



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر

Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Toxicologie

Étude de la préparation d'un chocolat à base de caroube enrichi en spiruline

Présentés Par :

BENNAMIA khaoula

CHETTI alya

ZERROUK mourad

Devant le jury composé de :

Président :		M.C.B, Université d'El Oued.
Examineurs :		M.A.A, Université d'El Oued.
Promoteur :	KIRAM Abderrazak	M.A. A, Université d'El Oued.

Année universitaire 2024/2025

Remerciements

Remerciement

*Louange à Dieu, par Sa grâce les bonnes œuvres s'accomplissent.
C'est avec Son aide et Sa bénédiction que ce travail a pu être mené à bien.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude à **Monsieur KIRAM Abderrazak**, notre encadrant, pour la confiance qu'il nous a accordée, la pertinence de ses remarques, ses conseils avisés et son accompagnement constant tout au long de ce travail.*

Nous adressons également nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire, que ce soit par leur soutien moral, leur aide technique ou scientifique.

Nos remerciements vont aussi à l'ensemble des enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Echahid Hamma Lakhdar – El Oued, pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont dispensé tout au long de notre parcours universitaire.

Enfin, nous n'oublions pas de remercier chaleureusement nos collègues pour leur encouragement, leur solidarité et leur appui tout au long de cette aventure académique.

Dédicaces

الاهداء

إلى من كانت دعواتهم سر توفيقى، ورضاهم سبب نجاحى، إلى من منحونى الحياة، ثم منحونى كل شيء دون انتظار
إلى من شاركونى طفولتى، ضحكاتى، .مقابل، إلى أبى وأمى، لكما كل الحب والامتنان، فأنتم النور الذى أضاء دربى
وأسرارى، إلى من كانوا ولا زالوا ظهري في كل الظروف، إلى إخوتى وأخواتى الأعزاء، وجودكم في حياتى نعمة لا تقدر
وإلى أولئك الذين جعلوا مشوار الدراسة أخف وطأة، إلى من جمعتنى بهم أجمل الذكريات، وأصدق اللحظات، إلى .بشمن
أهديكم ثمرة جهدي وتعب سنين، فنجاحي .أصدقائي الرائعين، لكم كل الشكر والمحبة، فأنتم جزء لا يتجزأ من هذا الإنجاز
لا يكتمل إلا بكم

.زروق مراد

الاهداء

بسم الله الرحمن الرحيم لم تكن الرحلة قصيرة ولا الطريق محفوفاً بالتسهيلات لكنني فعلتها ، فالحمد لله الذي يسر البدايات وبلغنا النهايات بفضلته وكرمه .أهدي هذا النجاح لنفسي الطموحة أولاً ابتدأت بطموح وانتهت بنجاح ثم إلى كل من سعى معي لإتمام مسيرتي الجامعية دمت لي سنداً لا عمر له .وبكل حب أهدي تخرجي وثمره جهدي وحصاد ما زرعته سنيناً طويلة في سبيل العلم إلى أنيسة العمر وحببية الروح وأعظم نعم الله علي التي ضمت اسمي بدعواتها في ليلها ونهارها و أضاءت بالحب دربي وأنارت باللطف والود طريقي و كانت لي سحابة ماطرأ بالحب والبنل والعطاء وكانت سبباً بعد الله فيما أنا عليه الآن.....أمي وإلى من أكرمني الله به وجعله من بين صفوف الرجال أباً لي و زادني به شرفاً و علواً واعتزازاً.....أبي وإلى النور الذي شع ضياءه على قلبي ودربي وكل حياتي من سقو الفؤاد دوماً بطيب كلماتهم وعطاياهم السخية و بوجودهم استشعرت معنى أن يكون للمرء وجهه يستمد منها بهجته وشغاف الحياة وأيقنت معهم أنني حظيت بخير أخوة ورفاق وسندإخواني (خالد ،سيدعلي ،نور الدين)إلى ذلك الذي كان دائماً يسير معي إلى أن أصل لوجهتي ويطمئن علي ثم يحيطني بدعواته ...إلى شريك نجاحي الذي كان لي السند والعوض كان لي الأب و الأخ و الصديق داعمي الأول و وجهتي التي استمد منها القوة إلى من ساندني بكل حب عند ضعفي إلى من رسم لي المستقبل بخطوط من الثقة والحب إلى شريك نجاحي الذي شاركني هذا الطريق إلى من هون تعب الطريق إلى من شجعني على المثابرة وإكمال المسيرة إليك أهدي تخرجي.....فتح الله إلى من احتوتني في أصعب أيامي ومدت لي يد العون، فكانت نعم الصديقة و الأخت و الزميلة إلى من تشاركت معها إنجاز هذه المذكرة وكانت منذ عرفتها سنداً ومصدر إلهام لي.....علياء إلى جميع من أمدوني بالقوة والتوجيه وأمن بي ودعمني في الأوقات الصعبة لأصل إلى ما أنا عليه الآن الأصدقاء الأوفياء ، رفقاء الدرب الذين أمدوني دائماً بالقوة كانوا موضع اتكاء في كل عثرائي في أحلك الظروف وأصلوا دعمي وتشجيعي..... أنعام ، سهى، كوثر، مروة ،يسرى، عايشة

بن نعية خولة

الاهداء

بسم الله، والحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات، وبتوفيقه تُفتح الأبواب، وتُكتب النهايات كما تمنيناها ذات حلم. حين يصبح الحلم حقيقة، والجهد ثمرة، والكلمات شاهدة على رحلة مضيئة من العطاء والسهر، لا يسع القلب إلا أن ينحني امتنانًا لكل من كان نورًا في دربي، وسندًا في خطواتي، وسببًا في أن أصل إلى هذه اللحظة التي أهدي فيها ثمرة جهدي، إلى والدي العزيز، سندي الأول، الذي لم يبخل عليّ يومًا، وكان معي قلبًا ودعاءً وخطوة بخطوة، فلك كل الامتنان والمحبة إلى أُمي الغالية، التي كانت نوري في كل عتمة، ورفيقتي في كل لحظة، شاركتني أفكاري واحتضنت تعبي بدفء قلبها ونقاء روحها.

إلى جدتي الغالية، التي أسأل الله لها الشفاء والعافية، ودوام الصحة، فقد كانت وما زالت بدعائها وحبّها تملأ حياتي سكينًا وأمانًا.

وإلى جدتي الحبيبة رحمها الله، التي لا تزال دعواتها تحيطني رغم الغياب، وأسأل الله أن يجعل قبرها روضة من رياض الجنة.

جهينة، نذير، ابتهاج، وولاء، كنتم لي العون والسند، وكان حضوركم في حياتي نعمة لا تُقدّر بثمن: إلى إخوتي الأعزاء رامي كنان ومسك ريناد، حفظكم الله لي ومتعني بضحكاتكم ونقاء قلوبكم: إلى الأحباب الصغار، زينة الحياة وفرحتها شوقي بالتومي، شكرًا لنبلك: إلى من كان لي السند والرفيق، من رافقتني بكل حب وصدق، ولم يبخل عليّ يومًا بشيء وموافقك التي لا تُنسى.

خولة، التي كانت الحزن الدافئ في لحظات التعب، والدافع الصادق في كل منعطف: إلى صديقتي ورفيقة دربي إلى حاتم، الذي كان لي خير داعم في أوقات كثيرة، فشكرًا لك على كلماتك التي رفعت من معنوياتي،

مريم، سهى، مروى، عائشة: وإلى رفقائي المميزين، من ساندوني بمحبتهم ووقفوا إلى جانبي في كل مراحل هذا المشوار. كوثر، ويسرى، فبكم كان الطريق أيسر وأجمل.

لكم جميعًا، أهدي ثمرة جهدي هذه، عربون وفاء وتقدير لكل لحظة كنتم فيها إلى جانبي

شطي علياء

Résumé

Résumé

Grâce à l'abondance des ressources locales telles que le caroube et la spiruline dans notre région, nous avons développé un produit alimentaire innovant : une chocolatine à base de caroube enrichie en spiruline, combinant la richesse nutritionnelle du caroube aux propriétés biologiques de la spiruline, ce qui en fait une solution prometteuse dans la lutte contre la malnutrition. Les analyses biochimiques, physico-chimiques et microbiologiques menées sur les matières premières ainsi que sur le produit fini ont révélé une teneur élevée en protéines, minéraux et antioxydants, ainsi qu'une absence de contamination microbienne, garantissant ainsi sa qualité et sa sécurité. Les résultats de l'analyse sensorielle ont montré que l'échantillon enrichi à 5 % de spiruline était le plus apprécié par les participants, notamment en termes de goût et d'apparence, tout en présentant une bonne texture et homogénéité, renforçant son acceptabilité. En conclusion, nous recommandons le développement et la commercialisation de ce produit sur les marchés locaux et internationaux, en raison de ses bénéfices nutritionnels et de son coût économique accessible.

Mots-clés : Chocolat au caroube, spiruline, analyses biochimiques, évaluation sensorielle, , sécurité alimentaire.

Summary

Thanks to the abundance of local resources such as carob and spirulina in our region, we have developed an innovative food product: a carob-based chocolate enriched with spirulina. This formulation combines the high nutritional value of carob with the biological properties of spirulina, making it a promising solution in the fight against malnutrition. Biochemical, physicochemical, and microbiological analyses conducted on both the raw materials and the final product revealed a high content of proteins, minerals, and antioxidants, along with the absence of microbial contamination, ensuring its quality and safety. Sensory evaluation results showed that the sample enriched with 5% spirulina was the most preferred by participants, particularly in terms of taste and appearance, while also demonstrating good texture and homogeneity, enhancing its acceptability. In light of these findings, we recommend the development and marketing of this product both locally and internationally, due to its significant nutritional benefits and affordable cost.

Keywords: Carob chocolate, spirulina, biochemical analysis, sensory evaluation, , food s

الملخص

بفضل وفرة الموارد المحلية مثل الخروب والسبيرولينا في منطقتنا، قمنا بتطوير منتج غذائي مبتكر يتمثل في شكولاتة بالخروب مدعمة بالسبيرولينا، يجمع بين القيمة الغذائية العالية للخروب والخصائص البيولوجية للسبيرولينا، مما يجعله خياراً واعداً في مكافحة سوء التغذية. وقد أظهرت التحاليل البيوكيميائية، والفيزيائية، والميكروبيولوجية التي أجريت على المواد الأولية والمنتج النهائي أن هذا الابتكار يتميز بمحتوى مرتفع من البروتينات والمعادن ومضادات الأكسدة، مع خلوّه من الملوثات الميكروبية، مما يؤكد سلامته وجودته. كما كشفت نتائج التحليل الحسي أن العينة المدعمة بنسبة 5% من السبيرولينا كانت الأكثر تفضيلاً من حيث المذاق والمظهر، وأظهرت أيضاً خصائص جيدة من حيث الملمس والتجانس، ما يعزز قابليتها للاستهلاك. وعليه، نوصي بتطوير هذا المنتج وتسويقه محلياً ودولياً نظراً لفوائده الصحية وسعره الاقتصادي المناسب.

الكلمات المفتاحية: شكولاتة بالخروب، السبيرولينا، التحاليل البيوكيميائية، التحليل الحسي، التغذية الوظيفية، الأمن الغذائي.

Sommaire

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Sommaire

<u>Introduction Générale</u>	Error! Bookmark not defined.
prtie 1 (théorique)	
<u>Chapitre 1 : Le chocolat</u>	
<u>1. Historique et origine botanique et transformation du cacao</u>	<u>5</u>
<u>2. Définition du chocolat</u>	<u>5</u>
<u>3. Préparation du chocolat</u>	<u>5</u>
<u>4. Composition nutritionnelle et biochimique du chocolat</u>	<u>7</u>
<u>5. Différents types du chocolat</u>	<u>9</u>
<u>6. Effets biologiques du chocolat sur l'organisme</u>	<u>9</u>
<u>1.1 Santé cardiovasculaire</u>	<u>9</u>
<u>1.2 Fonction cognitive</u>	<u>10</u>
<u>1.3 Microbiote intestinal</u>	<u>10</u>
<u>1.4 Risques potentiels et recommandations de consommation</u>	<u>10</u>
<u>1.5 Utilisation du chocolat comme matrice pour produits enrichis</u>	<u>11</u>
<u>Chapitre 2 : La caroube</u>	
<u>1. Description botanique et répartition géographique</u>	<u>13</u>
<u>2. Définition du caroube</u>	<u>14</u>
3. Classification botanique	14
4. Valeur nutritive de chocolat	
<u>5. Parties utilisées et transformation</u>	<u>15</u>
<u>6. Composition chimique</u>	<u>16</u>
<u>7. Propriétés nutritionnelles et technologiques</u>	<u>17</u>
<u>8. Rôle dans l'alimentation fonctionnelle</u>	<u>17</u>
<u>Chapitre 3 : La spiruline</u>	

<u>1.Définition de la Spiruline</u>	<u>20</u>
<u>2.Origine et classification biologique</u>	<u>20</u>
<u>3.Classification de la spiruline</u>	<u>21</u>
<u>5.Propriétés fonctionnelles et bienfaits pour la santé</u>	<u>22</u>
<u>6.Applications dans l'alimentation fonctionnelle</u>	<u>23</u>
partie 2 (pratique)	
chapiter1: matériel et méthode	
<u>1.Matériel</u>	<u>26</u>
<u>1.1 Matériel biologique</u>	<u>26</u>
<u>1.2 Matériel non biologique</u>	<u>27</u>
<u>1.3 Matériel d'analyses</u>	<u>27</u>
<u>1.4 Réactifs et produits chimiques</u>	<u>28</u>
<u>1.4.1 Réactifs pour la Minéralisation et la Digestion des Échantillons</u>	<u>28</u>
<u>1.4.2 Réactifs pour la Distillation et la Titration</u>	<u>28</u>
<u>1.4.3 Réactifs pour les Analyses Spécifiques</u>	<u>28</u>
<u>1.4.4 Solvants et Milieux de Culture</u>	<u>28</u>
<u>1.4.5 Milieux de Culture Spécifiques</u>	<u>29</u>
<u>1.4.6 Milieux de Culture Sélectifs</u>	<u>29</u>
<u>2.Méthodes</u>	<u>29</u>
<u>2.1Préparation du chocolat</u>	<u>29</u>
<u>2.1.1Chocolat à la caroube (100 g)</u>	<u>29</u>
<u>2.1.2Chocolat au cacao et caroube (100 g)</u>	<u>31</u>
<u>2.2Intégration de la Spiruline dans le Chocolat au Caroube et Cacao</u>	<u>32</u>
3Analyses biochimiques	35
3_1Quantification des protéines	35
3.2 Teneur en cendres	36
3_3 Dosage des lipides	39

4 _Analyse physico-chimique	40
4_1 Analyse de la salinité	40
5.Analyse microbiologique	41
5.1Recherche des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT)	42
5_2Recherche des staphylocoques à coagulase positive (SCP)	43
5_3In Recherche et dénombrement des levures et moisissures	44
5.4 Recherche de Staphylococcus aureus	44
5_5Recherche et dénombrement des Enterobacteriaceae	45
5_6Recherche de Salmonella spp	46
6_.Analyse sensoriel	47
chapiter2: : Résultats et discussion	
1.Analyse physico-chimique	54
1.1Teneur en protéines	54
1.2Glucides	55
1.3Analyse de la Teneur Lipidique	57
1_4 Taux de salinité	59
1.5 Résultat d'analyse physicochimique	60
2.d'analyse microbiologique	61
2.1Valeur énergétique	63
2.2Analyse sensorielle	65
Conclusion	74
Références	77
Annexes	82

Liste des tableaux

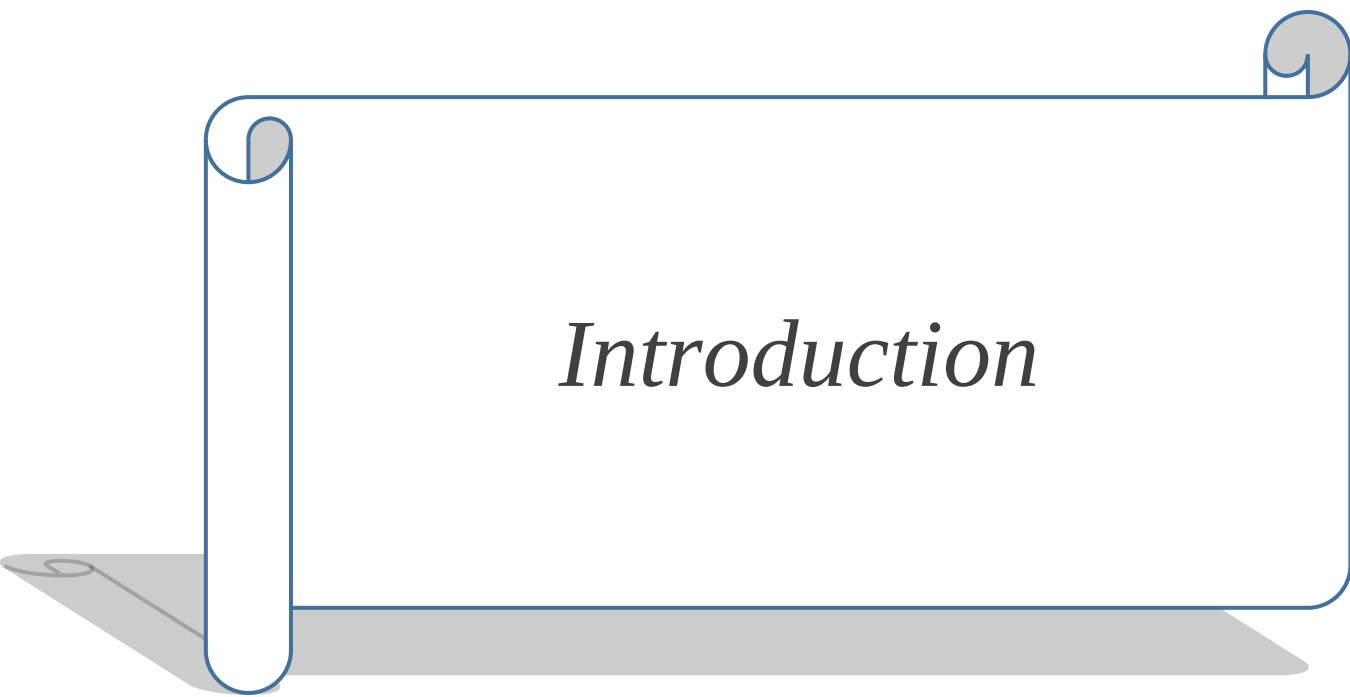
Liste des tableaux

Tableau 1 : Etape de fermentation du cacao et micro-organismes associés (Gbogbri,. 2019)	7
Tableau 2 : Teneurs en flavonols et théobromine selon le type de chocolat. (Cooper., 2007).	8
Tableau03: classification botanique	14
Tableau04: valeur nutritive du chocolat	15
Tableau 05 : Composition chimique moyenne de la caroube (poudre de gousse) (Boublenza et al., 2017 ; Custódio et al., 2022)	17
Tableau06: classification scientifique de la spiruline	21
Tableau 07: Composition nutritionnelle moyenne de la spiruline (poudre sèche) (Verma et al., 2024 ; Fourchaud, 2025)	22
Tableau08: résultat d'analyse et physicochimique	61
Tableau09: résultat de contrôle de qualité microbiologique	61

Liste des figures

Liste des figures

<u>Figure 1:</u> Illustration botanique du caroubier	13
<u>Figure 2 :</u> culture de la spiruline dans une photo bioréacteur	21
<u>Figure 3 :</u> les bienfaits de la spiruline.	23
<u>Figure4:</u> Poudre de caroube et spiruline	26
<u>Figure5:</u> Préparation du chocolat	31
<u>Figure 6:</u> Pesé des ingrédients.	33
Figure 7: Des échantillons de chocolat au caroub enrichi en spiruline et de chocolat classique enrichi en spirulin	49
Figure 8: présentation des échantillons et du matériel utilisé	50
Figure 9: participants au test de dégustation	51
Figure 10: Représentation graphique de la teneur en protéines dans les produits alimentaires contenant 5 % de spiruline	54
<u>Figure 11 :</u> :Représentation graphique de la teneur en glucides dans les produits alimentaires contenant 5 % de spiruline.	56
<u>Figure 12 :</u> Représentation graphique de la teneur en matières grasses dans les produits alimentaires contenant 5 % de spiruline._	57
<u>Figure 13 :</u> Graphique représentant le taux de salinité dans les produits alimentaires suivants : chocolat à la caroube et chocolat au cacao enrichis à 5 % de spiruline, chocolat non enrichi et spiruline pure	50
Figure 14 : Graphique illustrant la valeur énergétique des produits alimentaires contenant 5 % de spiruline, ainsi que du chocolat	64
Figure15 : Classification ascendante hiérarchique d'enquêtée	71
Figure 16 : évaluation comparative entre deux échantillon	73



Introduction

Introduction Générale

La recherche de nouveaux aliments fonctionnels s'est intensifiée ces dernières années, notamment en réponse aux préoccupations croissantes concernant la santé, la nutrition, et la prévention des maladies non transmissibles. L'alimentation moderne, souvent pauvre en micronutriments essentiels, nécessite des formulations innovantes qui allient **valeur nutritionnelle, acceptabilité sensorielle et bénéfices pour la santé** (Delzenne & Cani, 2021).

Dans ce cadre, des ingrédients naturels comme la **spiruline**, la **caroube** et le **chocolat** se présentent comme des composants idéaux pour la formulation de produits enrichis. La spiruline, microalgue riche en protéines, vitamines, minéraux et antioxydants, est considérée comme un **super-aliment** reconnu par la FAO (2016) pour sa capacité à lutter contre la malnutrition. La caroube, plante méditerranéenne riche en fibres et sucres naturels, peut agir comme un **agent texturant et sucrant naturel**, tandis que le chocolat constitue une matrice alimentaire **attrayante et populaire**, facilitant l'acceptabilité du produit final.

Ainsi, la formulation d'un **produit à base de chocolat enrichi en spiruline et caroube** représente une réponse innovante à la demande croissante pour des aliments à **valeur ajoutée nutritionnelle**, en particulier pour les groupes à risque (enfants, sportifs, personnes âgées...).

- **Problématique**

Comment formuler un aliment à base de chocolat enrichi en spiruline et en caroube, alliant **valeurs nutritionnelles renforcées, stabilité technologique, et acceptabilité sensorielle**, afin de proposer une solution alimentaire saine et fonctionnelle ?

- **Objectifs de l'étude**

- 1. Objectif général**

Développer une **préparation alimentaire à base de chocolat** enrichie en spiruline et en poudre de caroube, et évaluer ses caractéristiques nutritionnelles, sensorielles et physico-chimiques.

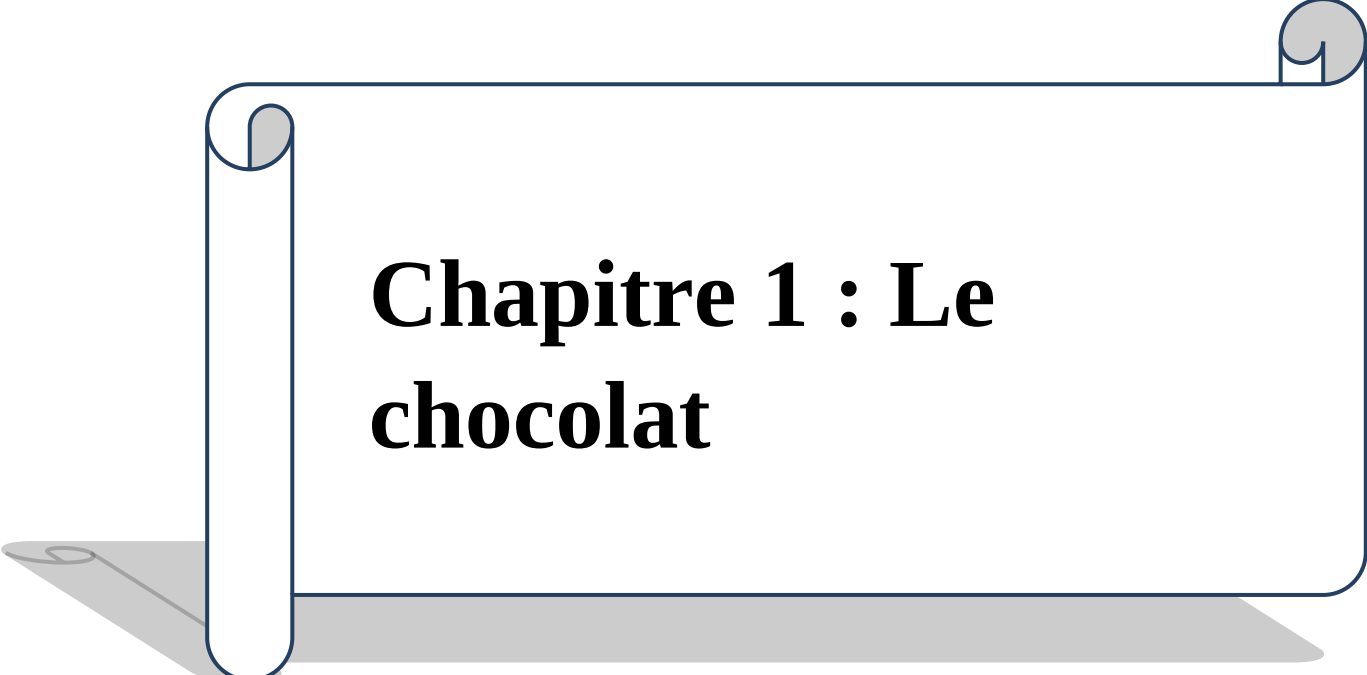
2. Objectifs spécifiques

- Étudier les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des ingrédients (chocolat, spiruline, caroube).
- Déterminer les proportions optimales pour la formulation du produit.
- Analyser les caractéristiques physico-chimiques du produit formulé.
- Évaluer l'acceptabilité sensorielle à travers un panel de dégustation.
- Discuter du potentiel de ce produit comme aliment fonctionnel.

Le présent travail est structuré en trois chapitres : le premier est consacré au chocolat, en mettant en avant sa richesse en flavonoïdes et alcaloïdes bioactifs ; le second porte sur le caroubier, arbre méditerranéen aux vertus nutritionnelles et fonctionnelles notables ; enfin, le troisième chapitre est dédié à la spiruline, en abordant ses propriétés, ses applications et les perspectives de son incorporation dans des produits alimentaires sains et innovants.

Partie1

(théorique)



Chapitre 1 : Le chocolat

1. Historique et origine botanique et transformation du cacao

Le chocolat possède une histoire riche qui remonte aux civilisations mésoaméricaines, notamment les Olmèques, les Mayas et les Aztèques, qui furent parmi les premiers à cultiver le cacaoyer (*Theobroma cacao*). Ces peuples utilisaient principalement les fèves de cacao pour préparer une boisson amère, souvent agrémentée de piment ou de vanille, destinée à des usages rituels, médicaux ou réservée aux élites sociales. Le mot « chocolat » dérive du terme nahuatl *xocolatl*, signifiant littéralement « eau amère » (Coe & Coe, 2013). Avec la conquête espagnole, le cacao fut introduit en Europe au XVI^e siècle, où il subit une transformation progressive, passant d'une boisson médicinale amère à une douceur sucrée, puis à un produit solide tel que nous le connaissons aujourd'hui.

Sur le plan botanique, le *Theobroma cacao* est un arbre tropical cultivé dans les zones équatoriales, principalement en Afrique de l'Ouest, en Amérique latine et en Asie du Sud-Est. Les fèves sont extraites des cabosses du cacaoyer, puis soumises à plusieurs étapes : fermentation, séchage, torréfaction et broyage, aboutissant à la pâte de cacao. La fermentation constitue une phase cruciale dans ce processus, caractérisée par une succession microbienne orchestrée impliquant d'abord des levures (*Saccharomyces cerevisiae*) convertissant les sucres en éthanol, puis des bactéries lactiques et acétiques transformant l'éthanol en acide acétique. Cette dynamique microbienne modifie le pH, contribue à la formation des arômes et influence la concentration en composés bioactifs tels que les polyphénols et les alcaloïdes (Gbogbri, 2019). Le tableau suivant présente les différentes phases de la fermentation ainsi que les micro-organismes dominants associés.

2. Définition du chocolat

Le chocolat est un produit agroalimentaire obtenu à partir des fèves du cacaoyer (*Theobroma cacao*), un arbre tropical originaire d'Amérique centrale. Après fermentation, séchage, torréfaction et broyage, les fèves sont transformées en pâte de cacao, qui constitue la base de toutes les variétés de chocolat. Le chocolat est apprécié à travers le monde pour sa richesse sensorielle et ses bienfaits potentiels pour la santé.

3. Préparation du chocolat

La production du chocolat suit plusieurs étapes technologiques précises :

- **Fermentation des fèves**

Les fèves fraîches sont placées dans des bacs recouverts de feuilles de bananier pendant 5 à 7 jours. Ce processus permet de développer les arômes caractéristiques et d'éliminer les composés amers.

- **Séchage**

Les fèves fermentées sont ensuite séchées au soleil pour réduire leur teneur en humidité à environ 6-7 %, ce qui prévient la moisissure.

- **Torréfaction**

Les fèves sont torréfiées à des températures comprises entre 110 et 150 °C. Cette étape intensifie les arômes et améliore la texture.

- **Broyage**

Les fèves torréfiées sont concassées et broyées pour obtenir la pâte de cacao, contenant à la fois les solides de cacao et le beurre de cacao.

- **Conchage**

Cette étape consiste à malaxer le mélange à haute température pendant plusieurs heures, voire jours, pour lisser la texture et affiner les arômes.

- **Tempérage**

Le chocolat est ensuite tempéré, c'est-à-dire soumis à un cycle précis de chauffage et de refroidissement, pour stabiliser les cristaux de beurre de cacao. Cela permet d'obtenir une brillance homogène et une cassure nette.

- **Moulage et emballage**

Le chocolat tempéré est coulé dans des moules, refroidi, démoulé, puis emballé.

Tableau 1 : Etape de fermentation du cacao et micro-organismes associés (Gbogbri., 2019)

Étape de fermentation	Micro-organismes dominants	Transformation biochimique principale
Fermentation alcoolique	Levures (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida spp.</i>)	Dégradation des sucres en éthanol et CO ₂
Fermentation lactique	Bactéries lactiques (<i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Leuconostoc spp.</i>)	Conversion partielle de l'éthanol et sucres résiduels en acide lactique
Fermentation acétique	Bactéries acétiques (<i>Acetobacter</i> , <i>Gluconobacter</i>)	Oxydation de l'éthanol en acide acétique, abaissement du pH
Phase de dégradation enzymatique	Enzymes fongiques et végétales	Hydrolyse des protéines et glucides, formation des précurseurs d'arômes

4. Composition nutritionnelle et biochimique du chocolat

Le chocolat est une matrice alimentaire complexe dont la composition nutritionnelle et biochimique varie selon le type – noir, au lait ou blanc. Sur le plan nutritionnel, il contient principalement des macronutriments tels que les lipides, les glucides et les protéines, dans des proportions variables selon la variété. Le chocolat noir, par exemple, est particulièrement riche en lipides (entre 30 et 40 %), majoritairement sous forme de beurre de cacao, composé principalement d'acides gras saturés (acide stéarique, acide palmitique) et monoinsaturés (acide oléique). Les glucides, principalement du saccharose, sont présents en plus grande proportion dans le chocolat au lait (jusqu'à 60 %), en raison de l'ajout de sucre. Les protéines, quant à elles, représentent entre 5 et 9 % de la masse totale, avec une teneur plus élevée dans le chocolat au lait grâce à la présence de solides laitiers (Beckett., 2017).

En complément des macronutriments, le chocolat fournit des micronutriments essentiels tels que le magnésium, le fer, le cuivre et le zinc, qui jouent un rôle important dans les fonctions enzymatiques et immunitaires. Il est également une source notable de composés bioactifs, en particulier les flavonoïdes (catéchines, épicatechines et procyanidines), qui sont reconnus pour leur fort pouvoir antioxydant (Álvarez & Moreno-Arribas, 2020). Ces flavanols sont d'autant plus concentrés dans le chocolat noir, ce qui explique ses effets protecteurs supérieurs par rapport aux autres types. D'autres constituants bioactifs incluent la théobromine et la caféine, deux alcaloïdes méthylxanthines aux effets stimulants sur le système nerveux central, ainsi que les phytostérols, qui participent à la régulation du cholestérol sanguin.

Par ailleurs, la fermentation des fèves influence considérablement la qualité nutritionnelle du chocolat final. Elle permet notamment d'améliorer la biodisponibilité des flavonoïdes en réduisant la teneur en tanins, responsables de l'astringence et pouvant interférer avec l'absorption intestinale des polyphénols (Gbogbri, 2019). Le tableau ci-dessous propose une comparaison des teneurs moyennes en flavanols et en théobromine selon les différents types de chocolat.

Tableau 2 : Teneurs en flavanols et théobromine selon le type de chocolat. (Cooper., 2007).

Type de chocolat	Flavanols (mg/100g)	Théobromine (mg/100g)	Commentaires
Chocolat noir (≥70%)	500–800	800–1200	Riche en polyphénols, faible teneur en sucres. Meilleurs effets antioxydants.
Chocolat au lait	100–200	200–500	La présence de lait réduit l'absorption des flavanols (protéines et caséine).
Chocolat blanc	<10	<10	Ne contient pas de pâte de cacao,

			seulement du beurre de cacao et sucre.
--	--	--	--

5. Différents types de chocolat

Il existe plusieurs variétés de chocolat, selon leur composition :

✓ **Chocolat noir (chocolat fondant)**

Contient au minimum 50 % de cacao.

Ne contient pas de lait.

Goût intense, faible en sucre.

Riche en flavonoïdes antioxydants.

✓ **Chocolat au lait**

Contient entre 25 et 40 % de cacao.

Contient du lait en poudre ou concentré.

Goût plus doux et crémeux.

Plus sucré que le chocolat noir.

✓ **Chocolat blanc**

Contient uniquement du beurre de cacao, du sucre et du lait.

Ne contient pas de matières solides de cacao.

N'a pas les mêmes bénéfices antioxydants.

✓ **Chocolat de couverture**

Contient une forte proportion de beurre de cacao.

Utilisé principalement en pâtisserie et confiserie pour l'enrobage.

6. Effets biologiques du chocolat sur l'organisme

1.1 Santé cardiovasculaire

De nombreuses études ont confirmé les effets cardioprotecteurs du chocolat. Les flavanols augmentent la biodisponibilité du NO (oxyde nitrique), favorisant ainsi la vasodilatation et réduisant la pression artérielle. Tanghe (2021) a démontré que même une seule prise de cacao riche en flavanols améliore la vasodilatation périphérique chez des

diabétiques, et réduit les marqueurs d'inflammation vasculaire. Cette action est en partie médiée par l'activation de la voie eNOS/NO dans l'endothélium.

1.2 Fonction cognitive

Les effets neuroprotecteurs du chocolat s'expliquent par une amélioration de la perfusion cérébrale et une réduction du stress oxydatif. Selon Tanghe (2021), les flavanols améliorent les performances cognitives dans des tâches de mémoire de travail et d'attention. L'effet est particulièrement marqué chez les sujets âgés ou présentant un déclin cognitif débutant. Les mécanismes impliqués incluent une meilleure plasticité synaptique et une modulation de l'activité neuronale dans l'hippocampe.

1.3 Microbiote intestinal

Le cacao influence favorablement la composition du microbiote. Gbogbri (2019) indique que les polyphénols non absorbés dans l'intestin grêle atteignent le côlon, où ils sont métabolisés par des bactéries intestinales en composés bioactifs secondaires (acides phénoliques). En retour, ces polyphénols favorisent la croissance de bactéries bénéfiques telles que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, tout en inhibant les pathogènes. Cette interaction bidirectionnelle améliore la santé intestinale et pourrait moduler l'immunité systémique.

1.4 Risques potentiels et recommandations de consommation

Bien que le chocolat présente de nombreux effets bénéfiques sur la santé, notamment en raison de sa richesse en flavonoïdes et autres composés bioactifs, il est essentiel de considérer ses aspects moins favorables. En effet, la plupart des produits chocolatés industriels, notamment les chocolats au lait et blancs, contiennent des quantités élevées de sucres ajoutés et de graisses saturées. Une consommation excessive de ces produits peut entraîner une prise de poids, des troubles métaboliques tels que l'hyperglycémie et une altération du profil lipidique, contrebalançant ainsi les effets protecteurs du cacao (Kris-Etherton & Keen., 2017).

De plus, au-delà de leur densité énergétique élevée, certaines fèves de cacao peuvent contenir des contaminants environnementaux tels que le cadmium et le plomb, en particulier lorsqu'elles sont cultivées sur des sols pollués. Ces métaux lourds, bien qu'en faibles quantités, peuvent s'accumuler progressivement dans l'organisme et être associés à des

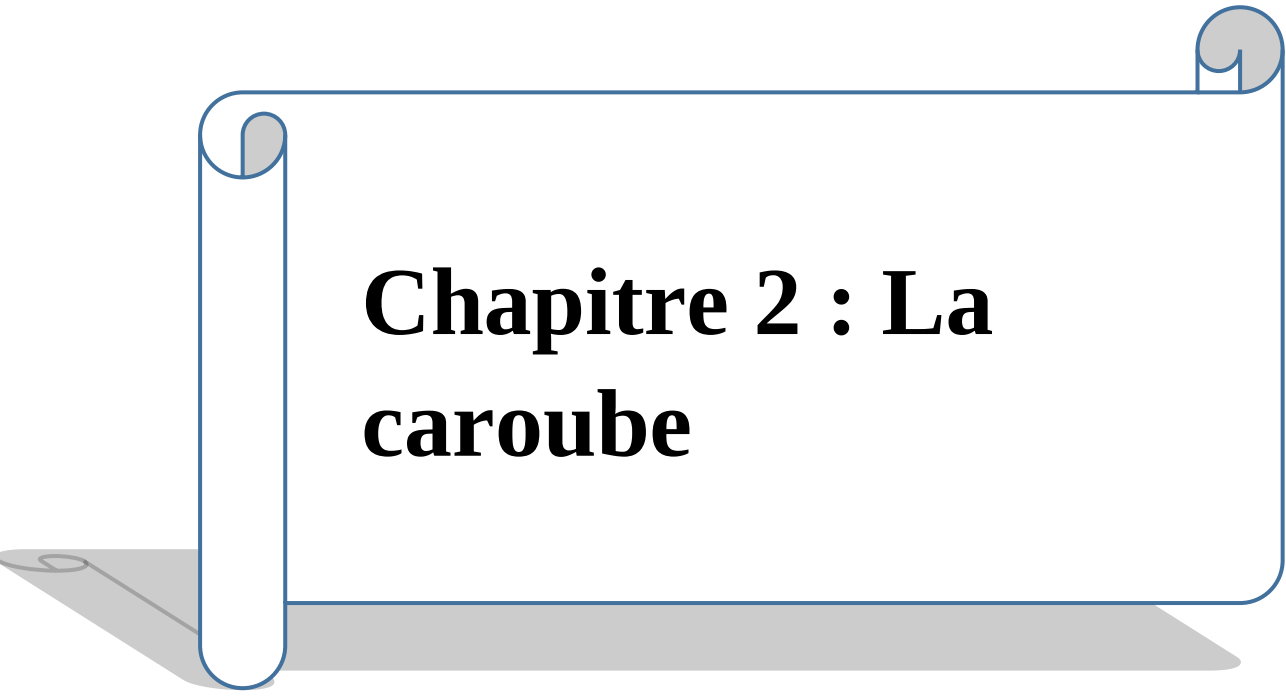
risques neurotoxiques et rénaux (Gbogbri, 2019). La vigilance est donc de mise, tant sur la qualité du produit que sur sa provenance.

Dans cette optique, il est recommandé de privilégier les chocolats noirs contenant plus de 70 % de cacao, dont le profil nutritionnel est généralement plus favorable, avec une teneur plus élevée en flavanols et une moindre quantité de sucres. Une consommation modérée, autour de 20 à 30 grammes par jour, permet de bénéficier des effets cardioprotecteurs, antioxydants et cognitifs du chocolat, tout en limitant les effets indésirables liés à une ingestion excessive.

1.5 Utilisation du chocolat comme matrice pour produits enrichis

Grâce à sa composition riche en matières grasses et à son goût agréable, le chocolat constitue une matrice idéale pour l'incorporation d'ingrédients fonctionnels. Il permet notamment de masquer le goût parfois désagréable d'actifs nutritionnels comme les extraits végétaux, les probiotiques ou encore la spiruline. Cette dernière, en particulier, est riche en protéines, minéraux et antioxydants, et peut être intégrée au chocolat pour développer des produits fonctionnels adaptés à des régimes spécifiques (Hashemi & Jafarpour, 2021).

En outre, le chocolat protège certains composants bioactifs sensibles à l'oxydation ou à la lumière grâce à sa teneur en lipides, favorisant ainsi leur stabilité et leur efficacité. Cette synergie entre matrice gustative et enrichissement nutritionnel ouvre des perspectives intéressantes pour la formulation d'aliments santé appréciés des consommateurs (Fahmy & Saad, 2022).



Chapitre 2 : La caroube

1. Description botanique et répartition géographique

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est un arbre à feuillage persistant appartenant à la famille des *Fabaceae*, pouvant atteindre une hauteur de 10 à 15 mètres à maturité. Il est facilement reconnaissable grâce à ses feuilles coriaces, composées de folioles arrondies, à ses fleurs en grappes de couleur rouge brunâtre, et surtout à ses longues gousses épaisses, appelées caroubes, qui sont particulièrement riches en sucres naturels tels que le saccharose, le glucose et le fructose. Les gousses de caroube, une fois transformées, produisent une pulpe sucrée utilisée comme substitut du cacao, ainsi qu'une gomme extraite des graines, largement exploitée comme épaississant et stabilisant alimentaire (Custódio *et al.*, 2022).

Originaire du bassin méditerranéen, le caroubier a été domestiqué depuis l'Antiquité et est aujourd'hui largement cultivé en Espagne, au Portugal, au Maroc, en Tunisie, en Turquie, mais aussi dans certaines zones arides d'Australie et d'Amérique du Sud, où il a trouvé des conditions favorables à son développement. Sa rusticité remarquable, son faible besoin en eau et sa tolérance élevée à la sécheresse, grâce à un système racinaire profond et à une physiologie adaptée aux climats semi-arides, en font une plante idéale pour les programmes de reboisement, de lutte contre la désertification et de valorisation des terres marginales (Santos *et al.*, 2023).

En plus de son intérêt écologique, le caroubier joue également un rôle socio-économique important dans les régions méditerranéennes, car il permet de diversifier les productions agricoles, de générer des revenus locaux à travers la vente de caroube, et de fournir des matières premières pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique



Figure 1: Illustration botanique du caroubier

2.Définition du caroube

Le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) est un arbre fruitier à feuillage persistant, originaire du bassin méditerranéen. Il appartient à la famille des **Fabaceae** (anciennement Leguminosae) et produit des gousses comestibles appelées **caroubes**. Ces gousses, de couleur brun foncé à maturité, sont riches en sucres naturels, fibres et divers composés bioactifs.

Le fruit du caroubier est traditionnellement utilisé comme substitut naturel du cacao dans diverses préparations alimentaires, notamment grâce à sa saveur sucrée et sa richesse en fibres alimentaires.

3.Classification botanique

Le caroubier, connu scientifiquement sous le nom de *Ceratonia siliqua L.*, est une espèce végétale appartenant à la famille des Fabaceae.

C’est un arbre à feuilles persistantes typique du climat méditerranéen. Il fait partie des Angiospermes dicotylédones. Sa classification botanique, selon les sources scientifiques, est la suivante :

Tableau 03 : Classification botanique

Critère	Détail
Nom scientifique	<i>Ceratonia siliqua L.</i>
Famille	Fabaceae
Origine	Bassin méditerranéen
Type de plante	Arbre à feuillage persistant
Partie utilisée	Gousse (pulpe et graines)

4. Valeur nutritive de caroub

La caroube est un aliment végétal hautement nutritif, reconnu pour sa richesse en sucres naturels et en fibres alimentaires. Elle fournit une valeur énergétique importante (222 kcal/100 g), tout en étant pauvre en lipides, ce qui en fait un substitut sain au cacao dans plusieurs préparations alimentaires.

Elle est également une excellente source de minéraux, notamment le calcium, le magnésium et le fer, contribuant à la santé osseuse et à la prévention de l'anémie. La présence de polyphénols, composés antioxydants, confère à la caroube des propriétés anti-inflammatoires et protectrices contre les maladies chroniques.

Tableau 04 : valeur nutritive du chocolat

Composant	Teneur moyenne
Énergie	222 kcal
Glucides (dont sucres)	88 g (environ 50 g de sucres)
Protéines	4–5 g
Lipides	<1 g
Fibres alimentaires	40 g
Calcium	350 mg
Fer	2,9 mg
Magnésium	55 mg
Polyphénols	150–300 mg

5. Parties utilisées et transformation

Les parties les plus exploitées du caroubier sont les gousses et les graines, qui jouent un rôle essentiel dans de nombreuses industries. Les gousses, après récolte, sont soigneusement séchées puis broyées pour produire une farine sucrée, souvent utilisée comme substitut du cacao en raison de sa saveur naturellement douce et de son absence de caféine. Cette farine entre dans la composition de divers produits alimentaires tels que les pâtisseries, les boissons,

les desserts et même certaines formulations diététiques sans gluten. Elle est également appréciée pour sa richesse en fibres insolubles, ses sucres naturels et ses faibles niveaux de matières grasses, ce qui en fait un ingrédient intéressant dans les formulations alimentaires saines (Barak & Mudgil, 2014).

Les graines de caroube, quant à elles, revêtent une importance industrielle particulière puisqu'elles sont transformées pour extraire la gomme de caroube, également appelée E410 selon la nomenclature des additifs alimentaires. Cette gomme est un polysaccharide naturel principalement constitué de galactomannanes, connus pour leur fort pouvoir épaississant, stabilisant et texturant. Le processus industriel comprend plusieurs étapes précises : d'abord le nettoyage des graines pour éliminer les impuretés, suivi du décorticage pour séparer l'endosperme (la partie interne), puis le broyage mécanique afin d'isoler les fractions riches en galactomannanes (Kumcuoglu *et al.*, 2015).

Outre son utilisation massive dans l'industrie agroalimentaire (dans les glaces, les produits laitiers, les sauces, les produits sans gluten), la gomme de caroube est aussi exploitée dans les industries pharmaceutique et cosmétique, où elle sert d'agent de viscosité ou de stabilisation. L'ensemble de cette chaîne de transformation permet ainsi de valoriser intégralement les gousses et les graines, contribuant à maximiser le rendement économique du caroubier et à répondre à la demande croissante en ingrédients naturels et fonctionnels.

6.Composition chimique

La caroube est riche en glucides naturels (environ 48–51 %), principalement sous forme de saccharose, glucose et fructose, ce qui lui confère un goût naturellement sucré (Papagiannopoulos *et al.*, 2020). Elle contient aussi une quantité importante de fibres alimentaires (18–20 %), majoritairement insolubles, favorisant la régulation du transit intestinal (Arafat *et al.*, 2021). Sa teneur en protéines varie entre 4 et 6 %, tandis que les lipides sont présents en faibles quantités (<1 %) (Boublenza *et al.*, 2017). En outre, la caroube est une source de polyphénols (flavonoïdes, acides galliques, tanins), qui jouent un rôle antioxydant significatif (Lagouri & Blekas, 2018).

Tableau 05 : Composition chimique moyenne de la caroube (poudre de gousse) (Boublenza *et al.*, 2017 ; Custódio *et al.*, 2022)

Composant	Valeur moyenne pour 100 g
Fibres totales	18–20 %
Sucres naturels	48–51 %
Protéines	4–6 %
Lipides	<1 %
Polyphénols	250–350 mg

7. Propriétés nutritionnelles et technologiques

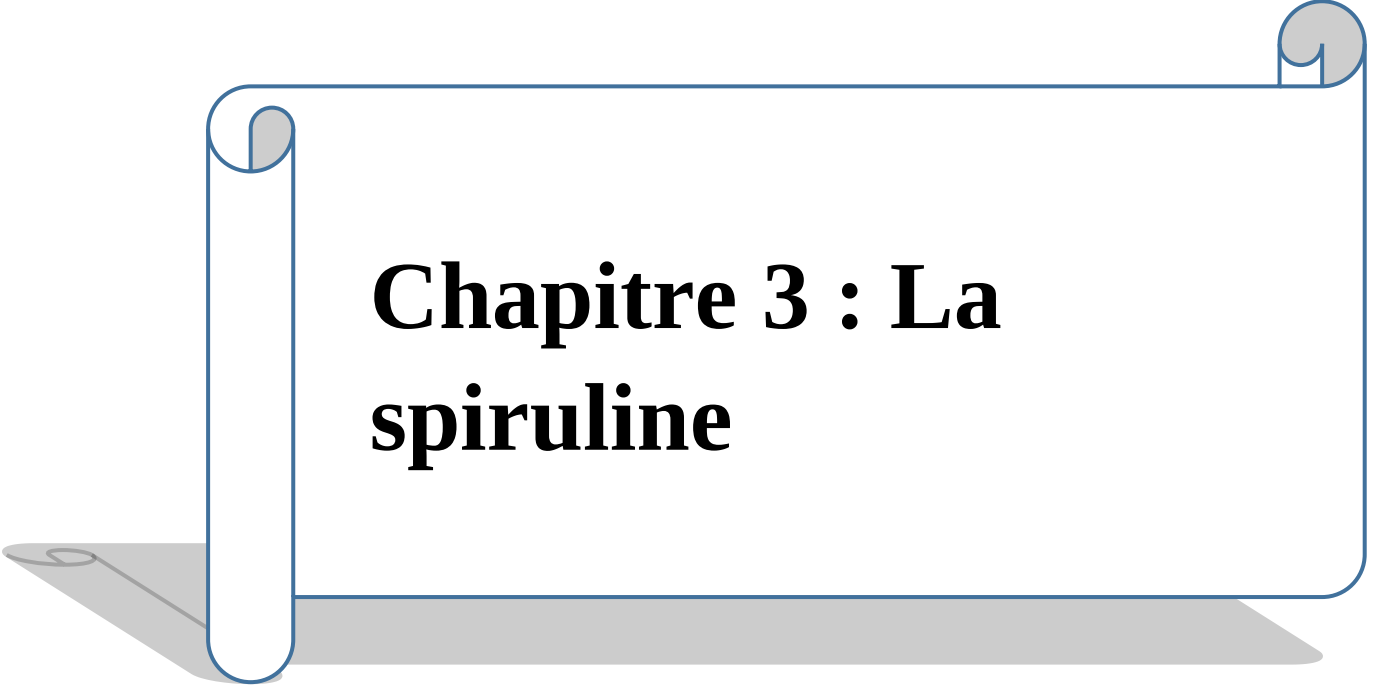
Le pouvoir sucrant naturel de la farine de caroube permet de réduire l'ajout de sucres raffinés dans les formulations alimentaires, tout en apportant des fibres bénéfiques pour la santé digestive (Custódio *et al.*, 2022). La gomme de caroube extraite des graines est largement utilisée comme agent texturant dans l'industrie agroalimentaire. Elle possède des propriétés épaississantes, stabilisantes et émulsifiantes, utiles dans des préparations telles que les produits laitiers fermentés, les sauces, ou les produits végétaux transformés (Barak & Mudgil, 2014 ; Kumcuoglu *et al.*, 2015).

8. Rôle dans l'alimentation fonctionnelle

La caroube est de plus en plus intégrée dans les formulations d'aliments fonctionnels en raison de ses nombreux effets physiologiques positifs, ce qui en fait un ingrédient de choix pour la nutrition moderne axée sur la santé. Les fibres solubles et insolubles présentes dans les gousses agissent comme prébiotiques, favorisant la croissance de bactéries intestinales bénéfiques telles que *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, et contribuant ainsi à maintenir un microbiote intestinal équilibré. Cet effet prébiotique est associé à une amélioration de la santé digestive, à la réduction des troubles gastro-intestinaux et même à une meilleure absorption des minéraux essentiels, renforçant ainsi la santé globale (Sánchez & García, 2021).

En outre, la caroube est riche en composés bioactifs tels que le D-pinitol, un polyol cyclique naturel qui a démontré des effets hypoglycémiants notables. Des études récentes ont montré que le D-pinitol améliore la sensibilité à l'insuline, régule la glycémie postprandiale et pourrait ainsi jouer un rôle clé dans la gestion et la prévention du diabète de type 2 (Santos et al., 2023). Ces propriétés font de la caroube un ingrédient particulièrement intéressant pour les formulations destinées aux populations à risque métabolique, comme les personnes souffrant de résistance à l'insuline, de syndrome métabolique ou d'obésité (Akkermans & Jonkers, 2018).

De plus, au-delà du contrôle glycémique, les composés phénoliques présents dans la caroube apportent des effets antioxydants et anti-inflammatoires, participant à la protection contre les maladies chroniques et au maintien de la santé cardiovasculaire (Santos et al., 2023). L'intégration de la caroube dans les aliments fonctionnels, comme les barres énergétiques, les boissons enrichies ou les produits céréaliers, représente donc une approche innovante et naturelle pour promouvoir une meilleure santé métabolique et prévenir les pathologies liées au mode de vie moderne (Akkermans & Jonkers, 2018).



Chapitre 3 : La spiruline

1. Définition de la Spiruline

La spiruline est une microalgue bleu-vert, connue scientifiquement sous le nom de *Arthrospira platensis*. C'est une cyanobactérie filamenteuse photosynthétique, présente naturellement dans les lacs alcalins et chauds. Elle est largement utilisée comme complément alimentaire en raison de sa richesse exceptionnelle en nutriments essentiels, notamment les protéines, les vitamines, les minéraux et les antioxydants.

2. Origine et classification biologique

La spiruline est une cyanobactérie filamenteuse appartenant au genre *Arthrospira*, notamment *Arthrospira platensis*. Bien qu'elle soit souvent qualifiée de « microalgue », il s'agit en réalité d'une bactérie photosynthétique, ce qui la distingue sur le plan biologique des véritables microalgues eucaryotes. Elle se caractérise par sa richesse nutritionnelle exceptionnelle, comprenant des protéines complètes (contenant les acides aminés essentiels), des pigments bioactifs comme la phycocyanine, du fer hautement biodisponible, du bêta-carotène, des vitamines du groupe B et des acides gras essentiels (Verma *et al.*, 2024).

Naturellement, la spiruline se développe dans des environnements extrêmes, notamment les lacs alcalins riches en carbonate et bicarbonate des régions tropicales et subtropicales, comme le lac Tchad en Afrique ou le lac Texcoco au Mexique. Ces milieux extrêmes lui confèrent une forte résilience et une capacité de survie remarquable. Aujourd'hui, grâce à ses applications alimentaires, nutraceutiques et cosmétiques, la spiruline est cultivée à grande échelle dans des bassins contrôlés, souvent situés en Asie, en Afrique et en Europe, où les conditions de culture (lumière, température, pH, nutriments) sont rigoureusement optimisées pour garantir une production durable et de haute qualité. Cette production industrielle permet de répondre à une demande croissante sur les marchés internationaux, tant pour l'alimentation humaine (poudres, comprimés, barres énergétiques) que pour l'aquaculture, l'alimentation animale ou encore les formulations pharmaceutiques et cosmétiques, où la spiruline est appréciée pour ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et immunostimulantes (Verma *et al.*, 2024).

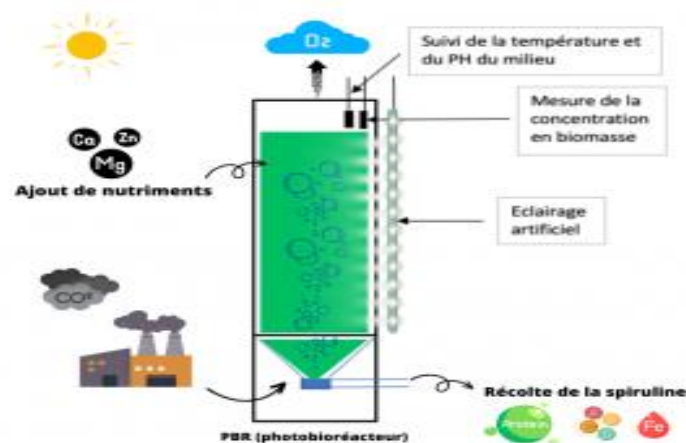


Figure 2 : culture de la spiruline dans une photo bioréacteur

3.Classification de la spiruline

Tableu06 :Classification scientifique de la Spiruline

Règne	Bacteria
Division	Cyanobacteria
Classe	Cyanophyceae
Ordre	Oscillatoriales
Famille	Oscillatoriaceae
Genre	Arthrospira
Espèce	<i>Arthrospira platensis</i> / <i>Arthrospira maxima</i>

4.Composition nutritionnelle

La spiruline est reconnue pour sa densité nutritionnelle exceptionnelle. Elle contient entre 55 % et 70 % de protéines de haute qualité, incluant tous les acides aminés essentiels. Elle est également une source importante de vitamines (notamment B1, B2, B3, B5, B9, B12), de minéraux tels que le fer, le calcium, le magnésium et le potassium, ainsi que de pigments bioactifs comme la phycocyanine, le bêta-carotène et la chlorophylle (Fourchaud, 2025). Cette composition confère à la spiruline des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires significatives (Verma *et al.*, 2024).

Tableau07: Composition nutritionnelle moyenne de la spiruline (poudre sèche) (Verma *et al.*, 2024 ; Fourchaud, 2025)

Composant	Valeur moyenne pour 100 g
Protéines	55–70 %
Glucides	15–20 %
Lipides	6–8 %
Fer	30–50 mg
Bêta-carotène	100–150 mg
Phycocyanine	12–20 %

5.Propriétés fonctionnelles et bienfaits pour la santé

Les études récentes mettent en évidence les multiples bienfaits de la spiruline sur la santé humaine. Elle contribue à la réduction du cholestérol LDL (le « mauvais cholestérol ») et des triglycérides, tout en augmentant le cholestérol HDL (le « bon cholestérol »), favorisant ainsi la santé cardiovasculaire et réduisant le risque d’athérosclérose. Des recherches ont également montré que sa consommation régulière peut abaisser la tension artérielle, grâce à la présence de peptides bioactifs aux effets hypotenseurs, ce qui est particulièrement bénéfique chez les personnes souffrant d’hypertension légère à modérée (Forbes Health, 2023).

De plus, la richesse de la spiruline en antioxydants, notamment la phycocyanine, le bêta-carotène et les tocophérols, aide à protéger les cellules contre le stress oxydatif, limitant les dommages causés par les radicaux libres et réduisant ainsi les risques de maladies chroniques comme le diabète de type 2, certains cancers et les maladies neurodégénératives (Healthline, 2023).

La spiruline possède également des effets immunomodulateurs puissants, renforçant les défenses naturelles de l'organisme en stimulant l'activité des macrophages, des cellules NK (natural killer) et des lymphocytes T, ce qui améliore la réponse immunitaire face aux infections et soutient la prévention des maladies inflammatoires. En outre, des études récentes suggèrent que la spiruline pourrait avoir un potentiel bénéfique dans la gestion du poids corporel et la régulation de la glycémie, grâce à son effet satiétogène et à sa capacité à améliorer la sensibilité à l’insuline (Verma *et al.*, 2024).

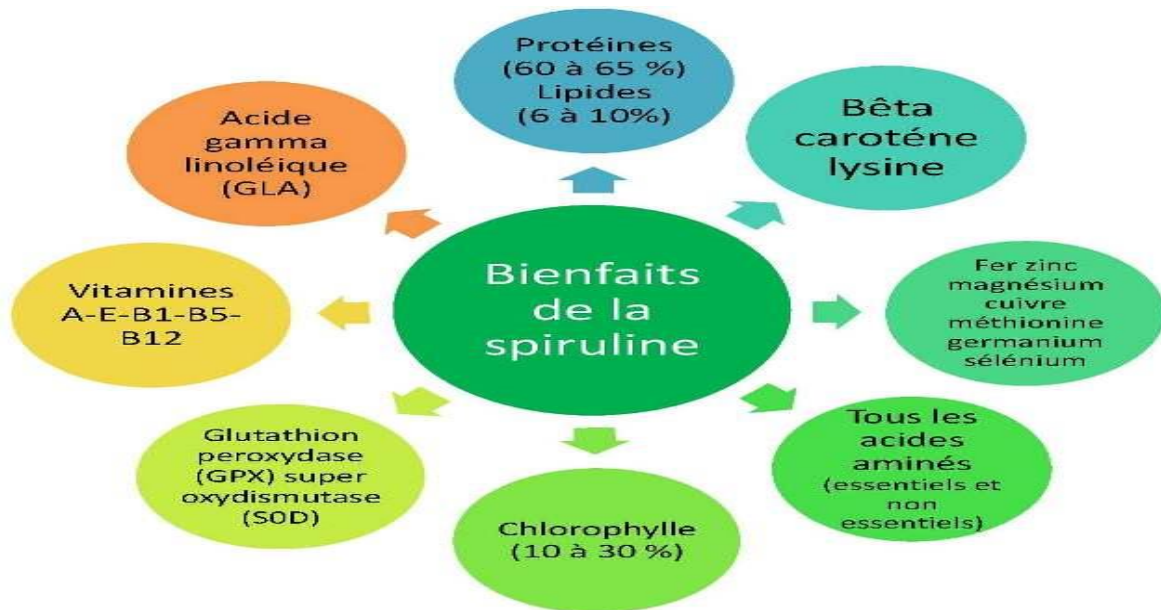


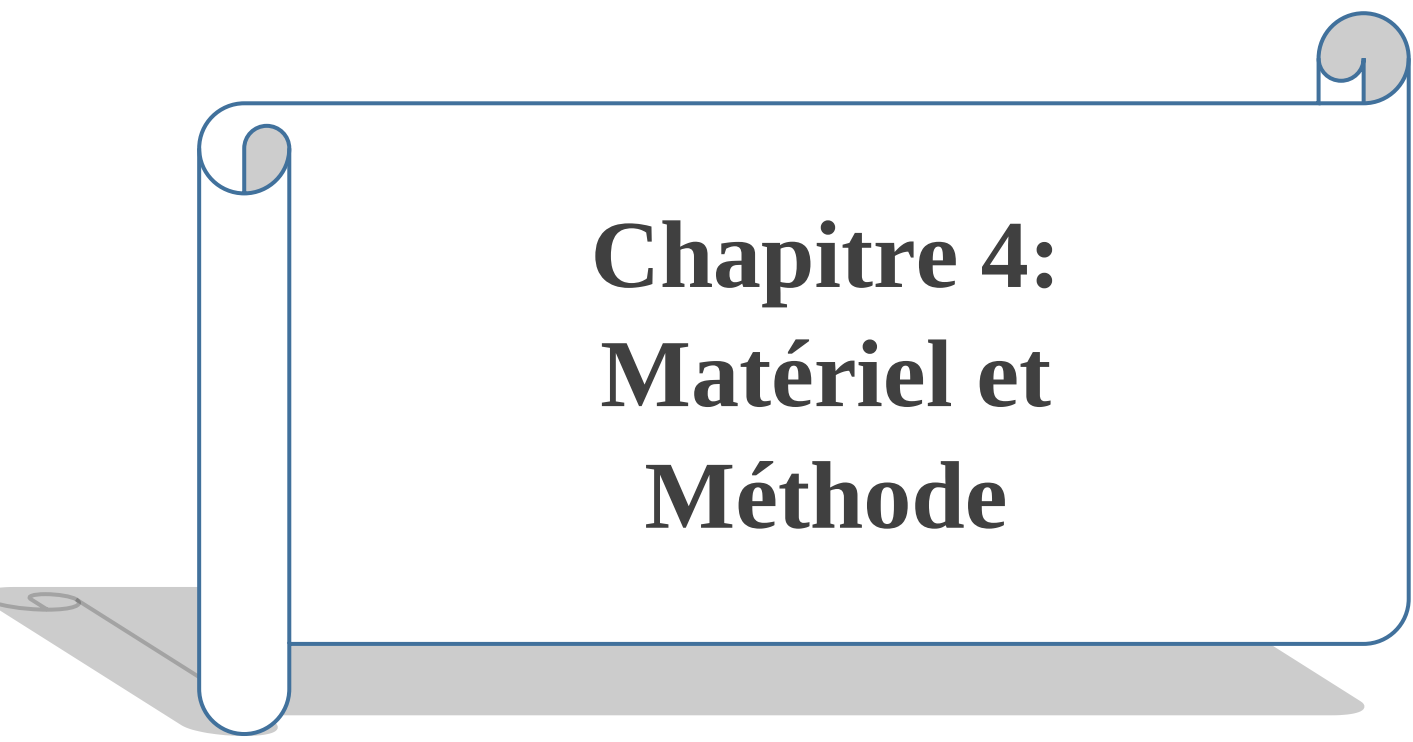
Figure 3 : les bienfaits de la spiruline.

6.Applications dans l'alimentation fonctionnelle

Grâce à sa composition unique, la spiruline est intégrée dans divers produits alimentaires fonctionnels, tels que les barres énergétiques, les smoothies, les pâtes, les biscuits enrichis, les yaourts végétaux et les compléments alimentaires. Sa richesse en protéines de haute qualité, en acides aminés essentiels, en minéraux comme le fer et en antioxydants naturels en fait un ingrédient prisé pour renforcer la valeur nutritionnelle des aliments du quotidien. Elle est particulièrement recommandée dans les formulations destinées aux sportifs, car elle favorise la récupération musculaire et améliore l'endurance grâce à sa haute densité nutritionnelle. De plus, chez les personnes âgées ou les individus souffrant de carences nutritionnelles, la spiruline contribue à maintenir la masse musculaire, à prévenir l'anémie grâce à sa teneur élevée en fer biodisponible, et à soutenir la vitalité générale. Son incorporation dans l'alimentation quotidienne permet ainsi non seulement d'améliorer l'apport en nutriments essentiels, mais aussi de soutenir la santé métabolique, de renforcer le système immunitaire et de favoriser un meilleur équilibre oxydatif, réduisant les risques de maladies chroniques (Verma *et al.*, 2024).

Partie 2

(pratique)



Chapitre 4: Matériel et Méthode

1. Matériel

1.1 Matériel biologique

A. Poudre de caroube : Provenant d'une unité de production locale, la poudre de caroube est commercialisée sous forme de poudre fine. Elle a été utilisée dans la formulation du produit alimentaire étudié.

B. Poudre de spiruline : Fournie par une unité locale, la spiruline est commercialisée sous forme de granulés broyables. Elle a été utilisée pour les analyses et la fabrication du produit final.



(a)



(b)

Figure04: Poudre de caroube et Spirulina

1.2 Matériel non biologique

- ✓ **Bol profond** : utilisé pour faire fondre le beurre de cacao au bain-marie.
- ✓ **Balance électronique** : pour peser les ingrédients avec précision en grammes.
- ✓ **Thermomètre de cuisine** : pour contrôler les températures adéquates pendant la préparation, notamment lors du tempérage et du conchage.
- ✓ **Machine à concher** : utilisée pour l'étape de conchage, afin d'améliorer la texture et la saveur du chocolat.
- ✓ **Moules en silicone ou plastique alimentaire** : pour mouler le chocolat après préparation.
- ✓ **Tempérage (Tempering)** : procédé essentiel pour obtenir un chocolat brillant, homogène et stable à température ambiante.

1.3 Matériel d'analyses

Pour réaliser les analyses physico-chimiques et microbiologiques du chocolat à la caroube enrichie à la spiruline, les équipements suivants ont été utilisés :

- ✓ **Balance analytique de précision** : pour peser de petites quantités d'échantillons avec une grande exactitude.
- ✓ **Étuve ou balance à humidité thermique** : pour déterminer la teneur en eau du produit.
- ✓ **pH-mètre** : pour mesurer l'acidité (le pH) des échantillons.
- ✓ **Four à moufle** : pour la calcination des échantillons et la détermination des cendres totales.
- ✓ **Système de Kjeldahl** : pour l'analyse de la teneur en protéines.

- ✓ **Extracteur de Soxhlet** : pour l'extraction et la mesure des matières grasses.
- ✓ **Entonnoir et papier filtre** : pour la filtration des solutions et la séparation des phases solides/liquides.
- ✓ **Tubes à essai, béchers, erlenmeyers** : pour la préparation et le mélange des échantillons.
- ✓ **Spectrophotomètre** : pour mesurer l'absorbance des solutions et analyser certains composants comme les sucres ou les protéines.
- ✓ **Boîtes de Pétri, milieux de culture stériles, microscope** : pour les analyses microbiologiques et la détection des micro-organismes.
- ✓ **Bain-marie** : pour chauffer les échantillons de façon douce et homogène dans un environnement contrôlé.

1.4 Réactifs et produits chimiques

1.4.1 Réactifs pour la Minéralisation et la Digestion des Échantillons

- ✓ **Sulfate de potassium** : Utilisé comme catalyseur pour la digestion des échantillons organiques afin de déterminer la teneur en protéines.
- ✓ **Sulfate de cuivre** : Catalyseur supplémentaire pour améliorer l'efficacité de la digestion.
- ✓ **Sélénium** : Utilisé comme catalyseur dans la méthode de Kjeldahl.
- ✓ **Acide sulfurique concentré (96%)** : Sert à digérer les matières organiques de l'échantillon.

1.4.2 Réactifs pour la Distillation et la Titration

- ✓ **Acide borique (4%)** : Sert à capter l'ammoniac pendant la distillation.
- ✓ **Hydroxyde de sodium (NaOH)** : Utilisé pour alcaliniser le contenu du tube avant distillation.
- ✓ **Acide chlorhydrique (0,25N et 2,5N)** : Utilisé pour la titration de l'ammoniac distillé.

1.4.3 Réactifs pour les Analyses Spécifiques

- ✓ **Carbonate de sodium** : Utilisé dans diverses réactions chimiques.
- ✓ **Phénol (5%)** : Utilisé dans certaines réactions biochimiques.

- ✓ **Acétate de plomb** : Sert à précipiter certains éléments ou à détecter des impuretés spécifiques.
- ✓ **Glucose (0,1%)** : Utilisé dans les milieux de culture pour favoriser la croissance microbienne.

1.4.4 Solvants et Milieux de Culture

- ✓ **Éther de pétrole** : Utilisé comme solvant pour l'extraction des lipides.
- ✓ **Milieux TSE, PCA, VRBL, VF** : Milieux de culture utilisés pour l'isolement et le dénombrement de divers types de micro-organismes.
- ✓ **Sulfite de sodium** et **Alun de fer (sulfate double d'aluminium et de fer)** : Utilisés dans la préparation de milieux spécifiques ou pour des analyses complémentaires.

1.4.5 Milieux de Culture Spécifiques

- ✓ **OGA, SABORAUD** : Milieux utilisés pour la culture des levures et moisissures.
- ✓ **Oxytétracycline** : Antibiotique utilisé pour l'isolement des bactéries résistantes.

1.4.6 Milieux de Culture Sélectifs

- ✓ **Chapman** : Milieu sélectif pour l'isolement des staphylocoques.

1.5 Matériels pour l'analyses sensorielle

- ✓ Découpage : Chocolat en petits morceaux égaux
- ✓ Présentation : Petits plats pour chaque type de chocolat
- ✓ Cartes d'identification : Pour indiquer les ingrédients
- ✓ Eau minérale : Pour neutraliser les papilles entre les dégustations

2. Méthodes

2.1 Préparation du chocolat

2.1.1 Chocolat à la caroube (100 g)

Ingrédients :

- ✓ Beurre de cacao (40 g)

- ✓ Poudre de caroube (25 g)
- ✓ Lait végétal en poudre (33 g)
- ✓ Stévia (1,5 g)
- ✓ Vanille naturelle (0,5 g)
- ✓ Lécithine (0,5 g)

Étapes de préparation dans la machine à conchage

- ✓ Ajouter le **beurre de cacao** dans la machine à conchage et le chauffer jusqu'à **45°C**.
- ✓ Ajouter progressivement la **poudre de caroube** au beurre de cacao en remuant continuellement pour homogénéiser le mélange.
- ✓ Ajouter progressivement la **poudre de lait** tout en continuant le mélange.
- ✓ Ajouter ensuite le **sucres stévia**.
- ✓ Poursuivre le processus de **conchage** en maintenant la température entre **45 et 60°C** jusqu'à obtention d'un mélange lisse et homogène.
- ✓ Réaliser le **tempérage** selon la séquence suivante :
 - Chauffer le mélange à **45°C**
 - Refroidir à **27°C**
 - Réchauffer à **31°C**Ceci permet d'améliorer la cristallisation du chocolat pour obtenir un bon brillant et une texture croquante.
- ✓ **Verser le mélange dans les moules.**
- ✓ **Ajouter des flocons de spiruline sur la surface** pour une touche nutritionnelle et esthétique.
- ✓ Laisser refroidir et solidifier dans les moules.



Figure05: Préparation du chocolat

2.1.2 Chocolat au cacao et caroube (100 g)

Ingrédients :

- ✓ Beurre de cacao (40 g)

- ✓ Poudre de cacao cru (20 g)
- ✓ Poudre de caroube (10 g)
- ✓ Lait végétal en poudre (28 g)
- ✓ Stévia (1 g)
- ✓ Vanille naturelle (0,5 g)
- ✓ Lécithine (0,5 g)

Étapes de préparation dans la conche :

- ✓ Ajouter le **beurre de cacao** dans la conche et le chauffer jusqu'à **45°C**.
- ✓ Incorporer progressivement la **poudre de caroube** tout en mélangeant.
- ✓ Ajouter ensuite la **poudre de lait** petit à petit en maintenant un bon mélange.
- ✓ Ajouter l'**édulcorant (stévia)** après l'intégration des poudres.
- ✓ Poursuivre le **conchage** en maintenant la température entre **45 et 60°C**, jusqu'à obtention d'une pâte homogène et lisse.
- ✓ Réaliser le **tempérage** selon la courbe thermique suivante :
 - Chauffer à **45°C**
 - Refroidir à **27°C**
 - Réchauffer à **31°C**Ce processus permet d'obtenir une bonne brillance et une texture cassante après refroidissement.
- ✓ **Verser le mélange dans les moules.**
- ✓ **Ajouter des flocons de spiruline** sur la surface pour une touche nutritionnelle et esthétique.
- ✓ Laisser refroidir et durcir complètement dans les moules.



Figure 06 : Pesé des ingrédients.caco et caroube

2.2 Intégration de la Spiruline dans le Chocolat au Caroube et Cacao

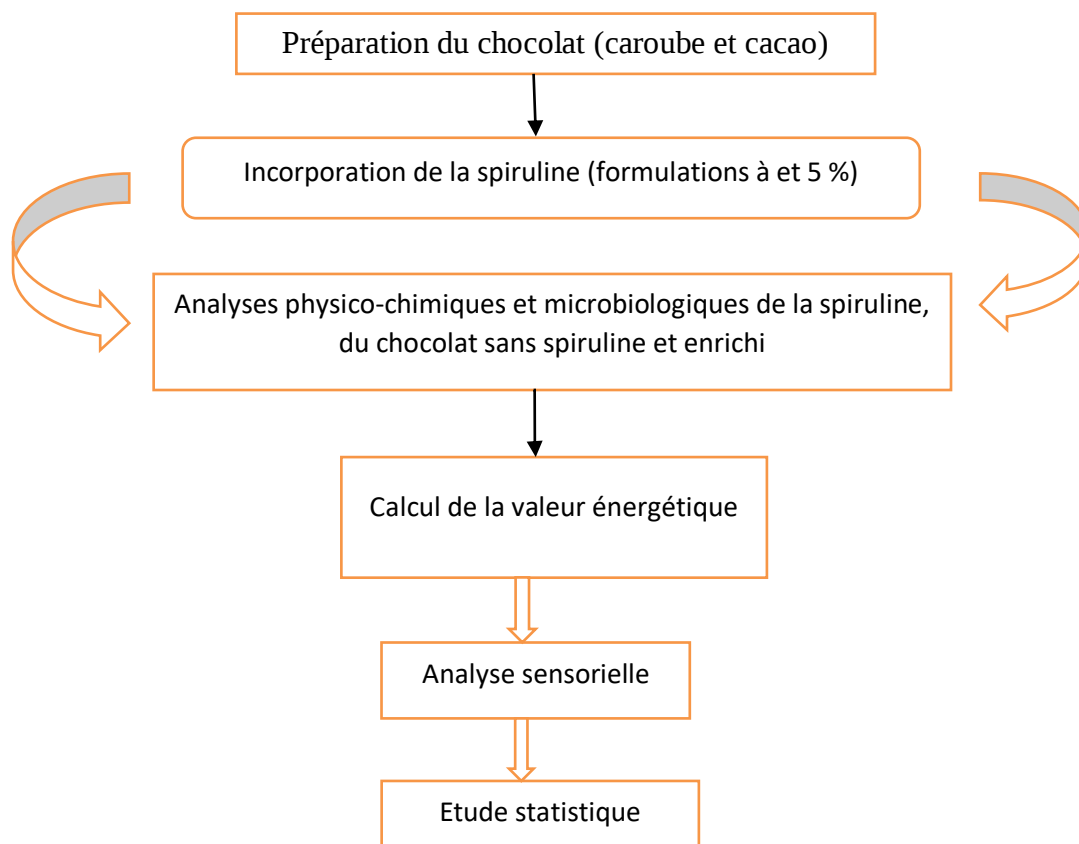
La spiruline est intégrée dans le chocolat au caroube et cacao pour créer deux formulations distinctes selon la quantité de spiruline et la méthode d'ajout, tout en maintenant un poids de **100 g par morceau de chocolat** :

Mélange 1 :

5 g de flocons de spiruline sont ajoutés à chaque morceau de chocolat (100 g), et les flocons sont **distribués sur la surface du chocolat avant congélation** pour apporter une touche esthétique et nutritionnelle unique.

Mélange 2 :

3 g de flocons de spiruline sont ajoutés à chaque morceau de chocolat (100 g) de la même manière, c'est-à-dire sur la surface avant congélation.



3 Analyses biochimiques

Les analyses biochimiques sont effectuées dans le but de déterminer la valeur nutritionnelle des matières premières et du produit fini. Elles reposent sur la mesure des taux de sucres, de protéines et de lipides de l'échantillon.

3_1 Quantification des protéines

Méthode de **Kjeldahl** (NF V 04-211, 1971 AFNOR, 1999) :

- **Principe**

Une prise d'essai est minéralisée par l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur. Les produits de la réaction sont ensuite alcalinisés, puis l'ammoniac libéré est distillé et recueilli dans une solution d'acide borique. Cet ammoniac est titré à l'aide d'une solution d'acide sulfurique ou chlorhydrique. La teneur en azote est déterminée, et la teneur en protéines est calculée en multipliant par le facteur conventionnel de 6,25.

- **Mode opératoire**

- ✓ **Prise d'essai** : Peser 1 g de l'échantillon sur un morceau de papier ou dans un récipient approprié.

A. Minéralisation: Introduire dans le matras

- Prélever **1 g** de chocolat séché et broyé finement.
- Introduire dans un ballon Kjeldahl avec :
 - 1 g du mélange catalyseur (sulfate de potassium + sulfate de cuivre + sélénium),
 - 25 mL d'acide sulfurique concentré (96 %).
- Chauffer progressivement puis à ébullition (~350 °C) jusqu'à obtention d'une solution limpide

B. Distillation de l'ammoniac: Verser dans le matras refroidi contenant la solution limpide obtenue:

- Après refroidissement, ajouter de l'eau distillée.
- Connecter au distillateur.

- L'ammoniac est capté dans une solution d'acide borique avec indicateur coloré.
- Ajouter de la soude (NaOH) à 32 % pour rendre le milieu alcalin.
- Effectuer la distillation : le changement de couleur (rouge → vert bleuté) indique la présence d'ammoniac.

C. Titrage

- Titrer rapidement avec de l'acide chlorhydrique 0,25 N.
- Noter le volume utilisé lorsque la couleur devient rose.

Expression du résultat

$$P = (v_1 - v_0) \times T \times 14 \times 100 / m \times D \times 1000 \times 6,25$$

Soit :

- ✓ **(m)** : la masse de la prise d'essai en grammes
- ✓ **(V1)** : volume (ml) d'acide chlorhydrique utilisé dans le titrage de l'échantillon
- ✓ **(V0)** : volume (ml) d'acide chlorhydrique utilisé dans l'essai à blanc
- ✓ **(T)** : normalité de l'acide chlorhydrique utilisé
- ✓ **14** : indice d'azote
- ✓ **6,25** : facteur de conversion

3_2 Teneur en glucides

Méthode du phénol-acide sulfurique (**Dubois et al., 1956**)

• Principe

En milieu acide et chaud, le glucose se transforme en hydroxyméthylfurfural, qui forme un complexe vert avec le phénol. Ce complexe présente une absorbance maximale à 490 nm.

❖ Cas de spiruline

- Peser 0,1 g de l'échantillon et ajouter 5 ml d'acide chlorhydrique (HCl) à 2,5 N.

- Hydrolyser le mélange dans un bain-marie réglé à 100°C pendant 3 heures.
- Refroidir le mélange à température ambiante.
- Neutraliser avec du carbonate de sodium solide jusqu'à cessation de l'effervescence.
- Filtrer la solution si nécessaire et compléter à 100 ml avec de l'eau distillé

Prélever 0,3 ml de cette solution dans un tube à essai et compléter le volume de chaque tube à 1 ml avec de l'eau distillée.

- Ajouter 1 ml d'une solution de phénol à 5%, agiter, puis verser 5 ml d'acide sulfurique concentré (96%) et agiter à nouveau.
 - Préparer un blanc de la même manière avec 1 ml d'eau distillée.
- Laisser reposer pendant 10 minutes, puis mettre les tubes à essai au bain-marie à une température entre 25-30°C pendant 20 minutes.
- Après refroidissement, lire la densité optique à 490 nm par rapport au blanc de référence.

Pour préparer la courbe d'étalonnage

- À partir d'une solution mère de glucose à 0,1%, prélever 10 ml et les introduire dans une fiole que l'on complète à 100 ml avec de l'eau distillée.
- De cette solution fille, prélever 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 et 1 ml présentant respectivement des quantités de 20; 40; 60; 80 et 100 µg de sucres dans des tubes à essai, puis ajuster à 1 ml avec de l'eau distillée.
- Ajouter 1 ml de la solution de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique concentré (96%) dans les mêmes conditions opératoires utilisées pour l'échantillon.
- Déterminer la concentration en sucres en se référant à une courbe étalon.

La teneur en glucides totaux, rapportée à la matière sèche, est donnée par la formule suivante:

$$GT\% = X/0.1 \times 100 \times (100 / 100 - H)$$

Soit :

- ✓ **(GT)** : Taux des glucides (en pourcentage)
- ✓ **(X)** : Absorbance de 0,1 ml de la solution à analyser
- ✓ **(H)** : Humidité de l'échantillon

❖ Cas du chocolat et le mélange

- Extraction des glucides :
 - Peser **10 g de chocolat enrichi à la spiruline**, préalablement broyé.
 - Ajouter **90 ml d'eau distillée** dans un bécher de 250 ml.
 - Chauffer le mélange au **bain-marie à 100 °C pendant 30 minutes**, en agitant.
 - Refroidir puis filtrer la solution à travers un entonnoir, et compléter à **100 ml** avec de l'eau distillée.

- . Clarification (précipitation des protéines) :
 - Ajouter **10 ml d'acétate de plomb à 10 %** dans le bécher.
 - Agiter jusqu'à formation d'un précipité blanc qui se dépose au fond.
 - Filtrer pour éliminer les protéines coagulées.

- Élimination du plomb :
 - Ajouter **1 g de carbonate de sodium (Na_2CO_3)** pour précipiter l'acétate de plomb.
 - Filtrer à nouveau pour obtenir une solution clarifiée.

- . Dilution de la solution :
 - Diluer la solution mère à un facteur de **1/1000** (1 ml dans 999 ml d'eau distillée).

- Réaction colorimétrique et mesure de l'absorbance :
 - Prélever **2 ml** de la solution diluée.
 - Ajouter :
 - **0,1 ml de phénol à 5 %**
 - **3 ml d'acide sulfurique concentré (96 %)**
 - Laisser réagir pendant **10 minutes à température ambiante**.
 - Placer ensuite les tubes au **bain-marie (25–30 °C) pendant 20 minutes**.
 - Lire l'absorbance à **490 nm** à l'aide d'un spectrophotomètre, en utilisant un blanc comme référenc

- Déterminer le taux de sucres en se référant à la courbe d'étalonnage et en appliquant la formule suivante :

$$S\% = x.D. V/10^5. P * 100$$

Soit

- ✓ **(S%)** : le pourcentage des sucres totaux
- ✓ **(V)** : le volume de solution d'extraction
- ✓ **(D)** : la dilution de la solution mère
- ✓ **(X)** : la concentration de l'échantillon
- ✓ **(P)** : le poids en (g) de la prise d'essai

3_3 Dosage des lipides

Méthode de **Soxhlet (NF V 03-905)**

- **Principe**

La détermination des matières grasses est réalisée dans cette manipulation selon la méthode d'extraction par le Soxhlet en utilisant l'éther de pétrole comme solvant.

- **Mode opératoire**

- Peser **le ballon vide et sec** (noté Bv).
- Peser **2 à 5 g** de chocolat broyé et les placer dans une cartouche en cellulose.
- Remplir le ballon avec **250 ml d'éther de pétrole**.
- Monter l'appareil de Soxhlet, fixer le condenseur, et chauffer à **60 °C**.
- L'extraction est maintenue pendant **6 heures** pour une récupération maximale des graisses.
- À la fin de l'extraction, concentrer l'éther à l'aide d'un **rotavapeur**.
- Sécher l'extrait dans une étuve à **moins de 100 °C** pendant **1 à 2 heures**.
- Refroidir dans un **dessiccateur**, puis peser le ballon plein (Bp).
- Répéter les étapes de séchage jusqu'à obtention d'un **poids constant**.

L'expression des résultats

$$MG\% = \frac{B_p - B_v}{p} \times 100 \times (100/100 - H)$$

Soit

- ✓ **(MG)** : Taux de matière grasse, exprimé en pourcentage (%), en masse
- ✓ **(B_p)** : Masse, en grammes, du ballon plein (après extraction)
- ✓ **(B_v)** : Masse, en grammes, du ballon vide
- ✓ **(P)** : Masse, en grammes, de la prise d'essai initiale
- ✓ **(H)** : Humidité de l'échantillon

4. Analyse physico-chimique**4_1 Analyse de la salinité**✓ **Principe :**

La salinité est déterminée par dosage des ions chlorure (Cl^-) présents dans l'échantillon, en utilisant une **solution de nitrate d'argent ($AgNO_3$)** comme titrant, et **le chromate de potassium (K_2CrO_4)** comme indicateur coloré.

Le $AgNO_3$ réagit avec les ions Cl^- pour former un précipité blanc d' $AgCl$. À la fin du dosage, l'excès d' Ag^+ réagit avec les ions chromate pour donner un précipité rouge brique d' Ag_2CrO_4 , signalant le point d'équivalence.

✓ **Procédure :**

- Peser **1 à 2 g** de chocolat et les placer dans un bécher.
- Ajouter **50 à 100 ml d'eau distillée chaude** et agiter jusqu'à dissolution maximale des sels.
- Filtrer le mélange pour éliminer les graisses et particules solides.
- Prélever **25 ml** du filtrat dans une fiole conique.
- Ajouter **1 ml de chromate de potassium à 5 %**.
- Remplir une burette avec **$AgNO_3$ 0,1 N**.

- Doser lentement jusqu'à apparition **d'une teinte rouge brique persistante** (Ag_2CrO_4).

Formule de calcul :

$$\text{NaCl (\%)} = \text{PV} \times \text{N} \times 5,85$$

Avec :

- **V** = volume de AgNO_3 utilisé (en ml)
- **N** = normalité de la solution de AgNO_3 (0,1 N)
- **5,85** = masse molaire de NaCl (g/mol)
- **P** = masse de l'échantillon (g)

5. Analyse microbiologique

Il est essentiel de réaliser des analyses microbiologiques rigoureuses permettant de détecter la présence de :

- Bactéries pathogènes
- Germes aérobies totaux mésophiles
- Levures et moisissures
- Ces tests permettent de s'assurer que le produit est :
 - Conforme aux normes de sécurité alimentaire
 - Sûr pour la consommation humaine
 - Exempt de contamination lors de la fabrication ou du conditionnement

Préparation de la suspension mère :

- Peser **10 g de chocolat enrichi**, le couper en petits morceaux pour faciliter la solubilité.
- Ajouter à **90 ml de solution TSE** (Tryptone – Sel – Eau) dans un sachet stomacher stérile.
- Homogénéiser à l'aide d'un **stomacher** ou par agitation manuelle → dilution 10^{-1} .

Réalisation des dilutions décimales :

- À l'aide de pipettes stériles :
 - Prélever **1 ml** de la suspension mère → transférer dans **9 ml de TSE** → obtention de la dilution **10^{-2}**
 - Répéter pour obtenir la dilution **10^{-3}**
- Toujours commencer par la plus grande dilution pour éviter les contaminations croisées.

5_1 Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) (AFNOR, NF 08-051, 1991)

Mode opératoire

- **Préparation de l'échantillon :**
 - Peser **10 g** de chocolat, les diluer dans **90 ml de solution TSE** pour obtenir la dilution 10^{-1} .
 - Réaliser des dilutions successives jusqu'à 10^{-3} .
- **Ensemencement en milieu PCA :**
 - Prélever **1 ml** de chaque dilution (10^{-1} à 10^{-3}) et le déposer dans **deux boîtes de Pétri stériles**.
 - Ajouter environ **20 ml de gélose PCA** fondue et refroidie à **45 ± 1 °C**.
 - Homogénéiser le mélange par des mouvements en forme de "8".
 - Laisser solidifier à température ambiante.
 - Ajouter une **seconde couche de gélose** pour éviter les contaminations de surface.
- **Incubation :**
 - Incuber les boîtes **à l'envers (couvercle en bas)** à **30 °C pendant 72 heures**.

Expression des résultats

$N = C \times \text{inverse de la dilution}$

Soit:

- ✓ **(N)** : Nombre de micro-organismes par gramme de produit analysé.
- ✓ **(C)** : Nombre de colonies de chaque boîte.

5_2 Recherche des staphylocoques à coagulase positive (SCP)

Principe :

Ce test permet de détecter la présence de **Staphylococcus aureus**, une bactérie potentiellement pathogène responsable d'intoxications alimentaires. Elle est souvent introduite par **manipulation humaine** ou par des surfaces de travail non stériles.

L'ensemencement se fait sur un **milieu Baird-Parker**, sélectif pour les staphylocoques. Les colonies suspectes sont ensuite soumises à un **test de coagulase** pour confirmer leur pouvoir pathogène.

Mode opératoire

Préparation de l'échantillon :

- Peser **10 g** de chocolat et les homogénéiser dans **90 ml de TSE (Tryptone Sel Eau)**.
- Réaliser des dilutions décimales jusqu'à 10^{-3} .

. Ensemencement :

- Prélever **0,1 ml** de chaque dilution et étaler à la surface de boîtes contenant le **milieu Baird-Parker avec jaune d'œuf et tellurite de potassium**.
- Incuber à **37 °C pendant 24 à 48 heures**, à l'air libre

Identification des colonies suspectes :

Sur gélose Baird-Parker :

- Colonies noires ou gris foncé

- Brillantes, rondes, parfois convexes
- Bord régulier
- **Halos clairs** autour des colonies (activité lécithinase)

Test de coagulase :

- Prélever une colonie suspecte et la mélanger dans **0,5 ml de plasma de lapin**.

5_3In Recherche et dénombrement des levures et moisissures (AFNOR NF ISO7954, 1987)

Principe

L'isolement des champignons peut être réalisé en utilisant un milieu sélectif doté de propriétés antibactériennes tel que le milieu OGA (Gélose glucosée à l'oxytétracycline) ou le milieu sabouraud.

Mode opératoire

- Faire fondre le milieu de base ou le milieu sabouraud et le refroidir à 45°C.
- Ajouter 1 ml de la solution d'Oxytétracycline à 10 ml du milieu de base.
- Bien mélanger et couler le mélange dans des boîtes de Pétri.
- Laisser solidifier sur la paillasse avec le couvercle fermé.
- Transférer à l'aide d'une pipette de 1 ml, à la surface de 3 boîtes de Pétri contenant la gélose OGA ou sabouraud, 4 gouttes de la prise d'essai.
- Répartir sur toute la surface à l'aide d'un râteau stérile.
- Incuber les boîtes retournées (couvercle en bas) pendant 5 jours à 20-25°C.
- Incuber à **37 °C pendant 4 à 6 h**.
- Le test est **positif** si **un caillot se forme** (formation d'un gel).

5_4Recherche de *Staphylococcus aureus* (NF V 08-057-1 ,2004)

- Faire fondre un flacon de milieu Chapman et le refroidir à 45°C.
- Couler le milieu dans des boîtes de Pétri.
- Laisser solidifier sur la paillasse avec le couvercle fermé.
- Transférer à l'aide d'une pipette 1 ml de chaque dilution 10-1 et 10-3 à la surface de 6 boîtes de Pétri.

- Répartir sur toute la surface à l'aide d'un râteau stérile.
- Incuber les boîtes retournées (couvercle en bas) pendant 24 à 48 heures à 37°C.
- Après ce délai, repérer les colonies suspectes, à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes et pigmentées en jaune.

5_5 Recherche et dénombrement des Enterobacteriaceae

(ISO 21528-2)

Principe :

Les Enterobacteriaceae représentent une famille de bactéries intestinales, comprenant des genres tels que :

- Escherichia,
 - Enterobacter,
 - Klebsiella,
 - Citrobacter, *etc.*
- Leur présence dans un produit alimentaire est un **indicateur de contamination fécale ou environnementale**, et permet d'évaluer la **qualité hygiénique** des matières premières, du process de fabrication ou des conditions de stockage.

Méthode opératoire :

Préparation des échantillons :

- Prélever **10 g** de chocolat et les homogénéiser dans **90 ml d'eau peptonée tamponnée (Buffered Peptone Water)**.
- Réaliser des dilutions décimales jusqu'à 10^{-3} .

Ensemencement :

- Prélever **1 ml** de chaque dilution et l'ensemencer en profondeur dans des boîtes de Pétri contenant le milieu **VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar)** fondu et refroidi à 45 °C.

Incubation :

- Incuber à **37 °C pendant 24 heures** à l'envers.

5_6 Recherche de Salmonella spp (J.O.A 44 du 2017)

Principe :

La détection de Salmonella spp repose sur une **méthode d'enrichissement en plusieurs étapes**, permettant d'isoler même un très faible nombre de bactéries présentes dans des matrices complexes comme le chocolat. Elle comprend :

- un **pré-enrichissement non sélectif**,
- un **enrichissement sélectif**,
- un **isolement sur milieux solides sélectifs**,
- et une **identification biochimique et/ou sérologique** des colonies suspectes.

Méthode opératoire :

Pré-enrichissement :

- Prélever **25 g** de chocolat et les homogénéiser dans **225 ml de bouillon peptoné tamponné (Buffered Peptone Water, BPW)**.
- Incuber à **37 °C pendant 18 à 24 heures**.

Enrichissement sélectif :

- Transférer **0,1 ml** du bouillon pré-enrichi dans **10 ml de bouillon Rappaport-Vassiliadis (RV)**.
- Incuber à **42 °C pendant 24 heures**.

Isolement sur milieux sélectifs :

- Ensemencer une goutte du bouillon enrichi sur les milieux suivants :
 - **XLD (Xylose Lysine Deoxycholate Agar)**
 - **Hektoen Enteric Agar (HE)** (facultatif)
- Incuber à **37 °C pendant 24 à 48 heures**.

Lecture des résultats :

- **Sur XLD** : Colonies rouges avec un centre noir (production de H₂S).
- **Sur Hektoen** : Colonies vertes/bleu-vert à centre noir.

Toute colonie suspecte doit être confirmée par des **tests biochimiques (galerie API 20E)** et idéalement par **sérotypage**.

Durée totale de l'analyse :

Entre **3 et 5 jours**, selon la croissance des colonies.

6..Analyse sensoriel

L'analyse sensorielle vise à évaluer les propriétés organoleptiques du chocolat au caroube en sollicitant les cinq sens humains. Cette évaluation permet de révéler les caractéristiques gustatives, olfactives, visuelles, tactiles, voire auditives (en cas de textures spécifiques). Elle repose sur l'humain en tant qu'instrument principal de mesure.

A - Principe de la dégustation du chocolat au caroube

L'analyse sensorielle, utilisée dans le cadre du contrôle qualité ou du développement de produit, s'appuie sur des tests rigoureux menés dans des conditions contrôlées. Elle se divise en trois grandes catégories :

- **La comparaison entre échantillons**
- **Le choix par préférence**
- **L'évaluation globale d'acceptabilité**

Étant donné que l'avis d'un seul individu peut manquer d'objectivité, un panel de dégustateurs a été mobilisé afin d'obtenir des résultats plus représentatifs et fiables.

B - Tests utilisés

Trois types principaux de tests consommateurs ont été appliqués pour évaluer le chocolat au caroube :

- **Test de préférence** : Les dégustateurs ont reçu deux échantillons (chocolat au caroube enrichi en spiruline et chocolat classique enrichi en spiruline) et ont été invités à choisir celui qu'ils préféreraient en termes de goût ou de texture.
- **Test hédonique** : Chaque participant a évalué son niveau d'appréciation pour le produit selon une échelle en 5 ou 9 points allant de « pas du tout apprécié » à « excellent ».
- **Test d'acceptabilité** : Il s'agissait de mesurer dans quelle mesure les participants accepteraient ou consommeraient le produit à l'avenir.

C - Objectifs de l'évaluation sensorielle

Les objectifs principaux de cette étude étaient :

- ✓ Comparer un chocolat classique enrichi à la spiruline avec un chocolat au caroube enrichi à la spiruline.
- ✓ Évaluer l'impact de l'incorporation de la spiruline sur le goût, l'apparence et la texture du produit.
- ✓ Déterminer s'il existe une différence sensorielle significative entre les deux types de chocolat.
- ✓ Mesurer l'acceptabilité générale du produit auprès des consommateurs ciblés.

D - Mise en œuvre des tests sensoriels

Les tests ont été réalisés dans les locaux de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued, dans des conditions adaptées :

- **Environnement** : Salles bien éclairées, aérées et équipées de tables et chaises disposées en forme de U pour assurer confort et concentration des participants.
- **Participants** : Étudiants, enseignants et personnels de la faculté choisis aléatoirement, représentant une tranche d'âge active et concernée par les produits alimentaires sains.

- **Procédure** : Les échantillons de chocolat ont été distribués dans un emballage uniforme pour éviter tout biais visuel. Des fiches d'instruction ont été fournies pour guider les participants dans leur évaluation.



Figure 07: "Des échantillons de chocolat au caroube enrichi en spiruline et de chocolat classique enrichi en spiruline."

Présentation des échantillons

Chaque poste de dégustation est équipé des éléments suivants :

- ✓ Deux échantillons de chocolat enrichi à la spiruline.
- ✓ Des serviettes en papier.
- ✓ De l'eau minérale.
- ✓ Des gobelets blancs en plastique à usage unique.
- ✓ Des copies du questionnaire (voir annexe).

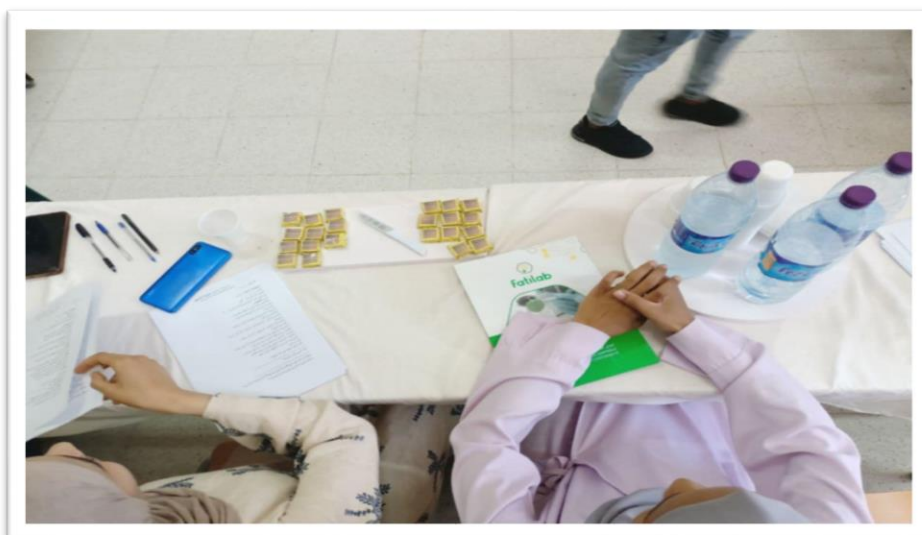


Figure08 : Présentation des échantillons et du matériel utilisé

Afin d'assurer la concentration des dégustateurs et de réduire l'influence des facteurs extérieurs sur les résultats, le matériel utilisé doit être propre, inodore, sans goût résiduel, et sans décoration susceptible d'influencer l'opinion.

Les échantillons sont préparés fraîchement, puis conservés dans des boîtes en verre propres et stériles.

Ils sont présentés uniquement au moment de la dégustation pour éviter toute contamination ou altération de la qualité. Chaque échantillon est disposé sur une spatule en plastique jetable, munie d'une étiquette portant un code à trois chiffres assurant l'anonymat de l'échantillon.

Choix des dégustateurs

Dans le cadre de cette analyse sensorielle, les participants ont été sélectionnés de manière aléatoire. L'échantillon était composé de 70 personnes d'âges variés.



Figure09 : Participants au test de dégustation

Déroulement de la séance

L'expérimentation a été réalisée le jeudi 26 mai 2025, de 9h30 à 12h00.

Les questionnaires ont été distribués aux étudiants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université d'El Oued.

Une explication sur la procédure de dégustation et la manière de remplir les fiches d'évaluation a été donnée avant le début de l'essai.

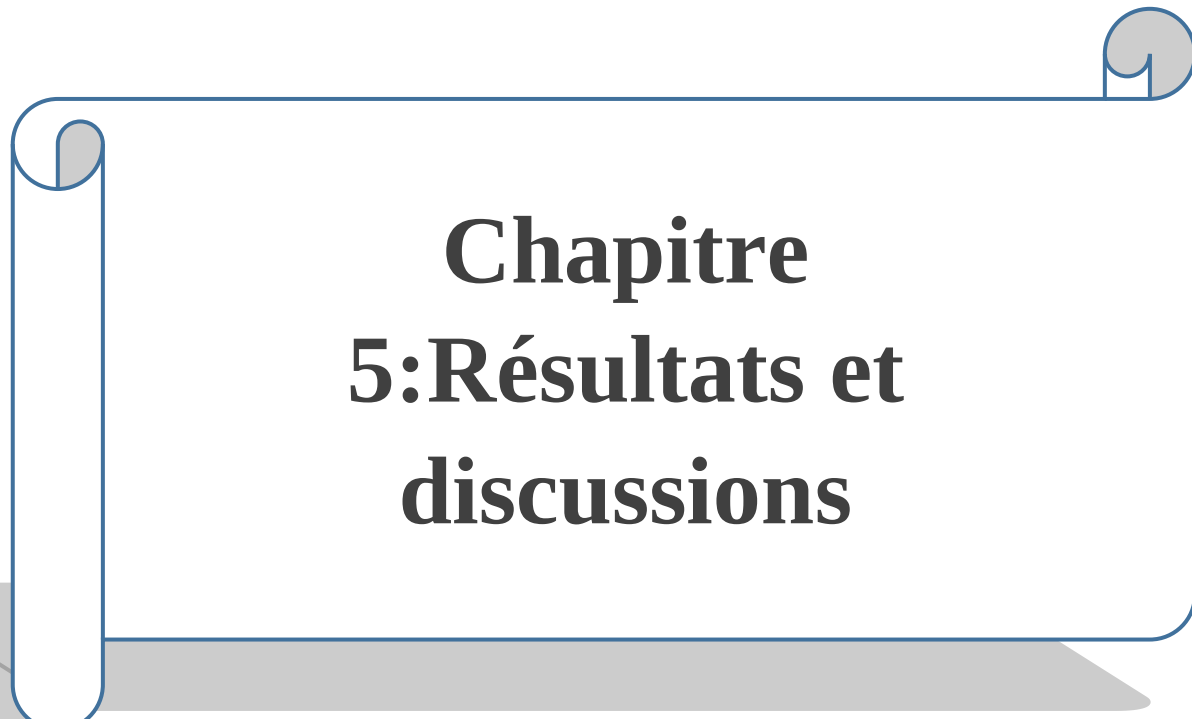
Les deux échantillons ont été présentés simultanément et chaque dégustateur a pris le temps nécessaire pour les goûter. De l'eau minérale était disponible entre chaque dégustation pour éviter la confusion des saveurs.

Étapes de l'analyse sensorielle

- ✓ **Examen visuel** : Évaluation de l'aspect des échantillons sans les goûter ni les sentir.
- ✓ **Examen olfactif** : L'odorat permet de juger l'état et la comestibilité de l'aliment.
Cette étape consiste à sentir l'échantillon.
- ✓ **Examen gustatif** : En goûtant les échantillons, le dégustateur évalue à la fois la texture et la saveur. Cette étape permet de statuer sur l'acceptabilité du produit et de comparer les deux échantillons.

Traitement des données

Les résultats obtenus ont été traités à l'aide du logiciel **Excel** pour l'analyse statistique.



Chapitre 5: Résultats et discussions

résultats et discussion

1. Analyse physico-chimique

1.1 Teneur en protéines

Les résultats de la détermination des protéines sont présentés dans l'histogramme ci-dessous :

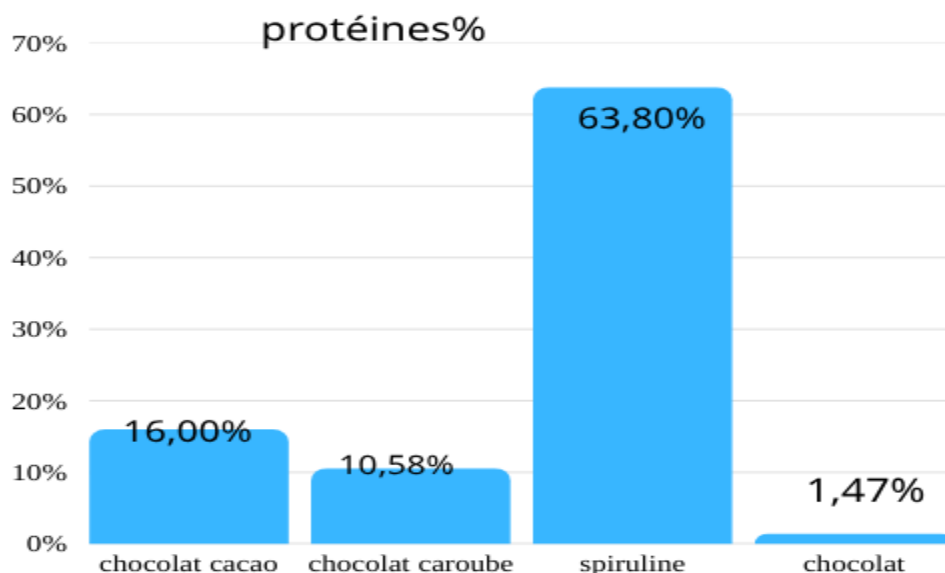


FIGURE 10: Représentation graphique de la teneur en protéines dans les produits alimentaires contenant 5 % de spiruline

Dans le graphique illustrant la teneur en protéines des échantillons de chocolat enrichis à 5 % de spiruline, ainsi que celle de la spiruline pure, plusieurs observations peuvent être faites :

La **teneur en protéines du chocolat au cacao enrichi à 5 % de spiruline** est d'environ **16,00 %**, tandis que le **chocolat à la caroube enrichi à la même concentration** présente une teneur plus faible estimée à **10,58 %**. En comparaison, la **spiruline pure** affiche une teneur très élevée en protéines, atteignant **63,80 %**.

Discussion : Les résultats biochimiques montrent que l'incorporation de 5 % de spiruline dans les deux types de chocolat (au cacao et à la caroube) a significativement amélioré leur teneur en protéines. Le chocolat au cacao enrichi présente une teneur en protéines de **16,00 %**, tandis que celui à la caroube atteint **10,58 %**, contre des valeurs nettement plus faibles dans les versions sans spiruline.

Cette différence s'explique par la nature des ingrédients de base : la poudre de cacao est naturellement plus riche en protéines que la poudre de caroube, ce qui justifie une teneur finale plus élevée en protéines malgré une même proportion de spiruline ajoutée.

Ces résultats confirment l'intérêt nutritionnel de la spiruline, reconnue pour sa richesse exceptionnelle en protéines (entre 50 et 71 % selon les études de Fleurence et Guéant, 1999 ; Gutiérrez-Salmeán et al., 2015 ; Benahmed, 2012), ainsi que pour la qualité de ses acides aminés essentiels.

De plus, la spiruline possède des propriétés techno-fonctionnelles intéressantes qui améliorent la texture, la stabilité et les qualités sensorielles des aliments (Zayas, 2012 ; Alves & Tavares, 2019 ; Pereira et al., 2018). Elle constitue ainsi un ingrédient de choix pour le développement de produits fonctionnels destinés à des régimes spécifiques.

D'un point de vue nutritionnel, selon Lupatini et al. (2016), une dose quotidienne de 1 à 5 g de spiruline peut couvrir 5 à 10 % des besoins journaliers en protéines recommandés par l'ANSES (50 à 100 g/jour pour 2000 kcal), ce qui renforce son rôle de complément alimentaire protéique efficace.

L'enrichissement du chocolat par 5 % de spiruline améliore nettement sa valeur nutritionnelle, en particulier sa teneur en protéines, avec une efficacité variable selon la matrice utilisée (caroube ou cacao). Cette approche met en valeur le potentiel de la spiruline comme ingrédient naturel hautement protéique, contribuant à la formulation de produits alimentaires fonctionnels, équilibrés et bénéfiques pour la santé.

1.2 Glucides

Les résultats de l'analyse des glucides dans le chocolat à la caroube et le chocolat au cacao, tous deux enrichis à 5 % de spiruline, ainsi que dans la spiruline pure, sont présentés sous forme d'un histogramme :

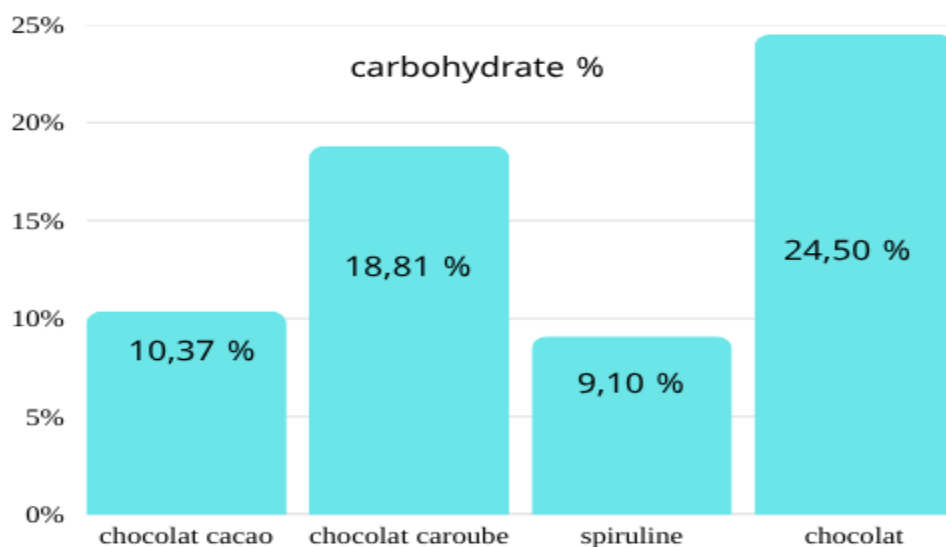


Figure 11 : Représentation graphique de la teneur en matières grasses dans les produits alimentaires contenant 5 % de spiruline.

Selon les graphiques, la teneur en sucres dans le chocolat à la caroube enrichi à 5 % de spiruline est de **18,81 %**, tandis qu'elle est de **10,37 %** dans le chocolat au cacao enrichi à la même proportion de spiruline. En comparaison, la spiruline pure contient seulement **9,10 %** de sucres, alors que le chocolat non enrichi présente une teneur plus élevée estimée à **24,50 %**.

Discussion:

Ces données suggèrent que **l'incorporation de la spiruline contribue à réduire la teneur globale en sucres dans le produit final**, ce qui représente un avantage nutritionnel, notamment **pour les consommateurs cherchant à limiter leur apport en glucides tout en maintenant une qualité sensorielle satisfaisante**.

Selon la littérature, la spiruline contient généralement **entre 15 et 25 % de glucides** sur matière sèche (Falquet & Hurni, 2006), majoritairement sous forme de polysaccharides complexes aux effets bénéfiques reconnus : **antioxydants, immunostimulants et réparateurs cellulaires** (Christophe, 2010).

La teneur de 9,10 % mesurée dans notre étude reste inférieure à ces valeurs, ce qui peut s'expliquer par **des variations dans les conditions de culture, la récolte ou les méthodes analytiques appliquées.**

La différence entre les deux types de chocolat enrichi s'explique probablement par **la composition intrinsèque des matières premières** : la poudre de caroube contient naturellement **plus de sucres simples** que la poudre de cacao, ce qui justifie sa teneur plus élevée malgré un enrichissement identique en spiruline.

L'ajout de spiruline à hauteur de 5 % représente une **approche efficace pour améliorer le profil nutritionnel du chocolat** tout en **diminuant sa charge glycémique**, le rendant plus adapté aux **régimes équilibrés ou hypoglycémiques.**

1.3 Analyse de la Teneur Lipidique

Les résultats de l'analyse de la teneur en lipides dans le chocolat, ainsi que dans les formulations contenant 5 % de spiruline, sont présentés dans l'histogramme suivant.

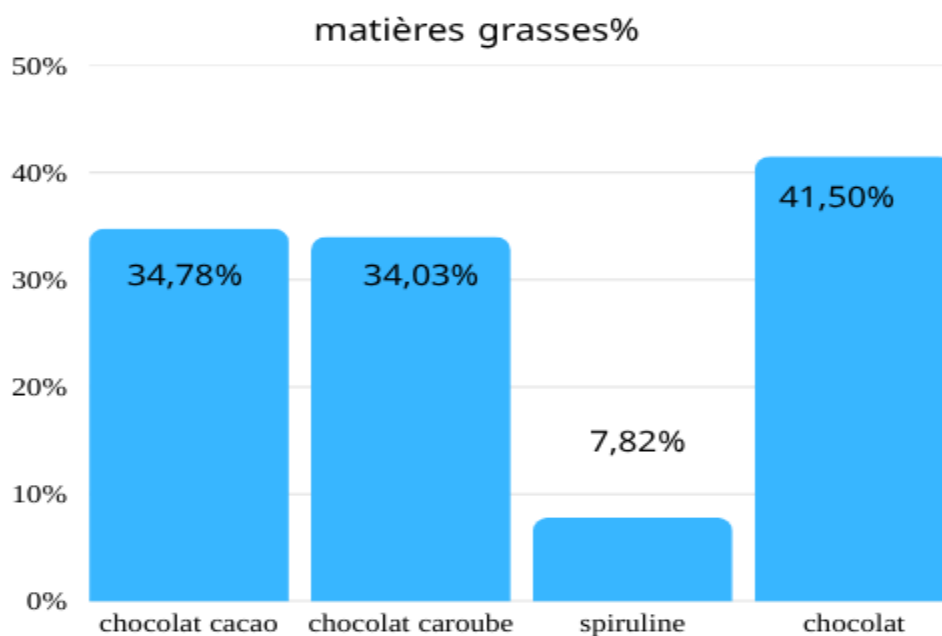


Figure 12 : Représentation graphique de la teneur en matières grasses dans les produits alimentaires contenant 5 % de spiruline.

Selon les résultats obtenus, la teneur en lipides dans les deux types de chocolat (à la caroube et au cacao) enrichis à 5 % de spiruline est d'environ 34 %, ce qui représente un taux relativement élevé. Cette richesse en matières grasses est principalement attribuée à l'utilisation du beurre de cacao comme ingrédient de base dans la formulation.

En comparaison, la spiruline pure présente une teneur beaucoup plus faible en lipides, estimée à 7,82 %, ce qui confirme que l'augmentation de la teneur en matières grasses dans le produit final est due aux composants du chocolat lui-même, et non à la spiruline.

Discussion:

Selon les résultats obtenus, la teneur en matières grasses du chocolat à la caroube enrichi en spiruline a atteint un taux relativement élevé de 34 %. Ce taux est principalement attribué à la présence d'ingrédients riches en lipides, notamment **le beurre de cacao**, reconnu pour sa forte concentration en acides gras, ainsi qu'à la contribution, bien que moindre, de la spiruline.

D'après la **FAO (2008)**, la spiruline contient entre 5 % et 6 % de lipides sur matière sèche. De même, **Simporé et al. (2006)** ont rapporté une teneur de 6 %, tandis que **Razafindrajaona et al. (2005)** ont observé des valeurs variant entre 6,7 % et 9 %. Ces données confirment que l'ajout de spiruline peut légèrement enrichir le profil lipidique du produit final.

Par ailleurs, **Reed et al. (1985)** ont indiqué que les lipides de la spiruline sont principalement constitués d'acides gras insaturés, notamment **l'acide linoléique**, ce qui confère au produit un avantage nutritionnel par rapport au chocolat traditionnel, souvent plus riche en acides gras saturés.

Il convient également de noter que, selon **Segura (2008)**, la teneur en lipides peut varier en fonction de la souche de spiruline utilisée, des conditions de culture, ainsi que de la méthode d'extraction appliquée.

En conclusion, le chocolat à la caroube enrichi en spiruline conserve une structure grasse agréable, tout en apportant une valeur ajoutée fonctionnelle grâce aux lipides qualitatifs de la spiruline. Ce type de formulation répond ainsi aux attentes des consommateurs recherchant des produits à la fois gourmands et sains.

1_4 Taux de salinité

Le taux de salinité a été présenté sous forme d'un histogramme pour les chocolats à la caroube et au cacao enrichis à 5 % de spiruline, ainsi que pour la spiruline pure et le chocolat

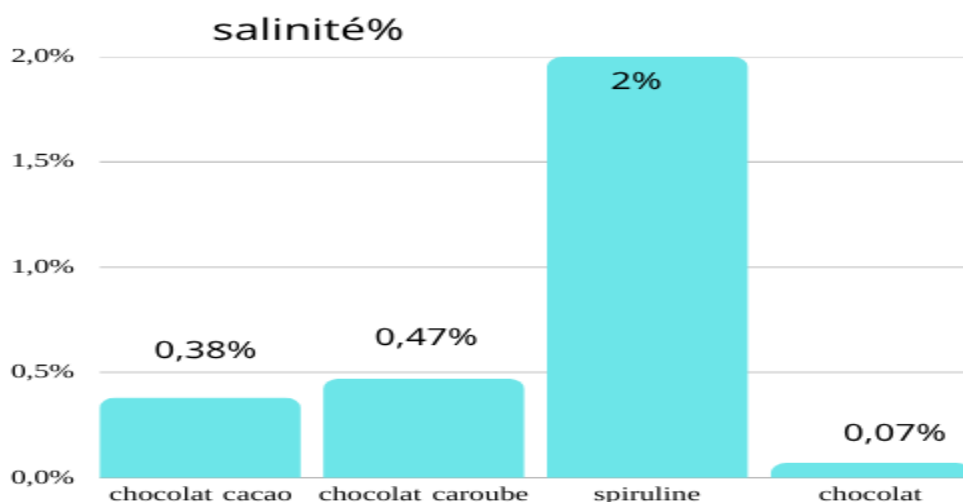


Figure 13 : Graphique représentant le taux de salinité dans les produits alimentaires suivants : chocolat à la caroube et chocolat au cacao enrichis à 5 % de spiruline, chocolat non enrichi et spiruline pure.

Ainsi, le chocolat à la caroube enrichi en spiruline présente un taux de salinité de **0,47 %**, tandis que celui du chocolat au cacao enrichi est de **0,38 %**. Le chocolat non enrichi affiche un taux plus faible de **0,07 %**. En comparaison, la spiruline pure présente une teneur élevée en sels minéraux, avec un taux de salinité de **2 %**, ce qui reflète clairement sa contribution à l'enrichissement minéral des produits alimentaires.

Discussion :

Les résultats analytiques ont révélé une variation notable du taux de salinité entre les échantillons étudiés. Le chocolat à la caroube enrichi à 5 % de spiruline a présenté un taux de salinité de **0,47 %**, tandis que le chocolat au cacao enrichi a affiché une teneur légèrement inférieure de **0,38 %**. En revanche, le chocolat non enrichi a montré une salinité très faible, estimée à **0,07 %**. À titre comparatif, la spiruline pure a présenté une teneur élevée en sels minéraux, atteignant **2 %**, ce qui reflète clairement l'apport minéral significatif de la spiruline dans les produits alimentaires enrichis.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Charpy et al. (2008)**, qui ont souligné que la spiruline est une source riche en éléments minéraux, notamment le calcium, le magnésium, le phosphore, le fer, le zinc et le potassium. Ils ont également noté que certains de ces éléments, en particulier les trois premiers, sont présents dans des concentrations comparables à celles du lait, rendant la spiruline intéressante pour corriger les carences minérales dans les régimes alimentaires.

Par ailleurs, les valeurs obtenues confirment celles rapportées par **Benhamed et al. (2010)**, qui ont mesuré un taux de cendres de **9,41 %** dans une souche de spiruline provenant du Burkina Faso, témoignant de la richesse minérale de cette cyanobactérie.

Ainsi, l'enrichissement du chocolat en spiruline constitue une stratégie prometteuse pour améliorer la valeur nutritionnelle des produits alimentaires sans compromettre leurs propriétés technologiques ou organoleptiques. Cette approche est particulièrement pertinente pour les populations à risque de carences minérales, telles que les enfants, les personnes âgées ou les personnes suivant un régime végétarien.

1.5 Résultat d'analyse physicochimique

Nous avons effectué des analyses physico-chimiques sur deux produits : le chocolat à la caroube et le chocolat au cacao.

Les résultats ont montré que les deux produits présentent une teneur élevée en matières grasses, avec 52,03 % pour le chocolat à la caroube et 52,78 % pour le chocolat au cacao, ainsi qu'une valeur énergétique importante estimée à environ 585 kcal pour 20 g, ce qui rend ces chocolats adaptés aux préparations riches en énergie.

Cependant, le chocolat au cacao s'est distingué par une teneur plus élevée en protéines (16 % contre 10,58 % pour le chocolat à la caroube), ainsi qu'une proportion plus faible de glucides (10,37 % contre 18,81 %), ce qui le rend plus approprié pour une consommation nutritionnelle riche en protéines.

Tableau08: Résultat d'analyse et physicochimique

Paramètre	Chocolat Caroube	Chocolat Cacao	Méthodologie
Protéines	10,58 %	16,00%	ISO 5983-2
Matières grasses	52,03%	52,78%	ISO 6492
Glucides	18,81%	10,37%	Dubois
Salinité	0,47%	0,38%	Calcul
Valeur énergétique	585,83 Kcal/100g	580,50 Kcal/100g	Calcul

2.d'analyse microbiologique

Le tableau résume les résultats de l'analyse microbiologique :

Tableau09 : Résultats du contrôle de qualité microbiologique

Parameter	Chocolat	Produits alimentaires 5 % Chocolat Caroube de S	Produits alimentaires chocolat cacao avec.5 % de S	Spiruline
Germes aérobies a 30 °C	Abs		< 10	$5.5.10^2$
Entrobacteriaceae	Abs	Abs	Abs	0
Levures et moisissures	Abs		< 10	0
Staphylocoques à coagulase +	Abs	Abs	Abs	Abs
Salmonella		Abs	Abs	
Listeria monocytogenes		Abs	Abs	

- ✓ Chocolat (sans spiruline): Les résultats montrent une absence totale de germes aérobies à 30 °C, d'Enterobacteriaceae, de levures et moisissures, de Staphylocoques à coagulase positive, de Salmonella et de Listeria monocytogenes.

Cette absence complète de micro-organismes pathogènes ou d'altération indique que le produit présente une excellente qualité microbiologique, conforme aux normes de sécurité alimentaire. Cela suggère une fabrication maîtrisée, une bonne hygiène dans le processus de production, et une conservation adéquate.

- ✓ Produits alimentaires enrichis avec 5 % de spiruline: Les résultats montrent une très faible charge microbienne, avec moins de 10 germes aérobies à 30 °C, et l'absence d'Enterobacteriaceae, de levures et moisissures, de Staphylocoques à coagulase positive, de Salmonella, et de Listeria monocytogenes.

Cette qualité microbiologique confirme que l'ajout de 5 % de spiruline n'a pas compromis la sécurité du produit. Les bonnes pratiques de fabrication et la qualité de la spiruline utilisée ont permis d'éviter toute contamination, ce qui rend ce produit sûr pour la consommation.

- ✓ Produits alimentaires enrichis avec 5% de spiruline: Les analyses microbiologiques indiquent également une absence totale de germes aérobies, d'Enterobacteriaceae, de levures et moisissures, de Staphylocoques à coagulase positive, de Salmonella, et de Listeria monocytogenes.

Ces résultats montrent que la formulation avec 5 % de spiruline est parfaitement stable et sûre, et que le produit respecte les normes microbiologiques exigées. Cela démontre un excellent contrôle de la chaîne de production et un haut niveau **d'hygiène.**

- ✓ En conclusion

L'ensemble des échantillons de chocolat, qu'ils soient enrichis ou non en spiruline, présentent une **qualité microbiologique très satisfaisante**. Aucune présence de germes pathogènes ou d'altération n'a été détectée, ce qui confirme la **sécurité sanitaire de ces produits**.

Ces résultats montrent également que **l'intégration de spiruline, qu'elle soit à 5 % ou à 5 %, n'a pas affecté négativement la stabilité microbiologique du produit final**. Cela valide l'utilisation de la spiruline comme ingrédient fonctionnel sûr dans les préparations

alimentaires.

Il est important de maintenir ce niveau de qualité par le respect rigoureux des bonnes pratiques d'hygiène, de fabrication et de conservation tout au long du processus de développement du produit.

2.1 Valeur énergétique

Les aliments fournissent de l'énergie grâce à leurs nutriments énergétiques tels que **les glucides, les lipides et les protéines**, qui sont métabolisés par l'organisme pour produire l'énergie nécessaire au bon fonctionnement des cellules, des organes et de l'ensemble du corps.

La **valeur énergétique** de la spiruline et des produits alimentaires qui en contiennent varie en fonction de leur **composition nutritionnelle** et du **taux d'incorporation** de la spiruline. La spiruline est particulièrement reconnue pour **sa richesse en protéines, vitamines et minéraux**, tandis que d'autres composants, comme la caroube, sont plus riches en glucides.

La **valeur énergétique** des aliments est mesurée à l'aide d'une **bombe calorimétrique**, une technique permettant de déterminer l'énergie totale contenue dans un produit alimentaire (aussi appelée **énergie brute**) par **la combustion complète d'une masse connue de l'échantillon**. Cette énergie est exprimée en **kilocalories pour 100 grammes (kcal/100g)** (Murat et al., 2009).

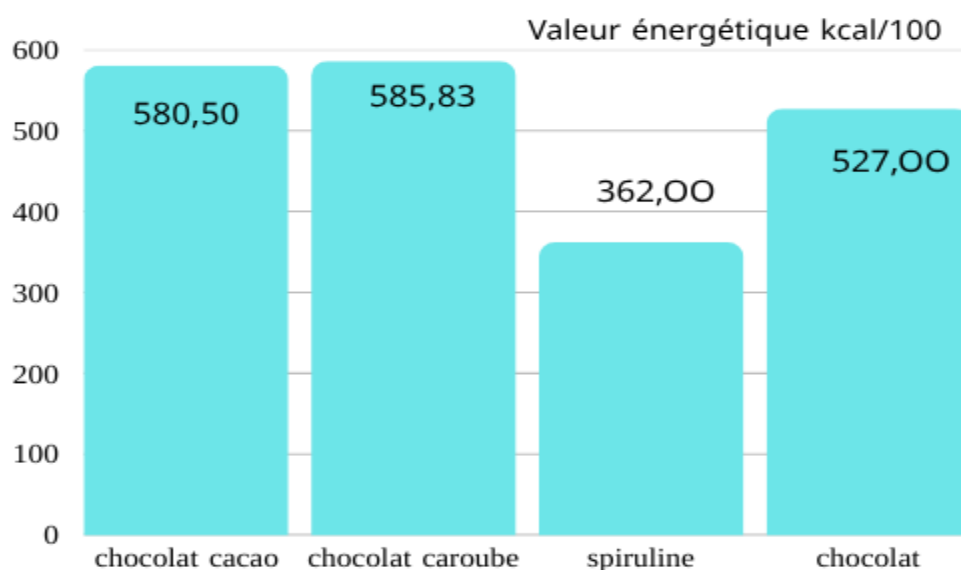


Figure14:. Graphique illustrant la valeur énergétique des produits alimentaires contenant 5 % de spiruline, ainsi que du chocolat

Les résultats d'analyse ont montré que la valeur énergétique des produits varie en fonction de leur composition. Le **chocolat à la caroube enrichi en spiruline** a présenté la valeur la plus élevée avec **585,83 kcal/100 g**, suivi du **chocolat au cacao enrichi** avec **580,50 kcal/100 g**. Le **chocolat non enrichi** a affiché une valeur énergétique inférieure, soit **527,00 kcal/100 g**, tandis que la **spiruline pure** a montré une valeur nettement plus basse de **362,00 kcal/100 g**.

Discussion :

Ces résultats indiquent que **l'enrichissement en spiruline n'a pas entraîné une diminution de la valeur énergétique** des produits chocolatés, mais au contraire, une **légère augmentation**. Cela peut s'expliquer par l'apport de la spiruline en protéines et en lipides de bonne qualité nutritionnelle, bien que sa propre valeur énergétique soit plus faible par rapport aux autres ingrédients comme le sucre ou le beurre de cacao.

Ces données sont cohérentes avec celles rapportées par **Charpy et al. (2008)**, qui soulignent la richesse de la spiruline en protéines et en minéraux, ce qui en fait un ingrédient de choix pour améliorer la qualité nutritionnelle des aliments sans compromettre leur apport calorique.

Par ailleurs, la **valeur énergétique particulièrement élevée du chocolat à la caroube** pourrait être liée à la teneur naturelle en glucides de la caroube, contribuant ainsi à l'énergie globale du produit lorsqu'elle est combinée à la spiruline.

Ces résultats mettent en évidence **l'intérêt nutritionnel de l'enrichissement du chocolat avec des ingrédients naturels comme la spiruline**, en offrant une **valeur énergétique adéquate accompagnée d'un profil nutritionnel amélioré**. Cela peut être particulièrement avantageux pour les populations ayant des besoins accrus en énergie et en nutriments, comme les enfants, les sportifs ou les personnes souffrant de malnutrition.

2.2 Analyse sensorielle

Selon **Baccini (2010)**, l'analyse factorielle des correspondances (AFC) vise à **réduire l'information initiale en un nombre limité de dimensions**, en se concentrant non pas sur les valeurs absolues, mais sur **les relations entre les variables**, c'est-à-dire les valeurs relatives. Cette méthode est particulièrement utile lorsque le nombre de critères est élevé, comme dans l'évaluation sensorielle basée sur **le goût, l'aspect, l'odeur et la texture**. Elle permet de mettre en évidence les préférences des consommateurs et leurs liens avec les caractéristiques organoleptiques du produit.

Dans ce cadre, les choix des consommateurs ont été analysés à l'aide du logiciel **Excel**, afin de représenter au mieux **la relation entre les préférences sensorielles et les propriétés organoleptiques** du produit, à savoir **le chocolat au caroube enrichi en spiruline sous forme de flocons**, en deux formulations : 5 % et 5 % de spiruline.

Propriétés organoleptiques du chocolat au caroube enrichi en spiruline (flocons)

Les caractéristiques sensorielles de ce produit peuvent varier selon **la concentration de spiruline, sa forme physique (flocons)** et la **qualité du caroube** utilisé. Voici les principales observations :

- **Couleur :**

L'ajout de spiruline modifie la couleur du chocolat, lui donnant des teintes **vert foncé ou brun-vert**, selon la concentration. Cela peut influencer l'attrait visuel du produit.

- **Goût :**

La spiruline a un goût caractéristique, souvent décrit comme **terreux ou légèrement**

marin. Lorsqu'elle est associée au goût sucré et caramélisé du caroube, elle peut introduire **des notes herbacées** perceptibles, surtout à des doses élevées.

- **Texture :**

L'utilisation de spiruline sous forme de flocons apporte une **légère texture granuleuse ou croquante**, différente du chocolat classique, ce qui peut être perçu positivement ou négativement selon le profil du consommateur.

- **Odeur :**

La spiruline peut dégager une **odeur spécifique** détectable à l'ouverture ou lors de la dégustation, bien que son intensité varie selon la proportion utilisée et les autres arômes présents.

- **Aspect visuel :**

Les flocons de spiruline créent un **aspect non homogène**, avec une distribution irrégulière dans la masse chocolatée, ce qui modifie l'apparence classique du chocolat lisse.

A .En ce qui concerne le premier échantillon (Produit alimentaire enrichi 5% de spiruline)

Les évaluations des participants ont été classées en cinq catégories : **Excellent, Bon, Moyen, Acceptable** et **Mauvais**, en se basant sur quatre critères sensoriels.

Goût :

Ce produit a été **très bien apprécié** par la majorité des participants, avec **68 sur 70** l'ayant classé dans les catégories « **Excellent** » ou « **Bon** ».

Seuls **2 participants** l'ont jugé « Mauvais ».

Cela reflète un **fort consensus positif** sur le goût, qui constitue ainsi **un point fort majeur** du produit.

. Aspect :

Les avis concernant l'aspect visuel ont montré **une certaine variation** :

- ✓ **62 participants** l'ont trouvé « Excellent » ou « Bon »,
- ✓ **8 participants** l'ont jugé « Moyen »,

- ✓ et **1 participant** l'a classé comme « Mauvais ».

Ces résultats montrent que l'aspect est **globalement bien perçu**, mais **pourrait être amélioré** sur le plan de **l'homogénéité visuelle et de l'attrait esthétique**.

. Odeur :

L'odeur a été **largement bien accueillie** :

- ✓ **57 participants** l'ont jugée « Bonne »,
- ✓ et **13 participants** « Excellente »,
- ✓ sans aucun avis négatif (« Mauvais »).

Cela montre que l'odeur est **un autre point fort** du produit.

. Texture :

Les opinions sur la texture ont été **partagées** :

- ✓ **57 participants** l'ont évaluée comme « Excellente » ou « Bonne »,
- ✓ **8 l'ont trouvée « Moyenne »**,
- ✓ et **5 l'ont jugée « Mauvaise »**.

Ces résultats suggèrent qu'il serait **utile d'améliorer la texture**, en termes de **finesse et d'homogénéité**, afin de renforcer l'expérience gustative et l'acceptabilité globale du produit.

Ce produit présente **d'excellentes performances au niveau du goût et de l'odeur**, deux critères essentiels dans l'acceptabilité des produits alimentaires.

Cependant, **l'aspect visuel et la texture** représentent des axes **potentiels d'amélioration**, qui pourraient contribuer à une meilleure réception du produit par les consommateurs.

B .Pour sensorielle du deuxième échantillon (Produit alimentaire enrichi 5% de spiruline)

Les évaluations des participants ont été réparties selon cinq catégories : **Excellent, Bon, Moyen, Acceptable** et **Mauvais**, et les résultats sont les suivants :

Goût :

Le deuxième échantillon a été **largement apprécié** par les participants.

27 personnes l'ont jugé « Excellent » et **40 personnes** « Bon », soit un total de **68 évaluations**

positives sur 70.

Seuls **3 participants** l'ont évalué comme « Mauvais », ce qui traduit une **satisfaction générale élevée**, bien qu'un peu inférieure à celle du premier échantillon en termes de critiques négatives.

Aspect :

Les avis sur l'aspect visuel étaient **partagés** :

- ✓ **63 participants** l'ont jugé « Excellent » ou « Bon »,
- ✓ **5 participants** « Moyen »,
- ✓ et **2 participants** « Mauvais ».

Ces résultats indiquent que **l'aspect est globalement bien perçu**, mais qu'il reste **des marges d'amélioration possibles**, notamment au niveau de l'uniformité visuelle.

Odeur :

L'odeur a été **globalement bien reçue** :

- ✓ **56 participants** l'ont évaluée comme « Excellente » ou « Bonne »,
- ✓ **13 participants** comme « Acceptable »,
- ✓ et **1 seul participant** comme « Mauvaise ».

Cela montre que **l'odeur constitue un point fort** de cet échantillon, tout comme pour le premier.

Texture :

Les avis concernant la texture étaient **assez variés** :

- ✓ **48 participants** l'ont trouvée « Excellente » ou « Bonne »,
- ✓ **18 participants** « Moyenne »,
- ✓ **3 participants** « Acceptable »,
- ✓ et **1 participant** « Mauvaise ».

Ces résultats indiquent que **la texture peut encore être améliorée**, notamment en termes de finesse et d'homogénéité, pour satisfaire une plus grande part des consommateurs.

Le deuxième échantillon a été **globalement bien accepté**, en particulier pour **le goût et l'odeur**, qui ont reçu les évaluations les plus positives.

Cependant, **l'aspect et la texture** ont suscité **des avis plus mitigés**, soulignant des **axes d'amélioration** à prendre en compte pour augmenter l'acceptabilité globale du produit.

Analyse sensorielle du chocolat au caroube enrichi à 5 % de spiruline

. Goût :

- ✓ L'échantillon à **5 % de spiruline** a été largement apprécié, avec **30 participants** le jugeant « Excellent » et **40 « Bon »**, soit un total de **70 % d'évaluations positives**.
- ✓ L'échantillon à **5 %** a obtenu **28 évaluations « Excellent »** et **40 « Bon »**, soit **68 % d'avis positifs**.

Conclusion : L'échantillon à 5 % montre une **légère supériorité** en termes de goût.

Aspect :

- ✓ L'échantillon à **5 %** a reçu **44 % d'évaluations positives** (20 « Excellent » + 24 « Bon »).
- ✓ L'échantillon à **5 %** a obtenu **39 % d'évaluations positives** (11 « Excellent » + 28 « Bon »).

Conclusion : L'aspect visuel est **meilleur dans l'échantillon à 5 %**, mais reste perfectible dans les deux cas.

Odeur :

- ✓ L'échantillon à **5 %** a été évalué à **60 % de notes positives** (18 « Excellent » + 42 « Bon »).
- ✓ L'échantillon à **5 %** a obtenu exactement le **même pourcentage** de notes positives (15 « Excellent » + 45 « Bon »).

Conclusion : L'odeur est **un point fort commun** aux deux formulations.

Texture :

- ✓ Premier l'échantillon à **5 %** a reçu **50 % d'évaluations positives** (22 « Excellent » + 28 « Bon »).
- ✓ Deuxième l'échantillon à **5 %** a obtenu **55 % d'avis positifs** (19 « Excellent » + 36 « Bon »).

Conclusion : L'échantillon à 5 % est légèrement mieux noté pour la texture, ce qui reflète un meilleur équilibre ou une sensation plus agréable en bouche.

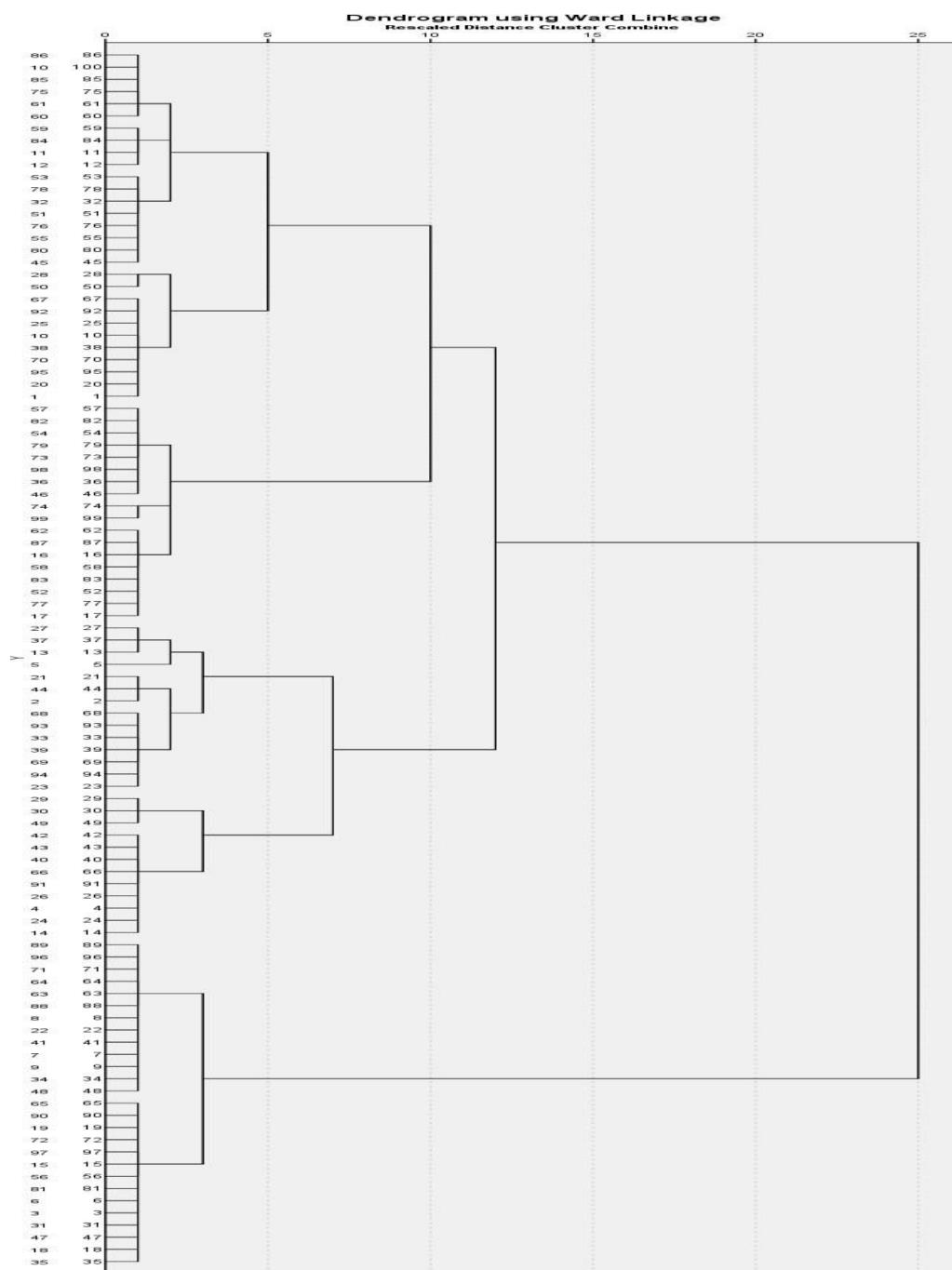


Figure15 : Classification ascendante hiérarchique d'enquêt

Premier échantillon : Chocolat au caroube enrichi à 5% de spiruline

- **Goût** : 70 % des évaluations sont positives, avec 23 jugements "Excellent" et 47 "Bon", ce qui reflète une large appréciation de la saveur.
- **Aspect** : 44 % des participants ont donné une évaluation positive (18 "Excellent" + 26 "Bon"), indiquant un aspect globalement acceptable mais perfectible.
- **Odeur** : 60 % des réponses sont positives (15 "Excellent" + 45 "Bon"), ce qui témoigne d'un bon équilibre aromatique.
- **Texture** : 50 % des évaluations sont "Excellent" ou "Bon" (17 + 33), indiquant une acceptabilité moyenne du point de vue de la consistance.

Deuxième échantillon : Chocolat cacao enrichi à 5 % de spiruline

- **Goût** : 68 % des évaluations sont positives (28 "Excellent" + 40 "Bon"), ce qui reste un bon résultat, légèrement inférieur à celui du premier échantillon.
- **Aspect** : 39 % des évaluations sont positives (11 "Excellent" + 28 "Bon"), révélant un aspect visuel moins apprécié.
- **Odeur** : 60 % des participants ont donné une évaluation "Excellent" ou "Bon" (15 + 45), équivalent au premier échantillon.
- **Texture** : 55 % d'évaluations positives (19 "Excellent" + 36 "Bon"), soit un résultat légèrement supérieur à celui du premier échantillon.

C. Évaluation comparative entre les deux échantillons

Le chocolat au caroube enrichi à 5 % **de spiruline** se distingue par des résultats légèrement supérieurs en termes de **goût** et d'**aspect**, tandis que le deuxième échantillon, enrichi à 5 %, a obtenu de **meilleures évaluations pour la texture**.

En ce qui concerne l'**odeur**, les deux échantillons ont reçu des appréciations **similaires et globalement positives**, ce qui en fait un point fort commun.

Le produit à 5 % de spiruline est donc préféré pour ses **meilleures performances globales dans les critères du goût et de l'aspect**, qui sont des facteurs clés dans l'**acceptation du consommateur**.

Quant à l'échantillon à 5 %, bien qu'il soit légèrement en retrait sur certains aspects, il **reste un bon candidat** grâce à ses **résultats solides**, notamment en ce qui concerne la texture, qui influence fortement l'expérience sensorielle.

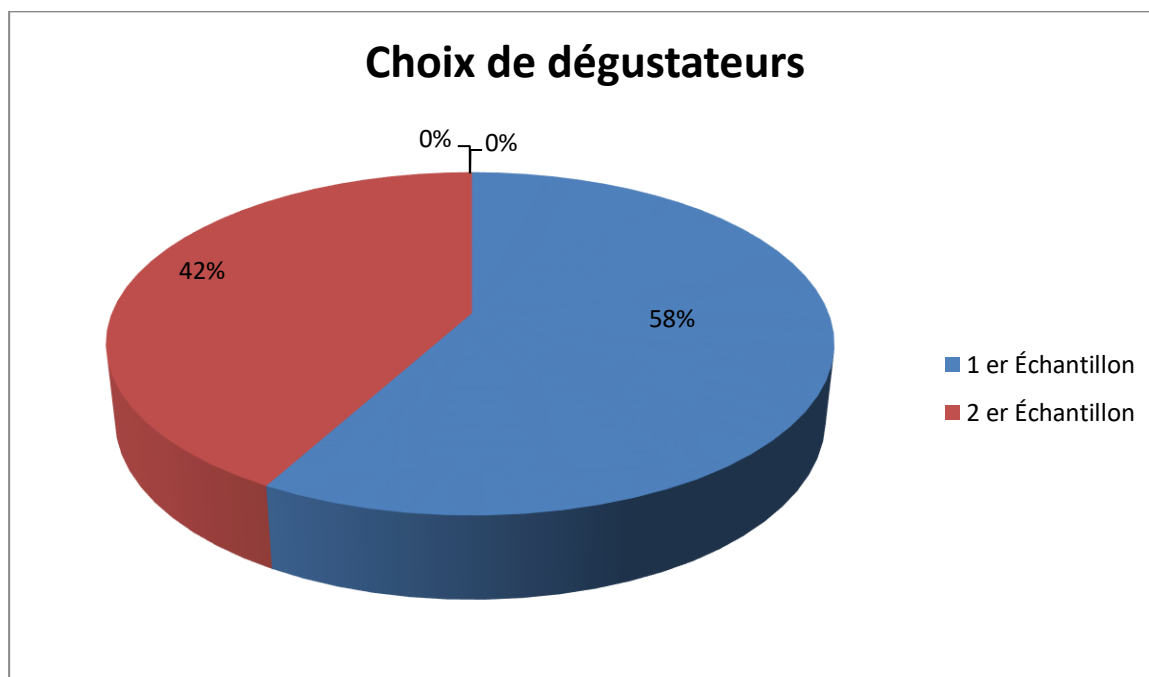


Figure16: Évaluation Comparative entre deux échantillon

Il ressort de cette comparaison que le **chocolat au caroube enrichi à 5 % de spiruline** est **globalement préféré** pour son **meilleur goût** et son **aspect visuel plus agréable**.

Cependant, le produit enrichi à 5 % de spiruline est également **apprécié**, notamment pour sa **texture plus équilibrée**.

Ainsi, **les deux formulations présentent des atouts distincts** et peuvent être envisagées comme des options viables, selon **les préférences des consommateurs et les objectifs du produit final**.

Conclusion

Conclusion

La caroube produits naturels largement disponibles dans notre région. C'est pourquoi nous avons décidé de les valoriser en créant un produit alimentaire innovant : **le chocolat à la caroube et au cacao enrichi en spiruline**. Grâce à des analyses biochimiques, physico-chimiques et microbiologiques approfondies réalisées sur la spiruline, la poudre de caroube et le cacao, nous avons formulé deux préparations contenant **5 % de spiruline**, l'une à base de caroube, l'autre à base de cacao.

La spiruline, reconnue pour sa richesse exceptionnelle en protéines, minéraux et vitamines, s'est révélée être un ingrédient fonctionnel de choix, capable d'améliorer la valeur nutritionnelle des produits alimentaires et de contribuer à la lutte contre la malnutrition. Le chocolat fonctionnel obtenu s'est ainsi distingué par sa **valeur énergétique élevée**, sa **teneur renforcée en protéines et en minéraux**, ainsi que par des **propriétés sensorielles acceptables**.

L'analyse biochimique de la spiruline a révélé une composition intéressante : **63,80 % de protéines, 9,10 % de sucres, 7,82 % de lipides et 11,90 % de cendres**, ce qui confirme sa richesse nutritionnelle. En ce qui concerne les formulations finales, le chocolat à la caroube enrichi a présenté **10,31 % de protéines, 36,85 % de lipides, 44,20 % de sucres, 0,47 % de cendres et 585,83 kcal/100g**. Le chocolat au cacao enrichi, quant à lui, contient **10,25 % de protéines, 34,52 % de lipides, 45,57 % de sucres, 0,38 % de cendres et 580,50 kcal/100g**. En comparaison, le chocolat non enrichi a présenté une valeur énergétique de **527 kcal**, tandis que la spiruline pure a montré **362 kcal**. Ces résultats confirment l'effet positif de la spiruline sur la densité nutritionnelle du produit final.

Les tests microbiologiques ont démontré une qualité hygiénique satisfaisante du produit fini, sans présence d'agents pathogènes, ce qui en garantit la sécurité de consommation. L'analyse sensorielle a révélé une préférence pour le chocolat à la caroube, notamment pour le goût et l'aspect visuel, tandis que le chocolat au cacao s'est démarqué par une meilleure texture. Selon l'analyse factorielle des correspondances, l'échantillon à base de caroube a été le plus apprécié, ce qui souligne l'importance du choix des ingrédients de base dans l'acceptation du produit par les consommateurs.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel de la spiruline comme ingrédient fonctionnel dans le développement de nouveaux produits alimentaires riches, sains et accessibles. L'équilibre entre les apports nutritionnels et les caractéristiques organoleptiques s'avère fondamental pour la réussite de telles formulations.

Recommandations :

- ✓Poursuivre les recherches pour améliorer la formulation sensorielle et technologique du produit.
- ✓Encourager la culture locale de la spiruline dans des milieux naturels et à faible coût.
- ✓Valoriser des matières premières locales comme la caroube dans l'industrie agroalimentaire.
- ✓Intégrer l'utilisation de biodéchets pour améliorer la rentabilité de la production de spiruline.
- ✓Promouvoir la production à l'échelle industrielle de ce type de chocolat fonctionnel.
- ✓Réaliser des études cliniques sur des populations souffrant de malnutrition pour évaluer l'efficacité réelle du produit élaboré.

Référence bibliographique

Références

1. Akkermans, L. M. A., & Jonkers, D. M. A. E. (2018). *Dietary fibers and the gut microbiome: Relevance for health and disease*. In *Microbiome and Metabolome in Diagnosis, Therapy, and other Strategic Applications* (pp. 199–213). Academic Press.
2. Afoakwa, E. O. (2010). *Chocolate Science and Technology*. Wiley-Blackwell
3. Beckett, S. T. (2008). *Industrial Chocolate Manufacture and Use*. Wiley-Blackwell
4. Minifie, B. W. (2012). *Chocolate, Cocoa and Confectionery: Science and Technology*. Springer
5. Álvarez, P., & Moreno-Arribas, M. V. (2020). *Bioactive compounds in cocoa and chocolate: Impact on human health*. In: *Functional Foods and Bioactive Compounds in Health and Disease*. MDPI.
6. Arafat, M., El-Zayat, E. M., & Hegazy, M. A. (2021). Nutritional and functional properties of carob (*Ceratonia siliqua*) pod flour and its utilization in biscuit preparation. *Plant Archives*, 21(1), 344–349.
7. Barak, S., & Mudgil, D. (2014). Locust bean gum: Processing, properties and food applications—A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66, 74–80
8. Custódio, L., Patarra, J., Alberício, F., & Neng, N. R. (2011). *Chemical composition and antioxidant activity of the carob tree (Ceratonia siliqua L.)*. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 637–643.
9. Vekiari, S. A., Ouzounidou, G., Papadopoulou, P., & Gotsiou, Y. (2011). Evaluation of antioxidant properties in the fruits of the carob tree (*Ceratonia siliqua* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(4), 318–324. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0252-3>
10. Avallone, R., Plessi, M., Baraldi, M., & Monzani, A. (1997). *Determination of chemical composition of carob (Ceratonia siliqua): nutritional and technological aspects*. *Food Chemistry*, 60(4), 423–430.
11. Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C., & Hasan, M. R. (2008). *A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish*. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034.
12. Beckett, S. T. (2017). *The Science of Chocolate* (2nd ed.). Royal Society of Chemistry.

13. **Belay, A.** (1997). *Mass culture of Spirulina outdoors—The Earthrise Farms experience*. *Journal of Applied Phycology*, 9(4), 303–311.
14. **Boublenza, I., Touati, A., Djemouai, N., & Zerrouki, M. C.** (2017). Chemical composition and antioxidant activity of carob pulp (*Ceratonia siliqua* L.) extracts. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11, 598–605.
15. **Chan, P., Tomlinson, B., Chen, Y. J., Liu, J. C., Hsieh, M. H., & Cheng, J. T.** (2000). A double-blind placebo-controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 50(3), 215–220.
16. **Chatsudthipong, V., & Muanprasat, C.** (2009). Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacology & Therapeutics*, 121(1), 41–54
17. **Coe, S. D., & Coe, M. D.** (2013). *The True History of Chocolate* (3rd ed.). Thames & Hudson.
18. **Custódio, L., Escapa, A. L., & Fernández-Lafuente, R.** (2022). Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) as a sustainable source of natural products: Nutritional, industrial and therapeutic insights. *Journal of Functional Foods*, 89, 104942.
19. **Delzenne, N. M., & Cani, P. D.** (2021). *Functional foods: A growing field of interest in nutrition research*. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 24(6), 493–499.
20. **Fahmy, H., & Saad, A.** (2022). Fortification of chocolate products: recent trends and challenges. *Journal of Functional Foods*, 95, 105171.
21. **FAO.** (2016). *Spirulina in human nutrition and health*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/3/i0424e/i0424e00.htm>
22. **Forbes Health.** (2023). *12 Health Benefits Of Spirulina, According To Experts*. <https://www.forbes.com/health/nutrition/health-benefits-of-spirulina/>
23. **Fourchaud, L.** (2025). *Composition et valeurs nutritionnelles de la spiruline*. Darwin Nutrition. <https://www.darwin-nutrition.fr/en/advice/composition/>
24. **Gboghri, G.-F.** (2019). *Impact de la fermentation sur les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et immunomodulatrices du cacao* (Thèse de doctorat, Université de Montpellier).

25. Gould, J., Hussein, H., & Manosroi, W. (2020). Masking the flavor of spirulina with natural sweeteners in functional food development. *Journal of Functional Foods*, 65, 103747.
26. Hashemi, S. M. B., & Jafarpour, D. (2021). Fortification of dark chocolate with probiotic and microalgae. *Food Science & Nutrition*, 9(3), 1706–1714.
27. Healthline. (2023). 10 Health Benefits of Spirulina. <https://www.healthline.com/nutrition/10-proven-benefits-of-spirulina>
28. Jeppesen, P. B., Gregersen, S., Alstrup, K. K., & Hermansen, K. (2000). Stevioside induces antihyperglycemic, insulinotropic and glucagonostatic effects in vivo: Studies in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Phytomedicine*, 7(6), 405–412.
29. Kris-Etherton, P. M., & Keen, C. L. (2017). Evidence that the flavonoids in cocoa and chocolate have cardiovascular benefits. *The Journal of Nutrition*, 137(11), 2725S–2731S.
30. Kumcuoglu, S., Yilmaz, T., & Tavman, S. (2015). Technological and functional properties of carob (*Ceratonia siliqua*) flour and gum. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(12), 1564–1573.
31. Lagouri, V., & Blekas, G. (2018). Biofunctional properties of carob powder. In A. M. Holban & A. M. Grumezescu (Eds.), *Functional foods and nutraceuticals* (pp. 403–426). Academic Press.
32. Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., & Ah-Hen, K. (2012). Stevia rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132(3), 1121–1132.
33. Misra, H., Soni, M., Silawat, N., Mehta, D., Mehta, B. K., & Jain, D. C. (2011). Antidiabetic activity of medium-polar extract from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves in albino rats. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 3(2), 242–248.
34. Papagiannopoulos, M., Wollseifen, R., & Schieber, A. (2020). Determination of dietary fiber, polyphenols and antioxidant capacity in carob products. *Food Chemistry*, 312, 126087.

35. **Sánchez, A., & García, D. (2021).** Prebiotic potential of locust bean gum and carob pulp. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 367–377.
36. **Santos, P. M., Pereira, C. I., & Rodrigues, D. (2023).** Carob-based functional foods: A review of potential benefits and applications. *Food Research International*, 166, 112591.
37. **Tanghe, A. (2021).** *Effets d'une prise unique de flavanols du cacao sur la réactivité vasculaire périphérique chez des patients atteints de diabète de type 2* (Thèse de doctorat, Université de Lille & Universiteit Gent).
38. **Verma, A. K., Dewangan, K., Daunday, L., Naurange, K., & Bhiaram, M. (2024).** Spirulina as functional food: insights into cultivation, production, and health benefits. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 12(5).

Annexes

1. Annexes N°1: Business Model canvas (préparation alimentair enrichie par la spirulin



2. Annexes N°2: appareil de conch



3. Annexes N°3: Formulaire de Test de Dégustation pour le chocolat Enrichi en Spiruline:

Dégustateur N° :

Age :

Date :

Sexe :

Marquez X pour chaque type d'échantillon selon les critères suivant (couleur, odeur, texture, gout) en choisissant la case correspondante

Echantillon 01 : chocolat de caroube (20g/ 5g de spiruline) :

Les critères	المعايير	ممتاز	جيد	متوسط	مقبول	سئء
Le gout	الذوق					
L'aspect	المظهر					
L'odeur	الرائحة					
La texture	البنية					

Echantillon 02 : Chocolate de cacao (20kg/3,5 g de spiruline)

Les critères	المعايير	ممتاز	جيد	متوسط	مقبول	سئء
Le gout	الذوق					
L'aspect	المظهر					
L'odeur	الرائحة					