'eau lors de l'égouttage. Les biomasses algales apportent en effet des protéines et des polysaccharides capables d'interagir avec le réseau protéique laitier et de modifier les propriétés de liaison de l'eau. Falcão et al. (2023) ont montré que *C. vulgaris* pouvait modifier la fermeté et les propriétés structurales des fromages frais, ce qui confirme que les interactions microalgue matrice dépassent le simple apport massique de poudre.

La valeur initialement calculée à 90 % pour T6 a été exclue de l'interprétation. Les masses enregistrées donnent un résidu sec de 9 g, alors que la même ligne du fichier indique parallèlement 4 g de matière sèche. Il est impossible de déterminer laquelle de ces deux informations correspond à la mesure expérimentale réelle. Présenter 90 % comme une valeur biologique valide introduirait donc une erreur méthodologique majeure. Cette donnée doit être vérifiée sur la feuille de laboratoire originale avant toute utilisation ultérieure.

Les valeurs de pH et de matière sèche disponibles correspondent à une seule valeur finale par traitement. Elles sont donc analysées de manière descriptive. L'attribution de p-

values ou de groupes homogènes à partir de ces seules données constituerait une pseudoréplication.

III.1.2. Effet de l'enrichissement sur les bactéries lactiques cultivables

Les populations rapportées de bactéries lactiques cultivables présumées variaient entre $0,90 \times 10^7$ et $2,60 \times 10^7$ UFC/g, correspondant à 6,95–7,41 $\log_{10}$ UFC/g (Tableau 2). Le témoin contenait $1,70 \times 10^7$ UFC/g, soit 7,23 $\log_{10}$ UFC/g.

Tableau III.2 : Population de bactéries lactiques cultivables présumées dans les différentes formulations de fromage frais.

Traitement	Formulation	UFC/g	$\log_{10}$ UFC/g	Variation vs témoin (%)
T0	Témoin	$1,70 \times 10^7$	7,23	—
T1	Spiruline 0,25 %	$1,25 \times 10^7$	7,10	–26,5
T2	Spiruline 0,50 %	$1,30 \times 10^7$	7,11	–23,5
T3	Spiruline 0,75 %	$2,60 \times 10^7$	7,41	+52,9
T4	Chlorelle 0,25 %	$1,40 \times 10^7$	7,15	–17,6
T5	Chlorelle 0,50 %	$0,90 \times 10^7$	6,95	–47,1
T6	Chlorelle 0,75 %	$2,20 \times 10^7$	7,34	+29,4

Les deux premières concentrations de spiruline présentaient des charges proches, respectivement 7,10 et 7,11 $\log_{10}$ UFC/g, légèrement inférieures à celle du témoin. À 0,75 %, la population augmentait à 7,41 $\log_{10}$ UFC/g, valeur numérique la plus élevée de l'étude. Une évolution également non linéaire était observée avec la chlorelle : 7,15 $\log_{10}$ UFC/g à 0,25 %, 6,95 $\log_{10}$ UFC/g à 0,50 % et 7,34 $\log_{10}$ UFC/g à 0,75 %.

L'absence de relation monotone indique que la réponse de la flore lactique ne peut pas être expliquée par un simple effet dose. Les microalgues constituent des matrices biochimiquement complexes apportant protéines, peptides, acides aminés, vitamines et éléments minéraux susceptibles de soutenir certaines populations bactériennes. Parallèlement, leurs pigments et différents métabolites peuvent modifier les interactions microbiennes ou la

disponibilité des nutriments. L'effet final dépend donc vraisemblablement de l'équilibre entre ces facteurs et de la souche fermentaire utilisée.

La revue de Hernández et al. (2022) montre effectivement que les effets des microalgues sur les cultures starters et probiotiques varient selon la biomasse, la concentration et le produit laitier considéré. Il serait donc prématuré de qualifier l'effet observé ici de prébiotique. Les résultats démontrent néanmoins que les niveaux d'incorporation testés sont compatibles avec le maintien d'une population lactique élevée, puisqu'aucun traitement ne descend nettement en dessous de 10^7 UFC/g.

Les valeurs élevées observées à 0,75 % pour les deux espèces sont particulièrement intéressantes, mais elles ne peuvent être considérées comme une stimulation statistiquement démontrée en l'absence de répétitions biologiques indépendantes disponibles. Les différences de pourcentage par rapport au témoin doivent être interprétées comme des variations descriptives.

Une seconde précaution concerne les données microbiologiques brutes. La feuille de comptage et le tableau récapitulatif ne sont pas parfaitement concordants pour plusieurs traitements. Par exemple, la feuille brute indique 175 colonies à 10^{-4} pour la spiruline à 0,25 %, alors que le tableau final utilise 125 colonies. Des divergences analogues apparaissent pour d'autres formulations. Les valeurs du Tableau 2 correspondent donc aux résultats finaux explicitement reportés dans la feuille récapitulative. Pour une publication définitive, les UFC/g doivent être recalculées à partir des fiches originales de laboratoire et des dilutions effectivement retenues.

III.1.3. Acceptabilité sensorielle

L'analyse sensorielle a révélé les différences les plus importantes entre les fromages. Les scores disponibles sont compris entre 2,2 et 5,0 et correspondent à une échelle hédonique à cinq points, ce qui est cohérent avec l'approche utilisée par Falcão et al. (2023) pour des fromages frais enrichis en *C. vulgaris*. Dans cette étude publiée, les consommateurs ont évalué la couleur, l'odeur, le goût, la texture et l'acceptabilité globale sur une échelle allant de 1, « très désagréable », à 5, « très agréable ».

Tableau III.3 : Scores sensoriels descriptifs du fromage témoin et des fromages contenant de la spiruline ou de la chlorelle.

Attribut	Témoin	Spiruline	Chlorelle
Aspect et couleur	5,0	2,6	2,2
Odeur et arôme	5,0	2,2	2,4
Texture en bouche	4,8	2,8	2,6
Goût et flaveur	4,2	2,6	2,6
Acceptabilité globale	4,6	2,6	2,4
Moyenne descriptive	4,72	2,56	2,44

Le témoin présentait les scores les plus élevés pour l'ensemble des attributs, avec une moyenne descriptive de 4,72/5. Les lots à base de spiruline et de chlorelle atteignaient respectivement 2,56 et 2,44/5. Pour l'acceptabilité globale, le score diminuait de 4,6 pour le témoin à 2,6 avec la spiruline et 2,4 avec la chlorelle. Rapportées au score maximal de l'échelle, ces valeurs correspondent respectivement à 92, 52 et 48 %.

L'aspect et la couleur constituaient l'un des principaux facteurs discriminants. Le score maximal de 5,0 pour le témoin était réduit à 2,6 avec la spiruline et 2,2 avec la chlorelle. Cette diminution peut être directement reliée aux pigments propres aux deux biomasses. *Arthrospira* est caractérisée notamment par ses phycobiliprotéines, alors que *Chlorella* contient des concentrations élevées de chlorophylles. Leur incorporation dans une matrice naturellement blanche modifie donc fortement le contraste visuel attendu par le consommateur.

Falcão et al. (2023) ont montré que *C. vulgaris* modifiait nettement la couleur instrumentale des fromages frais. Fait important, leur étude indique toutefois qu'une coloration verte ne conduit pas nécessairement à un rejet : l'acceptabilité dépend aussi du type de fromage et de la formulation, et les produits de type creamcheese présentaient des résultats sensoriels particulièrement favorables. Cela suggère que l'effet observé dans la présente étude ne doit pas être attribué aux pigments seuls, mais à leur interaction avec les attentes sensorielles associées au produit.

L'odeur et l'arôme étaient également fortement pénalisés, avec des scores de 2,2 pour la spiruline et 2,4 pour la chlorelle, contre 5,0 pour le témoin. Une étude comparative publiée en 2024 a confirmé que différentes microalgues comestibles possèdent des profils sensoriels et volatils fortement distincts, notamment *Spirulina* et *Chlorella*. Dans une matrice laitière relativement douce, ces notes végétales, algales ou terreuses peuvent être particulièrement perceptibles.

La texture était l'attribut le moins défavorablement affecté parmi les fromages enrichis, avec des scores de 2,8 pour la spiruline et 2,6 pour la chlorelle. Cette observation est intéressante car les microalgues peuvent modifier simultanément les propriétés mécaniques du fromage. Falcão et al. (2023) ont notamment montré une modification de la fermeté après incorporation de *C. vulgaris*, confirmant l'existence d'interactions entre la biomasse et le réseau protéique.

Les deux microalgues obtenaient exactement le même score de goût et de flaveur, soit 2,6/5, contre 4,2 pour le témoin. L'absence de différence descriptive entre les deux espèces pour cet attribut suggère que, dans les conditions de l'étude, leur impact gustatif était d'amplitude comparable. Dans des fromages mous enrichis en *A. platensis*, les formulations contenant 0,25 et 0,50 % ont été préférées à celles contenant davantage de spiruline, principalement en raison de l'intensification de son odeur et de son goût caractéristique lorsque la concentration augmente. Ce résultat est particulièrement pertinent ici puisque les mêmes concentrations de 0,25 et 0,50 % ont été étudiées.

L'acceptabilité globale était légèrement supérieure pour la spiruline que pour la chlorelle. Comme les deux biomasses obtenaient le même score gustatif, cet avantage descriptif paraît surtout associé à une meilleure appréciation de l'apparence et de la texture du fromage contenant la spiruline.

Une limite importante empêche toutefois d'identifier une concentration optimale. Le fichier sensoriel regroupe les résultats sous trois catégories seulement témoin, spiruline et chlorelle sans distinguer les concentrations 0,25, 0,50 et 0,75 %. Les notes individuelles des consommateurs ne sont pas non plus disponibles. Il n'est donc pas possible d'effectuer un modèle à mesures répétées, un test de Friedman ou une analyse dose-réponse statistiquement valide. Les différences sont par conséquent interprétées de manière descriptive.

III.1.4. Intégration des réponses physico-chimiques, microbiologiques et sensorielles

L'analyse intégrée met en évidence une dissociation nette entre stabilité physico-chimique et acceptabilité sensorielle. Le pH variait seulement de 5,20 à 5,40, tandis que l'acceptabilité globale diminuait de 4,6/5 pour le témoin à 2,6 et 2,4/5 respectivement pour les fromages à la spiruline et à la chlorelle. La diminution d'acceptabilité ne peut donc pas être expliquée principalement par une modification de l'acidité.

La couleur et le profil aromatique constituent des facteurs beaucoup plus plausibles. Les deux attributs étaient précisément ceux pour lesquels les écarts avec le témoin étaient les plus importants. Cette interprétation est cohérente avec les données de profilage sensoriel des microalgues, qui montrent que leurs caractéristiques visuelles et aromatiques constituent des déterminants majeurs de leur incorporation alimentaire.

Parallèlement, la population lactique demeurait élevée dans l'ensemble des formulations. Les traitements contenant 0,75 % de spiruline et de chlorelle présentaient même les valeurs numériques les plus élevées parmi les fromages enrichis, avec respectivement 7,41 et 7,34 $\log_{10}$ UFC/g. En l'absence de variance biologique disponible, ces valeurs ne permettent pas de démontrer une stimulation de la croissance bactérienne, mais elles montrent que l'incorporation des biomasses à ces concentrations n'était pas incompatible avec le maintien d'une flore lactique importante.

Ces résultats illustrent le compromis central associé au développement d'un fromage enrichi en microalgues. Les biomasses peuvent apporter des protéines, minéraux, pigments et autres composés bioactifs et peuvent modifier favorablement certaines propriétés nutritionnelles ou structurales. Falcão et al. (2023) ont ainsi observé une augmentation de la teneur en protéines, de plusieurs éléments minéraux et de l'activité antioxydante dans des fromages contenant *C. vulgaris*. Toutefois, ces bénéfices doivent être équilibrés avec l'impact sensoriel produit par les pigments et les composés aromatiques.

III.1.5. Implications pour l'optimisation de la formulation

Les résultats montrent que l'objectif d'optimisation ne devrait pas être de maximiser simplement le taux d'incorporation de microalgues, mais d'identifier un niveau permettant de préserver l'intérêt fonctionnel tout en maintenant une acceptabilité suffisante. Cette approche

est particulièrement importante pour la spiruline. Dans une étude utilisant des concentrations très proches de celles testées ici, l'incorporation de 0,25 et 0,50 % de *A. platensis* dans un fromage mou était préférée à une incorporation de 1 %, les niveaux inférieurs produisant une odeur et un goût algal moins intenses.

Le comportement de la chlorelle dépend également fortement de la matrice. Falcão et al. (2023) ont utilisé des concentrations de 2 et 4 %, largement supérieures aux niveaux de la présente étude, tout en obtenant une acceptabilité intéressante, surtout dans le creamcheese. Cette différence montre que la concentration ne peut être interprétée indépendamment de la teneur en matière grasse, de la structure, de l'acidité et de la capacité du produit à intégrer ou masquer les caractéristiques sensorielles de la biomasse.

Une prochaine étape particulièrement pertinente serait donc d'analyser séparément les trois concentrations lors du test sensoriel et d'associer ces résultats à des mesures instrumentales de couleur CIELAB et de texture. Une telle approche permettrait de déterminer quantitativement si la diminution de l'acceptabilité visuelle est associée à une réduction de L^* , à une évolution de a^* vers le vert ou à des modifications de b^* , et de relier les changements de texture perçue à la fermeté ou à l'adhésivité mesurées instrumentalement.

III.1.6. Robustesse et limites de l'interprétation

La principale limite du jeu de données actuel réside dans l'absence des valeurs individuelles correspondant aux fabrications indépendantes. Une moyenne ou une valeur finale par traitement ne permet pas d'estimer l'erreur biologique. Les différentes boîtes microbiologiques, dilutions ou mesures analytiques d'un même lot ne peuvent pas remplacer ces répétitions indépendantes, car leur utilisation comme répliquats constituerait une pseudoréplication.

Pour cette raison, aucune p-value, aucune lettre de groupe homogène et aucune affirmation de différence significative n'ont été introduites dans les résultats. Cette approche est statistiquement plus rigoureuse qu'une ANOVA réalisée artificiellement à partir des répétitions techniques.

La donnée de matière sèche de T6 a également été déclarée non exploitable en raison de l'incohérence interne du fichier, tandis que les résultats microbiologiques sont rapportés à

partir du tableau final mais nécessitent une vérification ultérieure avec les feuilles originales de comptage. Ces précautions améliorent la traçabilité des résultats et évitent d'attribuer une signification biologique à des données dont la cohérence analytique n'est pas totalement démontrée.

III.1.7. Conclusion intégrative des résultats

Dans les conditions de cette étude, l'incorporation de *A. platensis* et de *C. vulgaris* à des concentrations comprises entre 0,25 et 0,75 % a peu modifié le pH du fromage frais, qui est resté compris entre 5,20 et 5,40. Les populations de bactéries lactiques cultivables présumées sont demeurées de l'ordre de 10^7 UFC/g, avec des valeurs comprises entre 6,95 et 7,41 $\log_{10}$ UFC/g. Les plus fortes valeurs numériques parmi les fromages enrichis ont été observées à 0,75 % pour les deux biomasses, suggérant que ces niveaux d'incorporation sont compatibles avec le maintien d'une flore lactique abondante.

L'acceptabilité sensorielle constituait en revanche le principal facteur limitant. L'acceptabilité globale diminuait de 4,6/5 pour le témoin à 2,6/5 pour la spiruline et 2,4/5 pour la chlorelle, avec un impact particulièrement marqué sur l'aspect, la couleur et l'arôme. La spiruline présentait une légère supériorité descriptive par rapport à la chlorelle, principalement liée à une meilleure perception visuelle et texturale.

Ces résultats montrent que la faisabilité technologique de l'enrichissement est supérieure à son acceptabilité sensorielle dans les conditions testées. Le développement d'un fromage enrichi en microalgues devrait donc privilégier une optimisation de la concentration et du profil sensoriel plutôt qu'une augmentation maximale de la biomasse. L'étude séparée des concentrations, associée à des mesures instrumentales de couleur et de texture, permettrait de définir plus précisément le compromis entre fonctionnalité, stabilité technologique et acceptabilité du consommateur.

III.1.8. Analyse de corrélation entre les paramètres physico-chimiques et microbiologiques

Afin d'examiner les relations entre le niveau d'incorporation des microalgues et les principales réponses mesurées dans les fromages frais, une analyse exploratoire de corrélation de Pearson a été réalisée entre le taux d'incorporation, le pH, la matière sèche et la population

de bactéries lactiques exprimée en $\log_{10}$ UFC/g. La valeur de matière sèche de T₆ n'a pas été intégrée à cette analyse en raison de l'incohérence identifiée dans les données expérimentales originales. Compte tenu du faible nombre d'observations disponibles, les coefficients obtenus doivent être considérés comme des indicateurs de tendance et non comme des preuves de relations biologiques robustes.

Tableau III.4 : Corrélations de Pearson entre le niveau d'incorporation et les principales caractéristiques des fromages frais.

Variables corrélées	n	r de Pearson	p	Interprétation
Incorporation – pH	7	–0,550	0,201	Corrélation négative modérée
Incorporation – $\log_{10}$ UFC/g	7	+0,406	0,366	Corrélation positive faible à modérée
pH – $\log_{10}$ UFC/g	7	–0,164	0,725	Corrélation très faible
Matière sèche – pH	6	–0,548	0,261	Corrélation négative modérée
Matière sèche – $\log_{10}$ UFC/g	6	–0,653	0,160	Corrélation négative modérée à forte
Incorporation – matière sèche	6	+0,234	0,656	Corrélation positive faible

Aucune des corrélations étudiées n'atteignait le seuil conventionnel de significativité statistique de $p < 0,05$. Cette absence de significativité doit toutefois être interprétée en tenant compte de la très faible taille de l'échantillon et ne signifie pas nécessairement qu'aucune relation biologique n'existe entre les variables. Elle indique plutôt que les données disponibles ne permettent pas de démontrer statistiquement ces relations avec suffisamment de puissance.

La relation la plus nette entre le niveau d'incorporation et une propriété physico-chimique concernait le pH, avec une corrélation négative modérée ($r = -0,550$). Cette tendance suggère que l'augmentation du niveau de microalgue pourrait être associée à une légère diminution du pH. Cependant, cette relation doit être nuancée par la réponse différente des deux espèces. Avec la spiruline, le pH diminuait régulièrement de 5,40 à 5,20 lorsque le

niveau passait de 0,25 à 0,75 %, alors que la chlorelle ne présentait pas une évolution monotone. Le coefficient global traduit donc davantage une tendance moyenne qu'un mécanisme commun aux deux biomasses.

Une corrélation positive faible à modérée a été observée entre le niveau d'incorporation et la population de bactéries lactiques ($r = +0,406$). Cette relation est compatible avec les valeurs élevées observées à 0,75 % de spiruline et de chlorelle, qui atteignaient respectivement 7,41 et 7,34 $\log_{10}$ UFC/g. Elle suggère que des concentrations plus élevées de biomasse pourraient, dans certaines conditions, fournir davantage de substrats ou de facteurs nutritifs utilisables par les bactéries lactiques. Néanmoins, la diminution observée à certaines concentrations intermédiaires, notamment avec 0,50 % de chlorelle, montre clairement que cette relation n'est pas linéaire.

La corrélation entre le pH et la population bactérienne était très faible ($r = -0,164$), ce qui indique que les variations de la population de bactéries lactiques observées entre les traitements ne peuvent pas être expliquées principalement par les faibles différences de pH. Les valeurs de pH étant comprises dans une plage étroite de 5,20 à 5,40, d'autres facteurs associés à la composition des microalgues apparaissent probablement plus importants. Les protéines, peptides, acides aminés, vitamines et minéraux présents dans les biomasses peuvent influencer directement la disponibilité des nutriments, tandis que les pigments et autres métabolites peuvent exercer des effets spécifiques dépendant de l'espèce et de la souche bactérienne. Hernández et al. (2022) ont également souligné que l'effet des microalgues sur la viabilité des cultures starters et probiotiques dépend de la matrice, de la biomasse utilisée et de son niveau d'incorporation.

Une corrélation négative modérée à forte a été observée entre la matière sèche et les bactéries lactiques ($r = -0,653$). Ce résultat pourrait suggérer qu'une augmentation de la fraction sèche et, par conséquent, une diminution relative de la phase aqueuse disponible peuvent limiter la croissance ou la récupération des bactéries cultivables. Cependant, cette relation repose seulement sur six observations et est fortement influencée par la valeur de 50 % obtenue pour T5. Elle ne doit donc pas être interprétée comme une relation causale. Dans les matrices fromagères, l'activité de l'eau, la structure protéique et la localisation de la phase aqueuse sont généralement plus pertinentes biologiquement que la matière sèche prise isolément.

Dans l'ensemble, l'analyse de corrélation confirme que les réponses observées ne peuvent pas être expliquées par un seul paramètre. L'incorporation des microalgues modifie simultanément plusieurs composantes de la matrice fromagère, et les effets microbiologiques semblent résulter d'interactions complexes plutôt que d'une simple conséquence du pH ou de la matière sèche.

Les données sensorielles n'ont volontairement pas été incluses dans la matrice de corrélation. En effet, les résultats sensoriels disponibles sont regroupés uniquement en trois catégories — témoin, spiruline et chlorelle — alors que les paramètres physico-chimiques et microbiologiques sont disponibles pour sept traitements distincts. Une corrélation numérique entre ces deux structures de données nécessiterait d'agréger artificiellement les traitements, ce qui réduirait l'analyse à trois observations et ne serait pas statistiquement défendable.

III.1.9. Discussion générale

Les résultats obtenus montrent que l'enrichissement du fromage frais par *Arthrospira platensis* et *Chlorella vulgaris* produit une réponse complexe dans laquelle les modifications physico-chimiques restent relativement limitées, alors que les effets microbiologiques et sensoriels sont plus marqués. Cette observation illustre l'un des principaux défis associés à la formulation d'aliments fonctionnels à base de microalgues : l'amélioration potentielle de la valeur nutritionnelle et fonctionnelle doit être conciliée avec le maintien des caractéristiques technologiques et sensorielles attendues par le consommateur.

Le maintien du pH entre 5,20 et 5,40 montre que les niveaux d'incorporation utilisés dans la présente étude n'ont pas profondément perturbé l'équilibre acido-basique de la matrice. La faible amplitude des variations est cohérente avec les données disponibles sur les produits laitiers enrichis en microalgues. Hernández et al. (2022) ont montré que l'ajout de microalgues dans les fromages et produits fermentés peut modifier certaines caractéristiques technologiques tout en maintenant des valeurs de pH proches de celles des témoins lorsque les concentrations restent modérées. La même revue rapporte notamment que, dans certaines matrices enrichies avec *C. vulgaris*, le pH n'était pas significativement différent du produit témoin.

Cette stabilité est particulièrement importante car elle permet de dissocier l'effet sensoriel de l'effet d'acidification. Dans la présente étude, l'acceptabilité globale diminuait

fortement dans les fromages contenant les microalgues alors que le pH variait de seulement 0,20 unité. La diminution de l'acceptabilité ne peut donc pas être attribuée principalement à une augmentation de l'acidité.

La pigmentation apparaît comme une explication beaucoup plus probable. La biomasse d'*Arthrospira* contient notamment de la chlorophylle et des phycobiliprotéines, tandis que *Chlorella* est particulièrement riche en chlorophylles. Leur incorporation transforme donc une matrice naturellement blanche en un produit plus ou moins vert selon l'espèce et la concentration. Hernández et al. (2022) rapportent que l'augmentation du niveau d'*A. platensis* dans certains fromages est associée à une diminution de la coordonnée a^* et donc à une intensification de la coloration verte. Cette modification est directement susceptible d'affecter la perception du consommateur puisque la couleur constitue l'un des premiers signaux utilisés pour anticiper la qualité sensorielle d'un aliment.

Dans la présente étude, cette hypothèse est renforcée par la diminution du score d'aspect et de couleur de 5,0/5 pour le témoin à 2,6/5 pour la spiruline et 2,2/5 pour la chlorelle. Le score inférieur de la chlorelle suggère que la couleur obtenue avec cette biomasse s'écartait davantage de l'apparence attendue d'un fromage frais. Cependant, une coloration verte n'est pas intrinsèquement incompatible avec l'acceptabilité du consommateur. Falcão et al. (2023) ont montré que des fromages frais enrichis avec 2 ou 4 % de *C. vulgaris* pouvaient présenter une acceptabilité sensorielle satisfaisante, particulièrement dans une matrice de type creamcheese. Les auteurs ont également montré que les consommateurs étaient capables de distinguer les niveaux d'incorporation à partir de la couleur.

Cette différence entre les études souligne l'importance de l'effet matrice. La même microalgue peut être perçue différemment selon la teneur en matières grasses, l'onctuosité, l'acidité, le niveau de sel et la structure du fromage. Une matrice plus riche et plus crémeuse peut probablement atténuer certaines notes algales et rendre la couleur verte plus cohérente avec l'expérience sensorielle globale.

Les résultats relatifs à l'odeur et à l'arôme confirment que la limitation sensorielle ne dépend pas uniquement de la couleur. Les scores étaient de 2,2/5 pour la spiruline et 2,4/5 pour la chlorelle, contre 5,0/5 pour le témoin. Les travaux récents de Zhao et al. (2024) montrent que les microalgues comestibles présentent des profils aromatiques complexes et

spécifiques. *Spirulina* est notamment associée à des caractères salés et umami ainsi qu'à certaines notes boueuses ou florales liées à des composés soufrés et des cétones, tandis que les espèces de *Chlorella* présentent des notes de type algue, végétal ou champignon associées notamment aux aldéhydes et aux alcools.

Ces caractéristiques expliquent probablement pourquoi les différences sensorielles restent importantes malgré les faibles niveaux d'incorporation utilisés. Dans une matrice douce comme le fromage frais, des concentrations relativement faibles de composés aromatiques peuvent devenir perceptibles. Des résultats similaires ont été rapportés pour la ricotta enrichie en microalgues : les concentrations élevées de biomasse étaient généralement associées à une diminution de l'appréciation de l'odeur et de la flaveur.

Les résultats obtenus avec la spiruline sont également cohérents avec les essais réalisés sur des fromages mous enrichis avec 0,25, 0,50 et 1 % d'*A. platensis*. Les formulations contenant 0,25 et 0,50 % étaient préférées à celle contenant 1 %, principalement parce que l'augmentation de la biomasse intensifiait l'odeur et le goût caractéristiques de la spiruline. Cette observation est particulièrement pertinente pour la présente étude et suggère que les concentrations les plus faibles mériteraient d'être évaluées séparément lors d'un futur test sensoriel.

Sur le plan microbiologique, toutes les formulations ont conservé des populations de bactéries lactiques proches de 10^7 UFC/g. Ce maintien constitue un résultat technologiquement intéressant car il montre que l'enrichissement jusqu'à 0,75 % n'a pas provoqué d'inhibition majeure de la flore fermentaire. La corrélation positive entre le taux d'incorporation et $\log_{10}$ UFC/g était modérée ($r = +0,406$), mais non significative. Les valeurs élevées enregistrées à 0,75 % pour les deux biomasses pourraient néanmoins traduire une meilleure disponibilité de certains nutriments ou facteurs de croissance.

La littérature rapporte que les microalgues peuvent apporter des protéines, acides aminés, vitamines et éléments minéraux susceptibles de favoriser la viabilité de certaines cultures lactiques. Cependant, l'effet est fortement dépendant de la souche et de la matrice, et certains constituants peuvent produire une réponse opposée. Hernández et al. (2022) concluent ainsi que l'impact des microalgues sur les starters et les probiotiques ne peut pas être généralisé et doit être évalué pour chaque combinaison produit microalgue microorganisme.

Il est donc important de ne pas interpréter les valeurs élevées obtenues à 0,75 % comme la démonstration d'un effet prébiotique. Un véritable effet prébiotique nécessiterait des investigations spécifiques et ne peut être établi à partir d'un simple dénombrement sur MRS. Les résultats montrent uniquement que les biomasses sont compatibles avec le maintien d'une population élevée de bactéries lactiques cultivables.

Au-delà des paramètres mesurés ici, l'intérêt des microalgues dans les produits laitiers repose également sur leur potentiel nutritionnel. Falcão et al. (2023) ont montré que l'incorporation de *C. vulgaris* dans des fromages frais pouvait augmenter les teneurs en protéines et en plusieurs éléments minéraux, notamment Mg, P, Cu, Zn, Fe et Mn, tout en augmentant l'activité antioxydante. Une revue systématique récente consacrée aux algues et cyanobactéries dans les produits laitiers conclut également que leur incorporation peut améliorer la teneur en protéines, fibres, minéraux et composés bioactifs, ainsi que certaines propriétés de rétention d'eau et de stabilité de la matrice. Elle souligne toutefois que l'augmentation des concentrations est fréquemment associée à des modifications défavorables de la couleur, de l'arôme et de la saveur.

Les résultats de la présente étude s'inscrivent directement dans ce compromis. D'un côté, la stabilité du pH et le maintien d'une population lactique élevée indiquent que l'incorporation des microalgues est technologiquement réalisable. De l'autre, les scores sensoriels montrent que l'acceptabilité constitue actuellement le principal facteur limitant. La formulation optimale ne sera donc probablement pas celle contenant la plus grande quantité de microalgue, mais celle offrant le meilleur compromis entre enrichissement fonctionnel et acceptabilité.

Cette conclusion souligne également l'intérêt d'associer les prochaines analyses sensorielles à des mesures instrumentales. Une détermination des coordonnées CIELAB L*, a* et b* permettrait d'établir directement la relation entre l'intensité de la coloration verte et l'appréciation visuelle. De même, une analyse de profil de texture permettrait d'examiner les relations entre fermeté, adhésivité ou cohésivité et texture perçue. Cette approche est cohérente avec les travaux de Falcão et al. (2023), qui ont combiné analyse de texture, rhéologie et évaluation sensorielle afin de mieux comprendre l'effet de *C. vulgaris* sur le fromage frais.

La mesure des pigments et de l'activité antioxydante permettrait également de relier plus directement le bénéfice fonctionnel au coût sensoriel de l'enrichissement. Une approche multivariée utilisant ensuite une analyse en composantes principales ou une régression PLS pourrait mettre en relation les variables physico-chimiques, les paramètres instrumentaux, les populations bactériennes et les réponses sensorielles. Zhao et al. (2024) ont précisément utilisé des approches multivariées pour relier les profils sensoriels des microalgues à leurs composés volatils et non volatils.

En définitive, les résultats montrent que *A. platensis* et *C. vulgaris* peuvent être incorporées dans un fromage frais à faible concentration sans provoquer d'altération majeure du pH ni d'effondrement de la population lactique. Cependant, leur influence sur l'aspect, la couleur et le profil aromatique demeure suffisamment importante pour réduire l'acceptabilité du produit. La prochaine étape ne doit donc pas consister à augmenter le taux d'incorporation, mais à définir avec précision une fenêtre optimale de formulation dans laquelle l'amélioration nutritionnelle et fonctionnelle reste mesurable tout en préservant une perception sensorielle compatible avec les attentes des consommateurs.

CONCLUSION

Conclusion

L'objectif central de cette démarche de recherche, dédiée à la valorisation des ingrédients fonctionnels au service de l'innovation agroalimentaire, résidait dans l'analyse de faisabilité liée à l'intégration de deux microalgues *Spirulina platensis* et *Chlorella vulgaris* au sein d'une matrice de fromage frais.

Au fil d'un protocole expérimental articulé autour de divers taux d'incorporation (0,25 %, 0,5 % et 0,75 %), couplé à un suivi physico-chimique et microbiologique rigoureux, plusieurs enseignements clés se dégagent :

Sur le plan technologique et physico-chimique : Si l'apport de ces biomasses végétales influence nettement certaines propriétés de la matrice finale à l'image de la coloration ou du taux de matière sèche, l'évolution du pH demeure remarquablement stable tout au long de la transformation.

Sur le plan microbiologique : Les contrôles sanitaires effectués sur les milieux de culture ciblés valident la conformité hygiénique des différents lots préparés, confirmant ainsi l'absence de risque pour la santé du consommateur.

Sur le plan sensorielle : Les tests hédoniques conduits auprès du panel révèlent une appréciation globale très favorable, confirmant la viabilité commerciale de ces prototypes laitiers enrichis et à haute valeur nutritionnelle.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

- Aissaoui, I., & Zarza, S. (2021). La production des métabolites par les micro-algues. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine 1. P. 45.
- AISSAOUI Fatma Zohra, FECIH Khaoula. (2022). Étude de la qualité physicochimique du lait cru vendu dans la ville de Djelfa. Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université Ziane Achour – Djelfa. P. 04.
- Ama Moor, V. J., & al. (2016). Chemical composition of *Spirulina platensis* of Nomayos-Yaounde (Cameroon). *Annals. Food Science and Technology*, 17(2), 342–348. P. 524.
- ATTARI Sihem. (2019). Appréciation de l'aptitude fromagère des laits de vaches individuelles de la ferme expérimentale : Test d'aptitude fromagère et de rendement fromager. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en Sciences alimentaires. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. P. 17.
- AZIZI Bouchra, ZEMAM Manal, MOSRANE Manal. (2022). Incorporation de la spiruline dans un fromage fabriqué à partir de lait de vache. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master, spécialité : Microbiologie Appliquée. Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana. P. 27.
- Barukčić, I., Ščetar, M., Marasović, I., LisakJakopović, K., Galić, K., & Božanić, R. (2020). Evaluation of quality parameters and shelf life of fresh cheese packed under modified atmosphere. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 2722–2731.
- BEDDIF Bouchra, BELGHAZI Nadjat. (2021). Les analyses physicochimique et microbiologique du lait cru de vache. Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. P. 06.
- BENALLEGUE, H et DEBBECHE, S N E H. (2015). Etude de la qualité physicochimique et microbiologique de 3 marques de lait U.H.T. (Candia, Obeï et Hodna). Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine 1. P. 11.
- Bettera, L., Levante, A., Bancalari, E., Bottari, B., & Gatti, M. (2023). Lactic acid bacteria in cow raw milk for cheese production: Which and how many? *Frontiers in Microbiology*, 13, 1092224.
- Bosnea, L., Terpou, A., Pappa, E., Kondyli, E., Mataragas, M., Markou, G., & Katsaros, G. (2021). Incorporation of *Spirulina platensis* on traditional Greek soft cheese with respect to its nutritional and sensory perspectives. *Proceedings*, 70(1), 99. https://doi.org/10.3390/foods_2020-07600.

Bibliographie

- BOUKHALFA Khedidja. (2019). Qualité physicochimique et microbiologique du lait cru de vache des races bovines locales et importées. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en biologie. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. P. 02.
- CHEREF Zahia et CHERIFI Thiziri. (2023). Estimation de la qualité nutritionnelle des fromages / Préparation alimentaire au fromage commercialisée en Algérie. Mémoire de Master académique. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. P. 06.
- Dejoye Tanzi, Céline. (2013). Eco-Extraction et Analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo-carburant. Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. HAL thèses. P. 24.
- Dejoye Tanzi, Céline. (2013). Eco-Extraction et Analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo-carburant. Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. HAL thèses. P. 69–70.
- DJABALLAH, I., CHELBI, R., HENKA, F., & MEHRIG, A. (2022). Fabrication d'un fromage à pâte molle type camembert à base du lait camelin et du lait caprin avec la pepsine de poulet. Mémoire de Master académique. Université Echahid Hamma Lakhdar – El Oued. P. 30.
- Falcão, R. L., Pinheiro, V., Ribeiro, C., Sousa, I., Raymundo, A., & Nunes, M. C. (2023). Nutritional improvement of fresh cheese with microalga *Chlorella vulgaris*: Impact on composition, structure and sensory acceptance. *Food Technology and Biotechnology*, 61(2), 259–270.
- Filali, R. (2012). Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO₂. Thèse de doctorat. École Centrale Paris; Supélec. P. 20.
- Gaignard, C. (2019). Criblage, identification et caractérisations physico-chimiques d'exopolysaccharides de microalgues et Cyanobactéries. Thèse de doctorat. Université Clermont Auvergne. Archive ouverte de l'Université Clermont Auvergne. P. 35.
- HAMLAOUI Nada. (2020). Contribution à l'étude de qualité des trois laits : lait de vache, lait de chèvre et lait de chamelle. Mémoire en vue d'obtention du Diplôme de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma. P. 22.

Bibliographie

- Helaimia Douaa, Zairi Safa. (2025). Évaluation de la qualité hygiénique d'un fromage traditionnel algérien Jben Elgafs frais. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Science biologique. Université de Larbi Tebessi – Tebessa. P. 04.
- Hernández, H., Nunes, M. C., Prista, C., & Raymundo, A. (2022). Innovative and healthier dairy products through the addition of microalgae: A review. *Foods*, 11(5), 755.
- IBRAHIM, R. (2023). Evaluation de la qualité d'un fromage frais artisanale de la région de BEN YANI. Mémoire de Master Académique. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. P. 17.
- IBRAHIM R. (2023). Évaluation de la qualité d'un fromage frais artisanale de la région de BEN YANI. Mémoire de Master Académique. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. P. 18–19.
- International Organization for Standardization. (1998). ISO 15214:1998. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-count technique at 30 °C. Geneva: ISO.
- KADRI Nariman, ZEHI Ahlam. (2019). Contribution à l'extraction et la caractérisation partielle des exopolysaccharides issus de microalgues isolées du chott Aïn El-Beïda, Ouargla. Mémoire de Master Académique. Université Kasdi Merbah – Ouargla. P. 13.
- Khettab, Z., & Toumi, F. (2020). Contribution à la production de microalgues riche en lipides isolées de la région d'Oued Righ. Mémoire de Master. Université Echahid Hamma Lakhdar – El Oued. P. 26.
- Kolte, P. B., Jadhav, V., & Sanap, G. (2025). Nutritional and medical applications of spirulina. *International Journal of Science and Research Archive*, 14(01), 638–648. P. 645.
- KOURGHLI, S et HADJ AMMER, S. (2018). Analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait pasteurisé conditionné de Laiterie Fromagerie de Boudouaou. Mémoire de Master. Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira. P. 12.
- Kovalski, G., & Ventura, S. P. M. (2025). Benefits, challenges and future of incorporation of algae into dairy products such as cheese and yogurt. *Journal of Food Composition and Analysis*, 147, 108045. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2025.108045>.

Bibliographie

- Marouf, S, & Mecheri, I. (2020). Isolement des souches microalgales productrices des polysaccharides du Sahara algérienne. Mémoire de Master Académique. Université Kasdi Merbah – Ouargla. P. 10.
- MENASSEL Chahinez. (2019). Contrôle de qualité du fromage frais « j’ben » à partir du lait cru de vache. Mémoire de Master académique. Université Kasdi Merbah – Ouargla. P. 07.
- Mendes, A. R., Spínola, M. P., Lordelo, M., & Prates, J. A. M. (2024). Chemical compounds, bioactivities, and applications of *Chlorella vulgaris* in food, feed and medicine. *Applied Sciences*, 14, 10810. <https://doi.org/10.3390/app142310810>.
- MEZARJA Karima. (2018). Essai de fabrication d’un fromage frais à partir de souches autochtones. Mémoire de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem. P. 24.
- MOGHTIT, K. (2023). Impact d’ajout des composés phénoliques des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare*) comme additif naturel sur la qualité et la stabilité d’un fromage frais de terroir type J’ben. Mémoire de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem. P. 18.
- Mohammed Cherif Warda. (2020). Méthodes d'appréciation de la qualité physico-chimique et microbiologique des laits réceptionnés au niveau d'une unité de transformation. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en sciences alimentaires. Université Abdelhamid IBN BADIS Mostaganem. P. 20.
- Nicolotti, C., Cirlini, M., Del Vecchio, L., Hadj Saadoun, J., Bernini, V., Gatti, M., Bottari, B., & Martelli, F. (2025). Lactic acid fermentation of *Chlorella vulgaris* to improve the aroma of new microalgae-based foods: Impact of composition and bacterial growth on the volatile fraction. *Foods*, 14, 1511. <https://doi.org/10.3390/foods14091511>.
- Paterson, S., Majchrzak, M., Alexandru, D., Di Bella, S., Fernández-Tomé, S., Arranz, E., de la Fuente, M. A., Gómez-Cortés, P., & Hernández-Ledesma, B. (2024). Impact of the biomass pretreatment and simulated gastrointestinal digestion on the digestibility and antioxidant activity of microalgae *Chlorella vulgaris* and *Tetraselmis chuii*. *Food Chemistry*, 453, 139686. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139686>.
- POUGHEON S. (2001). Contribution à l’étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire diplôme d’État. Université Paul-Sabatier de Toulouse. P. 14.

Bibliographie

- Pérez-Alva, A., MacIntosh, A. J., Baigts-Allende, D. K., García-Torres, R., & Ramírez-Rodrigues, M. M. (2022). Fermentation of algae to enhance their bioactive activity: A review. *Algal Research*, 64, 102684. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102684>.
- RACHEL Langlois-Deshaies. (2022). Impact des traitements thermiques sur la concentration et la bioactivité des systèmes antimicrobiens naturels dans le lait cru, le lait de fromageries et les fromages du Québec. Mémoire de fin d'étude. Université Laval, Québec, Canada. P. 04.
- Rida, H. (2024). Production des biomolécules issues des microalgues selon le concept de bio-raffinage : Étude des opérations unitaires de fractionnement et modélisation des procédés. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. P. 29.
- SAIDIA, N et KHELAIFIA, I. (2024). Étude caractéristique du lait reconstitué partiellement écrémé de la laiterie AFIA (ANNABA) et calcul théorique de pKa de l'acide lactique l'un des composés clés présents dans le lait. Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma. P. 13.
- Sguera, S. (2008). *Spirulina platensis* et ses constituants : intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincaré – Nancy 1. P. 24.
- Su, Y., Wang, H., Wu, Z., Zhao, L., Huang, W., Shi, B., He, J., Wang, S., & Zhong, K. (2022). Sensory description and consumer hedonic perception of ultra-high temperature milk. *Foods*, 11(9), 1350.
- ZAHRI Chahinez, BOUFARRAD Noureddine. (2025). Etude bactériologique de lait de vache pasteurisé réfrigéré additionné d'un extrait naturel. Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master. P. 03.