

EFFET IN VITRO DE LA SPIRULINE SUR L'ÉVOLUTION DES BACTÉRIES LACTIQUES THERMOPHILES

Amel DOUMANDJI* et
Dahmane ALILI

*Université Saâd DAHLAB,
Faculté des sciences agro-
vétérinaires, Département des
sciences agronomiques, route
de Soumaâ, BP 270 – 9000,
Blida, Algérie.
E-mail: corino147@yahoo.fr

Résumé

De par sa teneur exceptionnelle en protéines (60 à 70 %), de par sa teneur en matière sèche et d'autres nutriments notamment les lipides essentiels et les vitamines, la spiruline, algue microscopique apparaît comme un substrat indispensable à la croissance et au développement de nombreuses bactéries.

L'utilisation de cette algue comme facteur de stimulation de la croissance des deux bactéries lactiques du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus*) a constitué l'objet de notre travail qui vise à mettre en exergue l'effet de la spiruline sur cette flore lactique en vue d'une amélioration de la qualité du produit.

Nous avons utilisé du lait écrémé (0 %), une souche de *Spirulina platensis* en provenance de la République centrafricaine et une capsule pharmaceutique contenant les souches bactériennes utilisées. La démarche méthodologique adoptée a consisté en un suivi du développement des dites bactéries dans le lait écrémé seul puis dans le lait écrémé enrichi en spiruline à raison de 0,5 %. Le dénombrement de la flore lactique et la mesure du pH des deux milieux à des intervalles de temps bien déterminés (T_0 , T_2 , T_4 , T_6 , T_8 et T_{24}) ont été les paramètres que nous avons choisis.

Les résultats obtenus après dénombrement des colonies ont révélé que le temps de génération de *Lactobacillus bulgaricus* ($G=2\text{h } 24\text{ mn}$) ainsi que son taux de croissance ($\mu=0,41$ division/h) restent constants dans les deux milieux. Contrairement à *Streptococcus thermophilus* dont le temps de génération ($G=3\text{h } 02\text{ mn}$) et le taux de croissance ($\mu=0,33$ division/h) dans le lait enrichi sont meilleurs que dans le lait seul ($G=3\text{h } 42\text{ mn}$; $\mu=0,27$ division/h).

Nous avons également constaté que la vitesse d'acidification des souches dans le lait enrichi ($V_{pH}=1,7 \cdot 10^{-3}$) est supérieur à celle du lait seul ($V_{pH}=1,6 \cdot 10^{-3}$).

Mots clés: *Spirulina platensis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, taux de croissance, temps de génération, pH

1. Introduction

Des algues sont sans doute consommées depuis la préhistoire. Et les Aztèques ingéraient de la spiruline au XVI^{ème} siècle.

En raison de sa richesse exceptionnelle en protéines, la spiruline est cultivée dans de

nombreux pays, depuis les années 1970: Afrique, Antilles, Chine (province du Yunnan), États-Unis, Hawaii, Inde, Madagascar, Mexique, Équateur, Thaïlande, ect. Depuis peu, elle est cultivée sous serres en France (Cévennes, Bouches-du-Rhône, Tarn-et-Garonne, Aude).

La culture de la spiruline se pratique dans des bassins aquatiques de quelques décimètres de profondeur exposés au soleil, dans une eau alcaline et maintenue à une température comprise entre 30 et 35°C., et dans lesquels la production atteint 20 g/ (m² . j). Après filtration, égouttage, lavage, puis séchage, on obtient une fine poudre verte, la spiruline en poudre. La désignation de complément alimentaire, englobe toutes les denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés (Décret n° 2006-352 du 20 mars 2006 relatif aux compléments alimentaires du Journal Officiel de la République Française). Les spirulines, algues microscopiques traditionnellement consommées depuis des siècles par certaines populations (Farrar, 1966), et de nos jours encore au Tchad (Léonard, 1966; Delpeuch *et al.*, 1975; Sorto, 2003) font partie de ce groupe. La spiruline est l'objet d'une redécouverte depuis quelques années.

Le spectre de développement

de la spiruline se situe dans les zones géographiques correspondantes à la ceinture tropicale. Elle pousse dans des conditions extrêmes (salinité et pH) dans lesquelles peu de micro-organismes sont capables de survivre.

La remarquable teneur en protéines de la spiruline (60 à 70 %), fait d'elle un aliment exceptionnel. De nombreuses analyses ont en effet révélé des propriétés nutritionnelles particulièrement intéressantes: composition protéique équilibrée, présence de lipides essentiels rares, de nombreux minéraux et vitamines (Ciferri, 1983).

Les diarrhées sont une cause principale de mortalité chez les enfants dans les pays en voie de développement où selon les estimations de l'OMS, l'on recense chaque année 1,3 milliards d'épisodes et 3,2 millions de décès chez les enfants de moins de cinq ans.

L'un des rôles fondamentaux de la flore microbienne intestinale est de protéger l'hôte contre l'invasion par des bactéries pathogènes. L'apport par l'aliment de bactéries vivantes réputées bénéfiques (probiotiques) peut permettre d'orienter favorablement ou de renforcer les propriétés de la flore

intestinale. Les bactéries lactiques comptent parmi les meilleurs candidats. Les bactéries lactiques à effet probiotique pourraient être d'intéressants substituts. Apparues dans l'alimentation humaine grâce aux produits laitiers fermentés, les bactéries lactiques sont bénéfiques pour l'organisme. Elles maintiennent l'équilibre de la microflore intestinale et réduisent les populations bactériennes potentiellement pathogènes. Pour s'imposer dans des environnements naturels, ces bactéries produisent des substances qui détruisent les bactéries pathogènes.

Dans ce contexte, l'objectif de cette présente étude est d'évaluer l'effet de la spiruline sur l'évolution des bactéries lactiques thermophiles en l'occurrence les deux bactéries du yaourt soit *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Isolement de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus*

Les souches de *Lb. bulgaricus* et de *Sc. thermophilus* ont été isolées à partir d'une capsule pharmaceutique d'origine Suisse. Le tableau I mentionne les différentes souches contenues dans la capsule.

<i>Bifidobacterium breve</i> HA-129	2 %
<i>Bifidobacterium longum</i> HA-135	3 %
<i>Lactobacillus acidophilus</i> HA-122	5 %
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> HA-137	1 %
<i>Lactobacillus casei</i> HA-108	50 %
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> HA-111	30 %
<i>Streptococcus thermophilus</i> HA-110	9 %

Tableau I: Composition de la capsule pharmaceutique

2.2. Suivi de la croissance de *Lb. bulgaricus*, de *Sc. thermophilus* et du pH dans le lait écrémé seul et dans le lait enrichi avec de la spiruline

Le but de cette étape est de mettre en évidence le rôle important de la spiruline dans la stimulation de l'effet de coopération entre les deux souches lactiques d'intérêt (*Lb. bulgaricus* + *Sc. thermophilus*). Cette association est caractérisée par deux paramètres technologiques soit le pouvoir acidifiant et la cinétique de la croissance.

Le dénombrement et la mesure du pH sont les paramètres méthodologiques que nous avons choisis pour effectuer le suivi de l'évolution des

souches concernées.

Une quantité de 1 mL de la souche de *Lb. bulgaricus* + 1 mL de la souche de *Sc. thermophilus* est ensemencée avec du lait écrémé seul et enrichi à la spiruline. On réalise l'opération de manière à obtenir 12 tubes répartis en 2 séries de 6 tubes (T0, T2, T4, T6, T8, et T24) pour chaque paramètre.

2.2.1. Suivi de la croissance

La croissance est exprimée par le dénombrement des colonies. Le tube T0 représente le tube témoin, on le laisse à température ambiante sur la paillasse, tandis que les tubes T2, T4, T6, T8, T24 sont incubés à 37°C. Les tubes T2, T4, T6, T8 sont

retirés l'un après l'autre toutes les deux heures et le tube T24 après 24h de fermentation.

On réalise des dilutions décimales de 10^{-1} à 10^{-7} à partir de chaque tube. Les 3 dernières dilutions sont ensemencées en profondeur sur milieu MRS pour le dénombrement des lactobacilles et en surface sur M17 pour le dénombrement des streptocoques.

2.2.2. Suivi du pH

Les tubes correspondant au pH sont retirés aussi toutes les deux heures et après 24 heures pour le tube T24 pour la mesure du pH à l'aide d'un pH-mètre (Fig. 1).

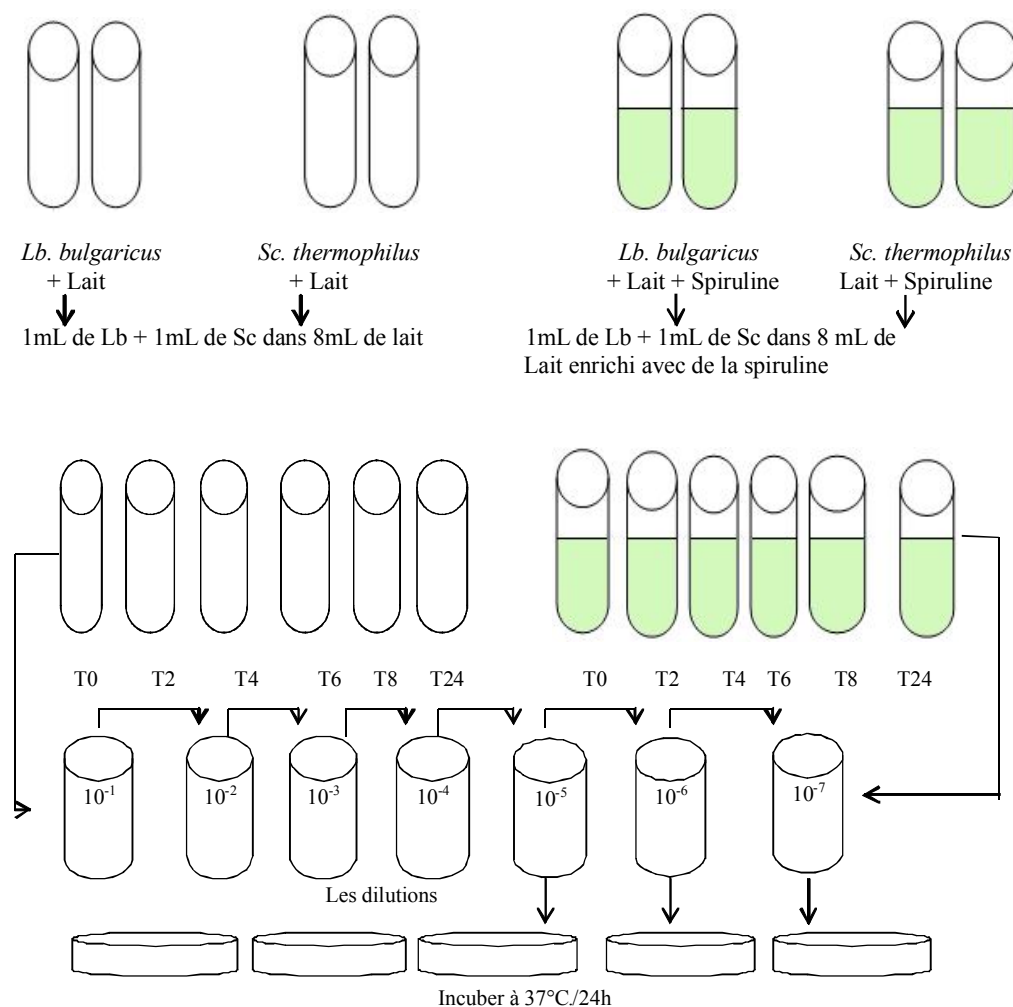


Fig. 1: Protocole du suivi de la croissance de (*Lb. bulgaricus* + *Sc. thermophilus*) et du pH dans le lait écrémé seul et enrichi avec de la spiruline

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats du suivi de la croissance de *Lb. bulgaricus*, *Sc. thermophilus* et du pH dans le lait écrémé seul et enrichi à la spiruline

3.1.1. Suivi de la croissance

Au niveau du tableau II les résultats du suivi de la croissance dans le lait écrémé seul en déterminant le nombre des UFC/mL sont représentés.

souches	<i>Sc. thermophilus</i>		<i>Lb. bulgaricus</i>	
Temps (h)	UFC/mL	Log UFC/mL	UFC/mL	Log UFC/mL
T ₀	63 . 10 ⁶	7,80	32 . 10 ⁶	7,50
T ₂	120 . 10 ⁶	8,07	83 . 10 ⁶	7,90
T ₄	154 . 10 ⁶	8,18	118 . 10 ⁶	8,07
T ₆	214 . 10 ⁶	8,33	258 . 10 ⁶	8,41
T ₈	286 . 10 ⁶	8,45	317 . 10 ⁶	8,50
T ₂₄	119 . 10 ⁶	8,07	274 . 10 ⁶	8,43

Tableau II: Détermination des comptes de *Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus* dans le lait écrémé seul

Tableau III: Calcul du taux d'accroissement, du temps de génération (G) et du taux de croissance (μ) de *Sc. thermophilus* et de *Lb. bulgaricus* dans le lait écrémé seul

Souches	Taux d'accroissement (%)	Temps de génération (G)	Taux de croissance (μ)
<i>Lb. bulgaricus</i>	92,87	2h 24 mn	0,41 division/h
<i>Sc. thermophilus</i>	73,97	3h 42 mn	0,27 division/h

Au niveau du tableau IV les résultats du suivi de la croissance dans le lait écrémé enrichi en spiruline en déterminant le nombre des UFC/mL sont rassemblés.

souches	<i>Sc. thermophilus</i>		<i>Lb. bulgaricus</i>	
Temps(h)	UFC/mL	Log UFC/mL	UFC/mL	Log UFC/mL
T ₀	55 . 10 ⁶	7,74	38 . 10 ⁶	7,57
T ₂	114 . 10 ⁶	8,05	73 . 10 ⁶	7,86
T ₄	169 . 10 ⁶	8,22	135 . 10 ⁶	8,13
T ₆	230 . 10 ⁶	8,36	273 . 10 ⁶	8,43
T ₈	341 . 10 ⁶	8,53	368 . 10 ⁶	8,56
T ₂₄	226 . 10 ⁶	8,35	341 . 10 ⁶	8,53

Tableau IV: Détermination des comptes de *Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus* dans le lait écrémé enrichi en spiruline

Au niveau du tableau V les calculs du taux d'accroissement, du temps de génération (G) et du taux de croissance (μ) de *Sc. thermophilus* et de *Lb. bulgaricus* dans le lait écrémé enrichi sont placés.

Tableau V: Calcul du taux d'accroissement, du temps de génération (G) et du taux de croissance de *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* dans le lait écrémé enrichi

Souches	Taux d'accroissement (%)	Temps de génération (G)	Taux de croissance (μ)
<i>Lb. bulgaricus</i>	89,25	2h 25mn	0,41 division/h
<i>Sc. thermophilus</i>	79,87	3h 02mn	0,33 division/h

3.1.2. Suivi du pH

Au niveau des tableaux VI et VII les résultats du pouvoir acidifiant (pH) de *Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus* dans le lait écrémé seul et enrichi durant la fermentation toutes les 90 min durant 8h et après 24h de fermentation sont représentés.

Tableau VI: Résultats du pH du lait écrémé seul ensemencé avec *Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus*

Echantillons Temps (h)	pH dans le lait écrémé seul		Moyennes
	Essai 1	Essai 2	
T0	5,90	5,70	5,80
T2	5,80	5,60	5,70
T4	5,60	5,30	5,45
T6	5,30	5,10	5,20
T8	5,20	4,80	5,00
T24	4,60	4,50	4,55

Echantillons Temps (h)	pH dans le lait écrémé enrichi		Moyennes
	Essai 1	Essai 2	
T ₀	5,80	5,60	5,70
T ₂	5,53	5,40	5,46
T ₄	5,21	5,11	5,16
T ₆	4,97	5,00	4,98
T ₈	4,96	4,80	4,88
T ₂₄	4,42	4,21	4,31

Tableau VII: Résultats du pH du lait écrémé enrichi ensemencé avec *Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus*

Le calcul de la variation du pH et de la vitesse d'acidification dans le lait écrémé seul et enrichi est placé au niveau du tableau VIII:

Tableau VIII: Calcul de la variation du pH et de la vitesse d'acidification dans le lait écrémé seul et enrichi

	Variation du pH (Δ pH)	Vitesse d'acidification (U pH/mn)
Lait écrémé seul	0,80	$1,6 \cdot 10^{-3}$
Lait écrémé enrichi à la spiruline	0,82	$1,7 \cdot 10^{-3}$

La fabrication du yaourt repose sur les interactions prenant place entre deux espèces de bactéries lactiques: *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* (Tammine *et al.*, 1999).

Souvent, l'association entre ces deux espèces est appelée proto-coopération car elle est bénéfique mais pas indispensable à la croissance de chaque espèce dans le lait (Tammine *et al.*, 1999).

Plus précisément, *Lb. bulgaricus* présente une activité protéolytique plus élevée que celle de *Sc. thermophilus*, qui lui permet de libérer des acides aminés comme la valine, l'histidine, la glycine, la leucine, l'isoleucine, la méthionine et des dipeptides qui stimulent la croissance de *Sc. thermophilus* (Courtin et Rul, 2004).

Sc. thermophilus stimule la croissance de *Lb. bulgaricus* par la production de certains métabolites comme l'acide formique, le CO₂, l'acide pyruvique et l'acide folique. La production d'acide formique par *Sc. thermophilus* dépend de la souche, du milieu de culture et de la température (Veringa *et al.*, 1968; Perez et De Antoni, 1991). Les résultats que nous avons obtenus au cours de notre expérimentation révèlent une meilleure croissance de *Sc. thermophilus* dans le lait écrémé enrichi en spiruline que dans le lait écrémé seul. Ce qui n'est pas le cas pour *Lb. bulgaricus* pour lequel la croissance est restée constante dans les deux milieux.

Cas de *Sc. thermophilus*

Le temps de génération de *Sc. thermophilus* dans le lait écrémé seul est de 3h 42 mn et de 3h 02 mn lorsque le lait est enrichi en spiruline, soit une différence de 40 mn.

Le taux de croissance est égal à 0,27 division/h lorsque *Sc. thermophilus*

est cultivé dans le lait seul alors que ce taux passe à 0,33 division/h lorsque la souche est cultivée dans le lait enrichi.

La cinétique de la croissance de *Sc. thermophilus* dans le lait seul évolue de $63 \cdot 10^6$ UFC/mL à $286 \cdot 10^6$ UFC/mL soit un accroissement de 73,97 %. Par ailleurs, on constate une croissance de cette espèce cultivée dans le lait écrémé enrichi de $55 \cdot 10^3$ UFC/mL à $341 \cdot 10^3$ UFC/mL soit un accroissement de 79,87%.

Cas de *Lb. bulgaricus*

Il est à remarquer pour cette souche que les temps de génération (2h 24mn; 2h 25 mn), les taux de croissance (0,41 division/h; 0,41 divisions/h) et les taux d'accroissement (92,87% ; 89,25%) sont pratiquement constants lorsque *Lb. bulgaricus* est cultivé respectivement dans le lait écrémé seul ou enrichi. Ces résultats montrent que la spiruline n'a pas eu d'influence sur la croissance de *Lb. bulgaricus*.

L'une des hypothèses qui expliquerait ce phénomène est que *Lb. bulgaricus* n'est pas parvenu à assimiler les protéines de la spiruline, et ce pour des raisons multiples:

- Soit *Lb. bulgaricus* ne dispose pas d'équipement enzymatique nécessaire pour l'assimilation des protéines de la spiruline,
- Soit que la spiruline contient une ou plusieurs substances dans sa composition, qui tendent à freiner le développement de *Lb. bulgaricus*.

Il existe en effet plusieurs paramètres qui influent sur l'estimation des propriétés acidifiantes et sur la croissance des bactéries, telles que la température et la concentration en substrats et en produits qui agissent

le plus sur la phase exponentielle des bactéries lactiques (Accolas *et al.*, 1977). Les caractéristiques de l'inoculum, l'activité de l'eau, l'osmolarité, les concentrations en oxygène et en substances inhibitrices du milieu sont aussi des facteurs importants influant sur le pouvoir acidifiant et la cinétique de la croissance (Bassit *et al.*, 1994).

Les résultats du pH du Lait écrémé (seul ou enrichi) ensemencé avec *Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus* suivis toutes les 90 min pendant 8 h et après 24 h de fermentation sont résumés dans les tableaux IX, X et XI et dans la figure 2.

D'après ces résultats le pH du lait seul ensemencé avec *Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus* pris comme témoin n'atteint la valeur 5 qu'après 8 h d'incubation tandis que cette valeur est presque atteinte (4,98) seulement après 6 h d'incubation lorsque les deux souches se retrouvent dans le lait enrichi en spiruline, d'où l'intérêt d'enrichir le lait avec la spiruline en vue d'optimiser le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques.

Par ailleurs le calcul de la vitesse d'acidification donne une valeur de $1,6 \cdot 10^{-3}$ U pH/mn des souches dans le lait écrémé seul alors qu'elle est de $1,7 \cdot 10^{-3}$ U pH/mn dans le lait écrémé enrichi. Cette plus grande acidification dans le lait écrémé enrichi est en grande partie l'œuvre de *Sc. thermophilus* dont l'activité métabolique sur le lactose du lait s'est montrée plus importante.

3.2. Etude statistique

Pour mieux interpréter nos résultats, une étude statistique a été réalisée concernant l'évolution de la cinétique de croissance de *Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus*, puis l'évolution du pH. Pour cela nous avons utilisé le logiciel Statist ITFC (Tableaux IX et X).

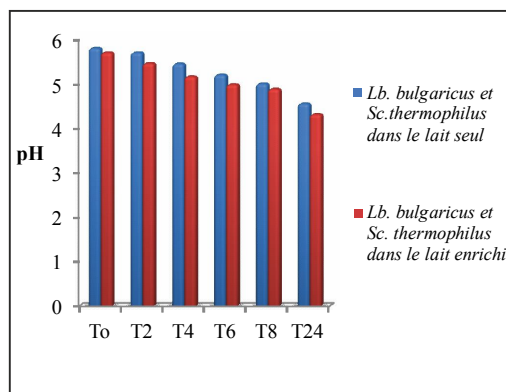


Fig. 2: Evolution du pH du lait écrémé (seul et enrichi) ensemencé avec *Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus*

Tableau IX: Analyse statistique de la cinétique de la croissance de *Lb. bulgaricus* dans le lait écrémé seul et enrichi

Sources de variabilités	F _{obs}	F _{th}	P	E.T	CV
Var. totale					
Var facteur1	79,6	5,05	0,0004		
Var.facteur2	4,24	6,61	0,0932		
Var. résiduelle				20,46	10,6 %

Facteur 1: temps

Facteur 2: milieu (lait seul et lait enrichi en spiruline)

La valeur de F_{th} lue sur le tableau de Fischer – Snédecor (annexe) montre que F_{obs} (79,6) > F_{th} (5,05), donc le facteur temps (T0, T2, T4, T6, T8 et T24) a un effet sur la cinétique de croissance de *Lb. bulgaricus*. En outre la probabilité du facteur temps

est de Prob = 0,0004 < 0,05, donc l'effet de ce facteur sur la croissance de *Lb. bulgaricus* est hautement significatif.

Le F_{obs} du facteur milieu (F_{obs} = 4,24) est inférieur au F_{th} (6,61), donc le facteur milieu n'a pas eu d'effet sur la

croissance de la souche *Lb. bulgaricus*. De plus, sa probabilité est de Prob = 0,0932 > 0,05, c'est-à-dire que l'effet du milieu est non significatif sur la croissance de *Lb. bulgaricus*.

Tableau X: Analyse statistique de la croissance de *Sc. thermophilus* dans le lait écrémé seul et enrichi.

Source de variabilité	F _{obs}	F _{th}	Prob	E.T.	C.V.
Var. totale					
Var. facteur1	15,81	5,05	0,0057		
Var. facteur2	9,75	6,61	0,1567		
Var. résiduelle				31,17	17,9 %

La valeur de F_{obs} (15,81) du facteur 1 est supérieure au F_{th} (5,05); ce qui signifie que le facteur temps a un effet sur la croissance de *Sc. thermophilus*. La probabilité du facteur temps est de Prob=0,0057 < 0,05; l'effet de ce facteur est donc

significatif sur la croissance de *Sc. thermophilus*.

Le F_{obs} du milieu (F_{obs}=9,75) est supérieur au F_{th} (6,61); le facteur milieu a donc un effet sur la croissance de *Sc. thermophilus*. On observe cependant que sa

probabilité Prob=0,1567 est supérieure à 0,05, ce qui signifie que l'effet du facteur milieu est non significatif sur la croissance de *Sc. thermophilus* (Tableau XI).

Source de variabilité	F _{obs}	F _{th}	P	E.T.	C.V.
Var. totale					
Var. facteur1	160,77	5,05	0,0001		
Var. facteur2	43,45	6,61	0,0016		
Var. résiduelle				0,05	1 %

Le tableau X indique clairement que les facteurs 1 (temps) et 2 (milieu), ont eu un effet sur le pouvoir acidifiant des souches. En effet, nous observons que pour le facteur 1, $F_{obs}(160,77) > F_{th}(5,05)$ et pour le facteur 2, $F_{obs}(43,45) > F_{th}(6,61)$. Les probabilités des deux facteurs (1 et 2) sont respectivement de 0,0001 et de 0,0016, donc ces facteurs ont un effet significatif sur le pouvoir acidifiant des souches.

On peut conclure que l'addition de la spiruline dans le lait peut optimiser le paramètre technologique "pouvoir acidifiant" des deux souches classiques du yaourt ce qui permettrait d'obtenir une coagulation rapide du lait et donc un gain de temps important et précieux.

4. Conclusion et perspectives

Dans le cadre de notre étude, deux souches de bactéries lactiques (*Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus*) ont été isolées à partir d'une capsule pharmaceutique contenant quelques espèces bactériennes.

Après le contrôle de la pureté des souches, ces deux bactéries ont été cultivées sur le lait écrémé seul et enrichi en spiruline pour l'étude de deux paramètres technologiques soit le pouvoir acidifiant et la cinétique de la croissance. Nous avons constaté qu'au cours de notre expérimentation, la présence de spiruline à raison de 0,5 % (5 mL/Litre de lait) dans le milieu a favorisé une croissance relativement bonne de *Sc. thermophilus* relativement bonne dans le lait enrichi par rapport au lait seul. Ce qui n'est pas le cas pour *Lb. bulgaricus* dont la croissance est constante dans les deux milieux. Cependant, nous avons observé une

meilleure évolution du pouvoir acidifiant dans le lait enrichi en spiruline. Cet abaissement du pH est dû à l'activité conjointe de ces deux bactéries mais en particulier de *Sc. thermophilus* dont la croissance a été stimulée par la spiruline. Ces résultats sont confirmés par les analyses statistiques.

Au terme de notre expérience nous pouvons avancer que la spiruline a eu un effet probant sur le pouvoir acidifiant des deux souches lactiques. Une optimisation de la croissance de *Sc. thermophilus* est obtenue lorsque le lait est enrichi avec la spiruline. Néanmoins, nous devons émettre des réserves en ce qui concerne la croissance de *Lb. bulgaricus* compte tenu de la complexité existant entre les interactions bactériennes (positives ou négatives). Cette étude, un tant soit peu exhaustive, mérite d'être approfondie en tenant compte d'autres paramètres.

En perspectives, il serait intéressant de suivre la croissance d'autres souches lactiques en particulier *Lb. bulgaricus* du ferment lyophilisé du yaourt ou autres souches autochtones dans le lait additionné de spiruline, étudier l'effet de la spiruline sur les comptes des bactéries lactiques au cours du stockage et de la conservation, ainsi que la recherche de l'activité antimicrobienne de la spiruline vis-à-vis des germes pathogènes.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Accolas J. P., Bloquel R., Didienne R. et Régner J. 1977 - Propriétés acidifiantes des bactéries lactiques thermophiles en relation avec la fabrication du yoghourt. *Lait*, 57: 1 – 23.

Tableau XI: Analyse statistique de l'évolution du pH dans le lait écrémé seul et enrichi

Bassit N., Latrille E., Boquien C. Y., Pique D. et Corrieu G. 1994 - Effet combiné de l'oxygène et de la température sur l'acidification et les productions de diacétyle et d'acétoïne par *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. *Lait*, 74: 115 - 126.

Ciferri O. 1983 - Spirulina, the edible microorganism. *Microbiol. Rev.*, 47, 4: 551 - 578.

Courtin P. and Rul F. 2004 – Interactions between microorganisms in a simple ecosystem: yoghurt bacteria as a study model. *Lait*, 84: 125 - 134.

Delpuech F., Joseph A. et Cavalier C. 1975 – Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (*Oscillatoria platensis*) chez quelques populations du Kanem (Tchad). *Ann. Nutr. Aliment*, 29: 497 - 515.

Farrar W. V. 1966 – Tecuitlatl; a glimpse of Aztec food technology. *Nature*, 211: 341 - 342.

Léonard J. 1966 – The 1964-65 Belgian Trans-saharan Expedition, *Nature*, 209: 126 - 128.

Perez P. F. and De Antoni G. L. 1991 – Formate production by *Streptococcus thermophilus* cultures. *J. Dairy Sci.*, 74, (9): 2850 - 2854.

Sorto M. 2003 – Utilisation et consommation de la spiruline au Tchad. 2^{ème} Atelier International Food-based approaches for a healthy nutrition, 23-28/11/2003 Ouagadougou.

Tamine A. Y., Tamine A. Y. and Robinson R. K. 1999 – Yoghurt. *Science and technology*, Woodhead publishing limited, Crc Press, Cambridge, 640 p.

Veringa H. A., Galesloot T. E. and Davelaar H. 1968 – Symbiosis in yoghurt (II). Isolation and identification of a growth factor for *Lactobacillus bulgaricus* produced by *Streptococcus thermophilus*. *Neth milk Dairy J.* 22: 114 - 120.