

COUSCOUS SANS GLUTEN INCORPORÉ DE SPIRULINE : CARACTÉRISATION BIOCHIMIQUE ET NUTRITIONNELLE.

REBZANI Ferayale^{1*}, DOUMANDJI Amel², FERROUGA Saida³ et ALILI Dahmane⁴

¹. Laboratoire de Biotechnologie des Productions végétales. Département de l'agroalimentaire, Université de Blida 1 (Algérie).

². Département agroalimentaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida 1 (Algérie).

³. Institut national spécialisé dans la formation professionnelle en Industrie Agroalimentaire I.A.A.Blida (Algérie).

⁴ Département des sciences agronomiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des sciences de la Terre et de l'univers, Université Bachir El Ibrahimy de Bordj Bou-Arréridj, (Algérie).

Reçu 15/05/2020, Révisé le 25/12/2020, Accepté le 31/12/2020

Résumé

Description : Cette étude représente un essai de fabrication d'un couscous destiné aux malades cœliaques à partir d'une formulation à base de riz et de pois chiche en substitution à la semoule de blé dur et enrichi par la spiruline (1 et 0,5%).

Objectifs : L'objectif de cette présente étude est la mise au point d'un couscous diététique à base de semoule de riz enrichi par le pois chiche et la spiruline tout en évaluant leurs qualités physicochimique et nutritionnelle.

Méthodes : La formulation du couscous a été basée sur le respect de la complémentarité entre céréale et légumineuse. Le dosage de l'humidité, les cendres, les lipides libres, les protéines, l'amidon et les sucres totaux, La granulométrie, la masse volumique, et l'appréciation de rendement en couscous ont été réalisés

Résultats : Cette complémentarité et l'enrichissement ont eu un effet significatif ($p < 0,05$) et très positif sur la composition biochimique, cependant cette incorporation n'a pas été significative les paramètres physiques étudiés ($p > 0,05$).

Conclusion : l'introduction et l'association de la Spiruline et de pois chiche dans le couscous à base de riz pour malades cœliaque a été une pratique satisfaisante et encourageante. Ce qui permet d'orienter l'enrichissement avec d'autres légumineuses (fève et pois).

Mots clés: Semoule de riz, semoule de pois chiche, spiruline, couscous sans gluten.

GLUTEN-FREE COUSCOUS INCORPORATED WITH SPIRULINA: BIOCHEMICAL AND NUTRITIONAL CHARACTERIZATION

Abstract

Description : This study represents an attempt to manufacture couscous for celiac patients from a formulation based on rice and chickpea as a substitute for durum wheat semolina and enriched by spirulina.

Objectives: The objective of this work was the development of a dietary couscous made of semolina of rice enriched with inc Chickpea and spirulina while evaluating their physicochemical and nutritional characteristics.

Methods: The formulation of couscous relied on the respect of the complementarity between cereal and legume. humidity, cinder free lipids, proteins, starch and total sugars, the particle size, the density and yield in couscous were all investigated.

Results: This complementarity and enrichment had a significant ($p < 0.05$) and a very positive effect on the biochemical composition, however; this incorporation was not significant on the different physical parameters studied ($p > 0.05$).

Conclusion: The introduction and association of Spirulina and chickpea in rice couscous for celiac patients have been a satisfying and encouraging practice which could therefore, enable future enrichment with other legumes particularly, beans and peas.

Keywords: semolina of rice, semolina of chickpea, spirulina, gluten-free couscous.

*Auteur correspondant : REBZANI Ferayale, E-mail : rebzanifer77@gmail.com

INTRODUCTION

La maladie cœliaque également appelée sprue est une entéropathie inflammatoire chronique auto-chronique auto-immune provoqué par un antigène alimentaire la gliadine du gluten chez des sujets génétiquement prédisposés [1; 2]. C'est une pathologie qui atteint la muqueuse intestinale, les symptômes peuvent être : diarrhée chronique, hypotrophie, perte de poids, vomissement etc [2]. Cette maladie est très fréquente en Afrique du nord étant donné que l'alimentation de base de la population de cette région est le blé riche en gluten. Il est connu que le seul traitement possible est l'éviction stricte et totale du gluten du régime alimentaire [3]. Ce régime strict d'éviction pose évidemment d'importants problèmes quotidiens pour les malades et leurs familles puisque semoule et farine de blé et donc gluten sont présents dans la plupart des produits alimentaires de consommation courante. Boukezoula et Zidoune [4], rapportent que 99% des patients cœliaques n'arrivent pas à appliquer rigoureusement leur régime à cause de plusieurs difficultés notamment le prix élevé, la non palatabilité et la non disponibilité des produits sans gluten sur le marché algérien. En effet ; les produits alimentaires importés pour cette tranche de population ne sont pas à la portée de tous et ne subviennent pas à la demande. La majorité des aliments souhaités par les malades sont notamment des aliments traditionnels locaux, non disponibles sur le marché ou trop chers [5]. Parmi ces aliments vient le couscous un plat incontournable dans la gastronomie algérienne [6]. Pâtes fabriquées à partir de blé, donc riches en gluten. Il existe par contre d'autres céréales tolérées dans ce type de régimes, tel que le riz blanc, utilisé pour préparer du couscous destiné aux malades atteints de la maladie cœliaque, il contient moins de protéines, de vitamines, des minéraux et de fibres et plus d'amidon. La céréale ayant une valeur nutritionnelle amoindrie, le couscous obtenu est considéré comme plat déficient et moins équilibré surtout en acides aminés essentiels principalement la lysine.

La supplémentation peut être apportée par des légumineuses largement utilisées depuis toujours par les populations car riches en lysine et en fibres [7; 8; 9], ou même par la spiruline; cyanobactérie filamenteuse microscopique ressource alimentaire non conventionnelle; Particulièrement riche en protéines (60-70% du PS), vitamines (B12), provitamines A (β -carotène), acides aminés essentiels, minéraux et acides gras essentiels (acide γ -linoléique) [10 ; 11]. Ces propriétés sont très appréciables dans le cadre de l'enrichissement du régime alimentaire. Dans cette optique, cette étude se fixe pour objectif la formulation et la caractérisation d'un couscous anti sprue à base de riz enrichi par l'incorporation de pois chiche et de la spiruline afin d'offrir une alternative et un choix dans la gamme de produits pour les malades cœliaques.

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

-*Le riz* : Le riz utilisé est un riz blanc de maque SUP (Fig. 1.1). Les grains sélectionnés de l'échantillon pour essai ne sont pas immatures ou mal formés et sans aucune partie brisée. Ses caractéristiques dimensionnelles (La mesure de dimensions des grains de riz et de pois chiche, a été réalisé par un instrument de mesure, pied à coulisse de marque ROCKY) mesurées sur cinq petits lots de 10 grains pris au hasard sont : une longueur moyenne $7,05 \pm 0,2$ mm et un diamètre moyen $2,28 \pm 0,05$ mm. Le rapport entre la longueur et le diamètre est supérieur à 3 permet de classer notre échantillon comme étant riz long selon FAO [12].

-*Pois chiche* : *Cicer arietinum*, est une récolte de la région de l'est de l'Algérie (Constantine) fourni par L'OAIC de Blida Appartient à la variété FLIP-90-13C G1 (Fig. 1.1). Il présente une forme anguleuse et une couleur beige. D'après les résultats de caractérisation de dimension le pois chiche utilisé est de diamètre moyen : $8,0 \pm 0,6$ mm,

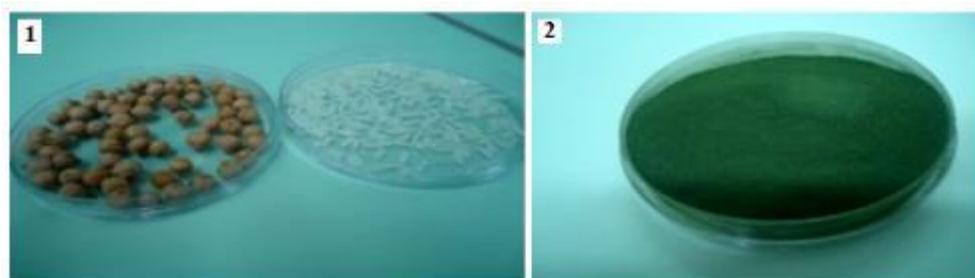


Figure 1 Echantillons des matières première utilisées (photographie originale).

1: Pois chiche et riz 2: Spiruline en poudre

2. Micro-organisme.

La spiruline sous forme de poudre d'origine tunisienne *Spirulina maxima* (Fig. 1.2) dont la composition est résumée dans le tableau 1

Tableau 1 : composition biochimique de la spiruline (Ferme marine *Ksour Essaf .Tunisie*).Selon l'emballage.

Eau%	Glucide %	Protéine %	Lipide %	Vitamines	Minéraux majeurs
5	5	65	10	B1,B2,B3,B4,B5,B6,B8,B9,B12,E	Ca, P, Mg, Mn, Zn, Fe.
Autres : Antioxydants; bêta-carotène ,phycocianine, chlorophylle A, superoxydedismutase.					

3. Méthodes

La présente étude a été réalisée au niveau des laboratoires de contrôle de la qualité de l'Institut National Spécialisé dans la Formation Professionnelle -Industrie Agro-alimentaire - Sidi Abdel Kader Blida. Également certaines analyses étaient faites au niveau de laboratoire des analyses physicochimique de la semoulerie industrielle de Mitidja "SIM"(granulométrie), et chez L'office National des Aliments de Bétail-Alger "ONB"(dosage de l'amidon et les sucres totaux).

-Préparation des matières premières pour la fabrication du couscous : Le matériel végétal a fait l'objet d'un triage manuel dont le but est d'éliminer les grains endommagés et les corps étrangers suivi d'un broyage à l'aide d'un broyeur électrique de laboratoire à grain, en suite un tamisage à travers un plansichter de laboratoire puis classification du broyat selon une granulométrie d'une semoule grosse, moyenne (250 à 950 µm) (Fig. 2.1. et 2.2).

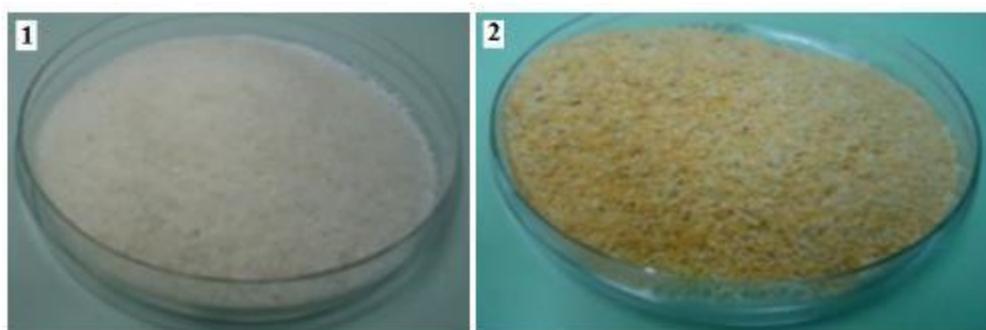


Figure 2: Semoule de riz et semoule de pois chiche

1: Semoule de riz , 2 : Semoule de pois chiche

-Formules du couscous : Six formules (Fig. 3), ont été réalisées basées sur la complémentarité avec des mélanges à sec: 2/3 de semoule riz plus 1/3 de semoule de pois chiche en rapports massiques [8 ; 9] d'une part et d'autre part incorporées de la spiruline sèche réduit en poudre à des doses de 1et 0,5% : (i) Couscous de semoule de riz (CR) (ii) Couscous de semoule de riz et de pois chiche (CR/PC), (iii)

Couscous de semoule de riz enrichi à la spiruline à 1% (CR/Sp 1%), (iv) Couscous de semoule de riz enrichi à la spiruline à 0,5% (CR/Sp 0,5%), (v) Couscous de semoule de riz et de pois chiche enrichi à la spiruline à 1% (CR/PC/Sp 1%), (vi) Couscous de semoule de riz et de pois chiche enrichi à la spiruline à 0,5% (CR/PC/Sp 0,5%)



Figure 3 : Différents types de couscous humide

-Fabrication du couscous : Le couscous artisanal a été fabriqué selon un protocole traditionnel courant dans la région de Blida en respectant les doses (1500 g de semoule grosse moyenne, et 1,5 L d’eau salée à 7 g /L) et dont le diagramme est présenté dans la Figure 4.

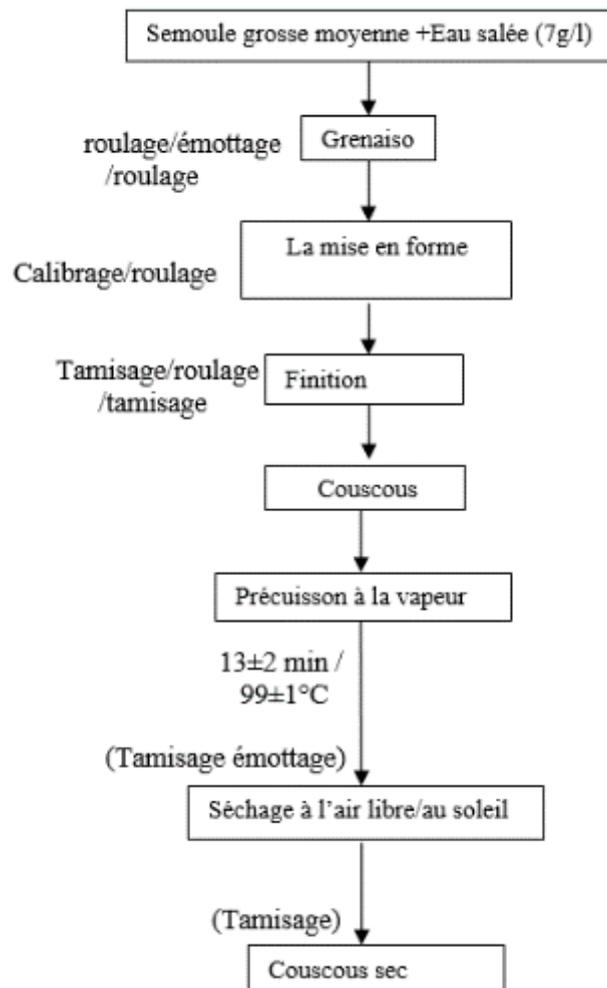


Figure 4 : Diagramme traditionnel adopté pour le couscous

4. Caractérisation physicochimique des matières premières et produits finis

- *Granulométrie* : Elle est déterminée par tamisage à l'aide d'un plansichter : une batterie de cinq tamis standardisés dont les ouvertures de mailles sont : 950 μ m ; 730 μ m ; 614 μ m ; 554 μ m ; 225 μ m. Le refus de chaque tamis est pesé et permet d'exprimer sa proportion en pourcentage massique du produit à caractériser.

- *Taux d'humidité (NF V 03-707) [13]* : Elle est déterminée par dessiccation dans une étuve avec circulation d'air à une température de 130-133°C jusqu'au poids constant L'humidité (H) est donnée par la formule suivante : $H\% = 100 \times \frac{(M_0 - M_1)}{M_0}$, M₀ : masse en gramme de la prise d'essai avant séchage, M₁ : masse en gramme de la prise d'essai après séchage

- *Dosage des cendres* : Le principe repose sur l'incinération du produit dans une atmosphère oxydée à 900°C pour la semoule et les produits de mouture du riz (NF V 03-720) [13] ou à 550°C pour les produits de mouture des légumes secs (NF V 03-760) [13] jusqu'à combustion complète de la matière organique. La teneur en cendres est déterminée par la pesée du résidu. Le pourcentage de cendres par rapport à la matière sèche (C) est calculé par la formule : $C\% = M_1 \times \frac{100}{M_0} \times \frac{100}{100-H}$, C: teneur en cendre, M₁: masse de résidu en gramme, M₀: masse de la prise d'essai en gramme, H: teneur en eau de l'échantillon en pourcentage.

- *Dosage des protéines (NF V 03-050) [13]* : Le principe de cette méthode, tirée de la méthode de Kjeldahl, est basé sur une minéralisation de l'échantillon suivie d'une distillation et d'un titrage de l'ammoniac. La teneur en protéines se calcule à partir de la teneur en azote par l'intermédiaire d'un facteur de conversion. La teneur en protéines (P) est approchée en multipliant la teneur en azote par un facteur de conversion K= 6,25. Le résultat exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche est donné par la formule : $P = K \times NT \times \frac{100}{(100-H)}$, H : teneur en eau de l'échantillon en pour-cent de l'échantillon humide., NT : teneur en azote total exprimée en g/100g (NT=V/M x 0,0014 x 100)

- *Dosage des lipides libres (NF V 03-905) [13]* : La teneur en lipides libres est déterminée grâce à un extracteur Soxhlet. Il s'agit d'extraire les lipides libres par un solvant organique (Hexane). Suivi d'une évaporation du solvant, puis la matière grasse est pesée [19].

Le taux des lipides est exprimé en pourcentage en masse de matière sèche du produit, selon la formule suivante : $\% \text{ lipides} = ((M_1 - M_0) \times 100) / (P_e) \times \frac{100}{(100-H)}$, M₁ : masse en gramme du récipient avec résidu de matière grasse ; M₀ : masse en gramme du récipient vide ; P_e : la masse en gramme de la prise d'essai ; H : teneur en eau de l'échantillon en pour-cent de l'échantillon humide.

- *Dosage de l'amidon: (NFV-03-A603 et Méthode Ewers) [14] la méthode polarimétrique* : Hydrolyse acide de l'échantillon puis lecture directe du pouvoir rotatoire d'une solution d'amidon. La méthode comprend une double détermination par polarimètre ; celle du pouvoir rotatoire total et celle du pouvoir rotatoire des substances solubles dans l'éthanol .on calcule la teneur en amidon de l'échantillon par la différence entre les deux mesure polarimétrique multiplié par un facteur déterminé. La teneur en amidon(A) pour 100g de matièresèche est calculée comme suit : $A = (2000(P - P') \div (\alpha)D_{20}) \times 100 / 100 - H$, P : pouvoir rotatoire totale en degré d'arc ,P' pouvoir rotatoire en degré d'arc donné par les substances soluble dans l'éthanol à 40%, $(\alpha)_{D^{20}}$: pouvoir spécifique de l'amidon pur : +185,9: Amidon de riz, +184,0: Autre type d'amidon, ainsi que mélanges d'amidons des aliments composés

- *Dosage des sucres totaux [15]* : Extraction par l'alcool à 70-80° suivi par Distillation à l'alcool, puis défécation de la solution aqueuse par le Carez I et le Carez II en fin, dosage des sucres par la méthode de Bertrand (KMnO₄)

- *Détermination du rendement* : Le rendement (R) de procédé artisanal de couscous est déterminé par la pesée de couscous sec rapportée au poids de la semoule utilisée.

- *Masse volumique* : Une éprouvette de 100 ml est utilisée pour déterminer le volume occupé par 25 ± 0,01g de couscous sec [16]. La masse volumique de ces échantillons est ensuite exprimée en g/ cm³.

- *Valeur énergétique du couscous* : La valeur énergétique pour chaque échantillon étudié est calculée en utilisant les coefficients d'Atwater et Benedict [17], suivant la formule : Valeur énergétique en Kcal/100g = 4 Kcal.% glucides +4 Kcal .% protéines +9 Kcal. % lipides

5. Analyse statistique

Le logiciel SPSS statistics version 23.0 a été utilisé pour l'analyse de la variance (ANOVA)

à un facteur qui est le taux d'incorporation de spiruline et le taux de pois chiche comme covariable et la significativité des différences entre les moyennes des paramètres étudiés des couscous formulés a été déterminé au risque d'erreur α de l'ordre de 0,05.

RESULTATS

1. Caractérisation physicochimique des matières premières (Semoule de riz et de pois chiche)

1.1. Granulométrie des matières premières

La distribution granulométrique des semoules utilisées dans la formulation des couscous est

représentée dans la figure 5. La différence entre les proportions des fractions de granulométrie des deux semoules employées est négligeable. Le tamis 730 μm enregistre un cumul très important soit $35 \pm 0,171\%$ pour la semoule de pois chiche et $38 \pm 0,182\%$ pour la semoule de riz. Tandis que un taux très faible de particules est observé sur le tamis 950 μm ($5 \pm 0,002\%$ et $4 \pm 0,002\%$ pour les semoules de pois chiche et de riz, respectivement). Un taux moyen de particules de taille de $[620 \mu\text{m} - 250 \mu\text{m}]$ varie entre $17 \pm 0,061\%$ et $20 \pm 0,071\%$.

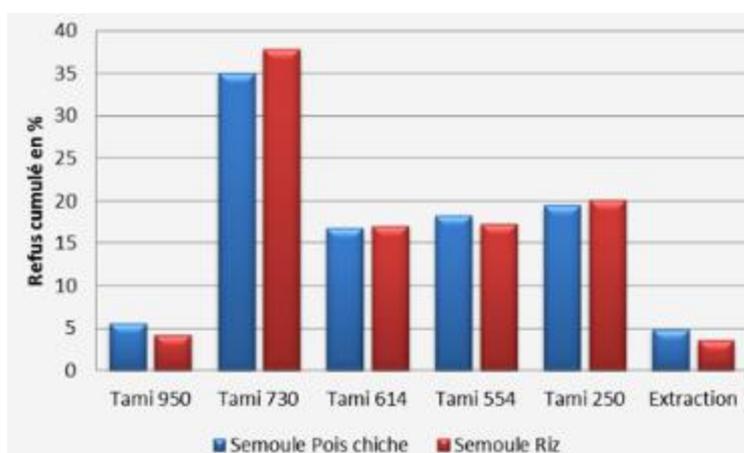


Figure 5: Granulométrie de semoules utilisées dans la fabrication des couscous en pourcentage massique.

1.2. Composition biochimique des matières premières (Semoule de riz et de pois chiche)

Il ressort de l'analyse des données de la caractérisation biochimique des deux semoules utilisées (Fig. 6) que la teneur en amidon de semoule de riz est deux fois supérieure à celle de la semoule de pois chiche, ce qui est similaire

avec les taux des protéines. Par ailleurs, une différence est négligeable exprimée pour les taux des sucres totaux, la matière grasse, les cendres et l'humidité.

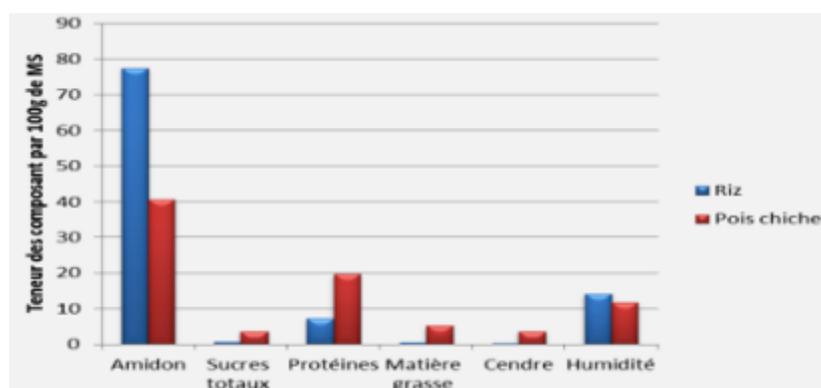


Figure 6: Composition biochimique des matières premières par 100g de matière sèche.

2. Caractérisation physicochimique de différentes formules de couscous

2.1. Granulométrie de différentes formules de couscous

La distribution granulométrique des six couscous élaborés et représenté dans la Figure ci-dessus montre que l'incorporation de la

semoule de pois chiche et de la spiruline n'a pas été significative ($p > 0,05$), (Tableau 4) sur la taille des particules à l'exception de la fraction

de taille supérieure à 1450 μm et celle retenue sur le tamis 950 μm où une variation est constatée révélant que l'ajout de la semoule de pois chiche a eu un effet significatif sur ces deux fractions ($p < 0,05$). Un cumule important de refus est noté sur le tamis le plus gros 1450 μm et de tamis moyen 950 μm (gros et moyen couscous) et avec un taux très faible de

particules de taille [1290 -1450 μm et [614-730 μm]. un taux négligeable de particules [554-614 μm a été obtenue. Concernant les particules à dimension inférieure à 554 μm sont presque nul due à l'opération de tamisage de couscous après séchage par le tamis (500 μm) lors de la fabrication de couscous.

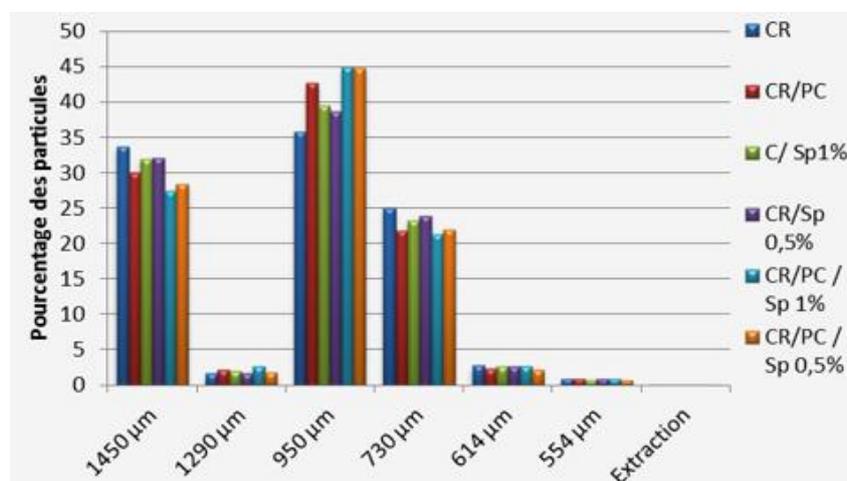


Figure 7: Pourcentage des particules de différentes formules de couscous cumulées en fonction des ouvertures des mailles

2.2. Bilan de rendement

Le rendement exprimé en g de couscous sec / 100g de matières premières est représenté pour l'ensemble de nos couscous dans le Tableau 2. La différence des moyennes de rendement en couscous entre les différentes formules n'est pas significative ($p > 0,05$) (Tableau 4), n'est au moins, le rendement en couscous diminue par l'ajout de spiruline, un écart de 11,33 % est enregistré entre les formules de CR et CR/sp1%, et l'écart est de l'ordre de 15,63% entre CR et

CR/Sp 0,5%. Cependant, l'incorporation de pois chiche augmente le rendement en couscous, qui passe de 88,93% pour la formule CR, à 91,33% pour la formule CR/CP. Ainsi une augmentation de taux de rendement de l'ordre de 7,6% entre CR/Sp1% et CR/CP/Sp1%, et un taux de croisement de rendement de 10,76% pour CR /Sp 0,5% et CR/CP/Sp 0,5%.

Tableau 2: Bilan de fabrication des couscous de différentes formules

	Quantité de semoule(g)	Quantité d'eau (ml/ 100g)	Quantité de couscous sec (g)	Refus g/1,5kg	Rendement (%)
CR	1500	32	1334±0,03	20±0,213	88,93±0,224
CR/PC	1500	30	1370 ±0,01	00	91,33±0,310
CR/ Sp 1%	1500	27,5	1164 ±0,01	16±0,013	77,6 ±0,103
CR/Sp 0,5%	1500	27,5	1099,5±0,04	12±0,024	73,3±0,115
CR/PC / Sp1%	1500	27	1278±0,03	00	85,2 ±0,189
CR/PC/Sp0,5%	1500	26,5	1261,01±0,03	00	84,06±0,203

2.3. La masse volumique

L'incorporation de la semoule de pois chiche et la spiruline n'avait pas affectée la masse volumique de couscous (Fig. 8). Selon les résultats illustrés au niveau du tableau 4 ;

la différence des moyenne de masse volumique entre les six formules de couscous est non significative ($p > 0,05$).

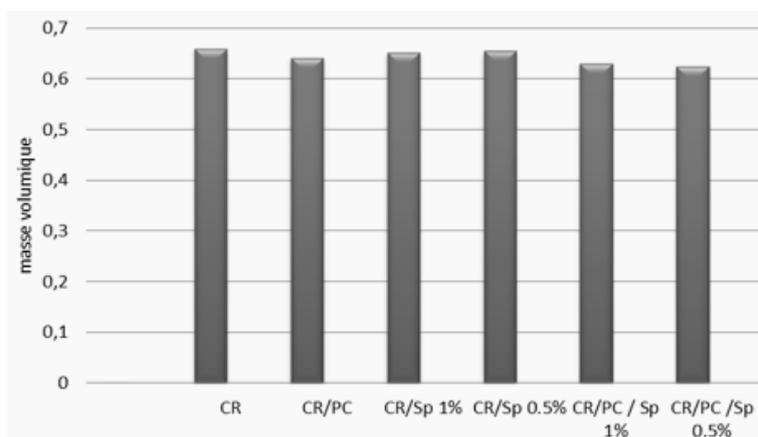


Figure 8: Représentation de la masse volumique de différentes formules de couscous

2.4. Composition biochimique de différentes formules de couscous

L'analyse des résultats obtenus (Fig. 9), montre que la supplémentarité et l'enrichissement de couscous de riz par le pois chiche et la spiruline à un effet très positif sur la composition biochimique de ce dernier. D'après l'étude de la variance (Tableau 3), Il ressort que, l'incorporation de pois chiche est très significative sur l'ensemble des paramètres biochimique évalués ($p < 0,05$) excepté de taux

de l'humidité ($p = 0,554$). Tandis que, la présence de la spiruline dans les formules de couscous a été significative sur l'humidité ($p = 0,028$); les cendres ($p = 0,037$); l'amidon ($p = 0,024$) et les protéines ($p = 0,003$), cependant; les taux de 1% et 0,5% de spiruline ajoutés ne sont pas significatifs sur les glucides simples ($p = 0,125$) et les lipides ($p = 0,269$).

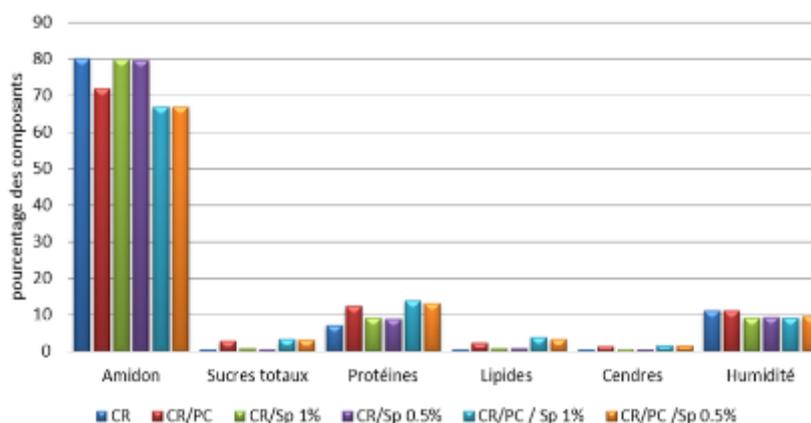


Figure 9: Composition biochimique de différentes formules de couscous pour 100 g de matière sèche.

3. la valeur énergétique du couscous

L'analyse de la variance (Tableau 4) montre que l'enrichissement de couscous de riz par la semoule de pois chiche et la poudre de spiruline est non significatif sur la valeur énergétique ($p > 0,05$). Toutefois, nous notons que les valeurs calculées (Tableau 5) augmentent progressivement en fonction de taux de

spiruline et l'ajout de pois chiche, d'où cette valeur énergétique a passé de $359,01 \pm 0,355$ Kcal (pour le couscous de riz) à $371,83 \pm 1,732$ Kcal (pour le couscous CR/PC) et elle atteint $372,33 \pm 2,428$ Kcal (pour le couscous CR/PC / Sp 1%) comme valeur supérieure.

Tableau 3 : Analyse de la variance des effets d'incorporation de pois chiche et de la spiruline sur des paramètres biochimiques appliquée sur les différentes formules de couscous.

Source	Variable dépendante	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Taux de pois chiche	Humidité	0,101	1	0,101	0,442	0,554
	Cendre	1,127	1	1,127	151,853	0,001
	Glucides	115,984	1	115,984	57,527	0,005
	Amidon	161,305	1	161,305	130,854	0,001
	Lipides	10,481	1	10,481	52,574	0,005
	Protéines	39,578	1	39,578	744,259	0,000
Taux de spiruline	Humidité	3,641	1	3,641	15,855	0,028
	Cendre	0,095	1	0,095	12,859	0,037
	Glucides	9,013	1	9,013	4,471	0,125
	Amidons	21,843	1	21,843	17,720	0,024
	Lipides	0,364	1	0,364	1,826	0,269
	Protéines	3,991	1	3,991	75,041	0,003

ddl :degre de liberte. ; F : variance de fichier. ; Sig. :Signification : $p \leq 0,05$ significative . $p \geq 0,05$ non significative.

Tableau 4 : Analyse de la variance des effets d'incorporation de pois chiche et de la spiruline sur les paramètres physiques appliquée des différentes formules de couscous.

Source	Variable dépendante	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Taux de pois chiche	tamis1450	34,381	1	34,381	30,083	0,032
	tamis1290	9,524	1	9,524	16,667	0,055
	tamis950	69,429	1	69,429	30,375	0,031
	tamis730	0,095	1	0,095	0,333	0,622
	tamis614	0,381	1	0,381	2,667	0,244
	tamis554	0,095	1	0,095	0,333	0,622
	Kcal/100g	55,476	1	55,476	2,737	0,240
	rendement %	7,595	1	7,595	0,312	0,633
	Masse volumique	0,001	1	0,001	7,333	0,114
Taux spiruline	tamis1450	8,381	2	4,190	3,667	0,214
	tamis1290	1,524	2	0,762	1,333	0,429
	tamis950	6,762	2	3,381	1,479	0,403
	tamis730	2,095	2	1,048	3,667	0,214
	tamis614	0,381	2	0,190	1,333	0,429
	tamis554	0,095	2	0,048	0,167	0,857
	Kcal/100g	48,637	2	24,319	1,200	0,455
	rendement %	112,233	2	56,117	2,303	0,303
	Masse volumique	7,619	2	7,619	0,485	0,673

ddl :degre de liberte. ;F : variance de fichier.Sig. :Signification : $p \leq 0,05$ significative . $p \geq 0,05$ non significative.

Tableau 5 : Détermination de la valeur énergétique de différentes formules de couscous

	CR	CR/PC	CR/Sp 1%	CR/Sp 0,5%	CR/PC / Sp1%	CR/PC / Sp 0,5%	
Glucide totaux assimilable (%MS)	80,88±0,01	74,98±0,18	80,91±0,23	80,26±0,35	70,24±0,29	70,08±0,20	
Protéines (%MS)	7,25±0,04	12,5±0,13	9,09±0,18	8,97±0,026	13,95±0,38	13,24±0,24	
Matière grasse (%MS)	0,72±0,03	2,43±0,14	0,85±0,11	0,80±0,19	3,95±0,02	3,33±0,15	
Valeur énergétique	Kcal	359,01±0,35	371,83±1,73	367,66±0,99	364,19±0,54	372,33±2,42	363,32±1,58
	KJ	1503,11±1,48	1556,79±7,25	1539,33±4,16	1524,80±2,30	1558,89±10,16	1521,14±6,61

DISCUSSION

1. Caractérisation des matières premières (Semoule de riz et de pois chiche)

La distribution granulométrique de la semoule est un facteur déterminant du fait qu'elle affecte les propriétés d'absorption des pâtes et par conséquent elle influe sur la qualité du produit fini [18]. Nous notons une granulométrie homogène pour les deux types de semoule utilisée correspondre à la proportion de mélange destiné à l'obtention du couscous (20 à 30% pour la semoule fine et 70 à 80% pour la semoule grosse) citée par le *Codex alimentarius* [19]. La semoule de riz présente un taux d'humidité, conforme aux normes du *Codex Alimentarius* [20] qui donne une limite maximale de 15 %. Pour les protéines la valeur de $7,19 \pm 0,012\%$ se concorde avec la valeur habituellement attribuée à la teneur du riz usiné en protéines (7 %) [21]. La teneur en lipides (0,6%) se concorde avec celle citée par Vierling [22]. La teneur en cendres se situe vers la borne inférieure de l'intervalle 0,3-0,8% cité par Laignelet [23]. Pour l'amidon et les sucres simples les résultats indiquent que l'amidon constitue un élément majeur $77,46 \pm 0,410\%$ valeur qui est très proche de la valeur indiquée par Vierling [22], qui est de 78%, contrairement aux sucres simples qui sont minoritaires, $0,7 \pm 0,001\%$ il s'agit principalement de saccharose d'après Laignelet [23].

La semoule de pois chiche renferme, une teneur en eau de $11,68 \pm 0,062\%$ qui se rapproche de la valeur citée par Boucheham [24] (10,86%) qui a travaillé sur la même variété locale de la région de Constantine. La teneur en protéines de pois chiche utilisé ($19,63 \pm 0,412\%$) est du même ordre de la valeur indiquée par Brink et Belay [25] (19,3 %). Pour les lipides nous notons que le pois chiche est riche en gras $5,29 \pm 0,012\%$ cette valeur s'inscrit dans l'intervalle exprimé par plusieurs travaux (3,5%-6%) [25 ; 26]. Les valeurs de l'amidon et des sucres simples ($40,65 \pm 0,21\%$ et $3,59 \pm 0,002\%$) se rapprochent avec les valeurs données par FAO [12] (55,6% , 5,1 %). Par ailleurs pour les cendres, il ressort que le pois chiche est riche en matière minérale $3,60 \pm 0,012\%$, Cette valeur est comprise dans l'intervalle de la teneur en cendres rapportée dans la bibliographie (2,7-4%) [22 ; 26].

2. Caractérisation de différentes formules de couscous

La granulométrie du couscous et son homogénéité sont considérées parmi les paramètres essentiels qui définissent sa qualité

pour la majorité des consommateurs [27 ; 28]. Ainsi, la granulométrie à un effet évident sur sa qualité culinaire notamment le gain du poids (absorption) et le temps de cuisson [29]. La granulométrie de couscous est comprise entre [630-2000] μm , avec une tolérance de 6 % [19]. La détermination de la granulométrie permis de classer le couscous selon la taille des particules. La taille et l'homogénéité des grains du couscous dépendent pour une large partie aux conditions de roulage (ouvertures des mailles des tamis utilisé) et à la granulométrie de la semoule utilisée. Alors, les résultats obtenus illustrent une régularité de pourcentage des particules à travers les six tamis entre les différentes formules. Par ailleurs, L'addition de la spiruline et de semoule de pois chiche n'a pas affecté vraiment la taille des particules du couscous fini. Cependant, une légère diminution de taux de particules supérieures à $1450\mu\text{m}$ en fonction de taux de l'incorporation de semoule de pois chiche et de la spiruline par rapport au couscous de riz, ce qui signifie une différence d'accumulation de particules entre les six formule et s'explique peut-être par la diminution de formation de gros agglomérés. Tandis que, la fraction cumulée sur le tamis $950\mu\text{m}$ enregistre une augmentation du taux selon l'addition de pois chiche et de spiruline exprimant une différence de taux de grains entre les différentes formules. Le rendement au roulage est corrélé positivement à l'absorption de l'eau par les semoules [30]. Selon Dahoun-Lefkir [31], l'accroissement du taux d'hydratation augmente les rendements en couscous et en grumeaux et diminue les rendements en semoules non agglomérées. D'après les résultats indiqués dans le tableau 2, les rendements en couscous des six formules est corrélé avec le taux d'hydratation, à l'exception des formules de riz sans pois chiche (CR, CR/Sp 1% et CR/Sp 0,5%) où on note un taux d'hydratation légèrement supérieur par rapport aux formules avec pois chiche (CR/PC, CR/PC / Sp1%, CR/PC/Sp0,5%) mais avec un rendement moins important ; cela est dû à la prise en masse constaté avec les formules sans pois chiche lors de l'émottage et calibrage après précuisson de couscous, considérée comme perte. Alors que l'introduction de semoule de pois chiche au riz élimine totalement ce refus de tamis à cette étape car nous avons observé un passage totale de couscous pour les formules incorporé de semoule de pois chiche cela est dû à la richesse de pois chiche en matière grasse et en fibres, Ounane et al. [32] rapportent que la fabrication d'un couscous à partir des semoules

délipidées entraîne d'une part une diminution du rendement en couscous et d'autre part l'augmentation du collant, de la délitescence. Ainsi un taux décroissant de refus est aussi observé lors de l'incorporation de la spiruline ce qui augmente le rendement avec l'ajout de la spiruline, pour nos résultats le rendement élevé obtenue pour le couscous de riz 88,93 % est due au nombre élevé de recyclage de refus adopté par la fabricante pour ce dernier par rapport au couscous CR/Sp1% et CR/Sp0, 5%. Donc la différence de rendement peut être due à différents facteurs à savoir : le taux d'hydratation, le nombre de recyclage du produit passant du tamis, La composition biochimique de la semoule utilisée principalement les lipides. Notons aussi que nos résultats sont supérieurs aux résultats obtenus par Benatallah [33], (60,8%) sur le couscous de riz pois chiche et se rapproche avec celles de semoule de blé (82%) dur cité par le même auteur. Cette différence est probablement due à la granulométrie de la semoule et aux ouvertures des tamis utilisés. La masse volumique exprime une quantité de matière par unité de volume. Elle est influencée par différents facteurs principalement l'importance de l'espace intergranulaire [34] et le degré de compacité des granules de couscous [27]. Les résultats obtenus (Fig. 8), montrent que le couscous de riz présente une masse volumique supérieure ainsi l'ajout de la spiruline et du pois chiche diminue un peu la masse volumique peut être expliqué par la taille des particules de couscous. En général, les résultats de nos échantillons de couscous concordent avec les résultats de Boucheham [24] 0,68 et Benatallah [33] 0,67 pour le couscous de riz pois chiche et légèrement inférieur à la masse volumique de couscous de blé dur (0,75) et (0,77) citée par les mêmes auteurs respectivement, malgré la différence notée concernant les conditions de roulage (précuisson de la semoule avant roulage et l'utilisation de la semoule fine ainsi que l'utilisation de tamis 1250 μ m, alors que nous avons utilisé un tamis de 2000 μ m). D'après les résultats des analyses biochimiques obtenues sur les différentes formules de couscous (Fig. 9), il ressort que le taux de l'humidité varie de 11, 28 \pm 0,01 % à 9,04 \pm 0,015% et sont des valeurs inférieures au seuil limite cité dans le CODEX STAN [19] (13,5%) et la valeur indiquée par Jeantet *et al.* [35] (<12,5%) et ce qui permet une conservation idéale sans risque d'altération si les conditions de stockage (température, humidité) seront respectées.

L'enrichissement par le pois chiche a amélioré la teneur en sucres simples, qui passe de 0,53 \pm 0,015% pour le couscous CR, à 4,08 \pm 0,02% pour le couscous CR/PC. Par contre, l'ajout de la spiruline a augmenté la teneur en amidon ce qui est expliqué par : le pois chiche contient moins d'amidon que le riz alors qu'il est riche en sucre simple (Fig. 9) ainsi pour la spiruline la bibliographie indique la présence des polysaccharides sont présents tel que le méso-inositolphosphate et le spirulan [36 ; 37]. Le riz qui est à la base de la formule proposée présente les plus faibles quantités en protéines (7,25 \pm 0,045%) des formules de couscous étudiés. Concernant le pois chiche est, plus riches en protéines, le rapport 2/1 utilisé dans ce travail et l'incorporation de spiruline à 1%et 0,5% montre une amélioration considérable dans le niveau en protéines des formules en rapport avec la présence de pois chiche et de la spiruline. Ce qui améliore la balance en acides aminés des couscous fabriqués à base de riz. La consommation dans le même repas ou dans la même journée et à des proportions de 30% de protéines de légumineuses et 70% de céréales assure l'équilibre alimentaire [7, 8, 9]. La spiruline est caractérisée par un très fort taux de protéines pouvant atteindre jusqu'à 70 % du poids sec, sur le plan qualitatif, elle offre un éventail complet d'acides aminés dont 47 % sont des acides aminés essentiels [38, 39]. D'après nos résultats, c'est la formule CR/PC / Sp1% qui semble offrir le plus de Protéines avec 13,95 \pm 0,382% ; valeur légèrement supérieure au seuil limite cité par Jeantet *et al.* [35], (\geq 12%) pour le couscous de blé dur. Le taux de cendres s'augmente progressivement avec l'incorporation de pois chiche et la spiruline le CR/PC / Sp1% présente le taux le plus élevée (1,73 \pm 0,05%), valeur supérieure à la valeur citée par Jeantet *et al.* [35] (1,3%) pour le couscous courant de blé dur. Alors on enregistre la valeur la plus faible pour le CR (0,54 \pm 0,043%). Ce probablement en raison de la richesse de pois chiche et de la spiruline en sel minéraux. Les lipides ont un rôle important dans l'appréciation de la qualité du couscous. La production de couscous à partir de semoules délipidées affecte la couleur, diminue le rendement et favorise le collant, la délitescence ainsi que la capacité d'hydratation [40]. Le contenu en lipides est favorisé par l'introduction de la semoule de pois chiche et la spiruline ; il présente une valeur supérieure dans la formule CR/PC/Sp1% (3,95 \pm 0,026%).

A noté, que l'incorporation de la spiruline seul n'améliore pas considérablement le taux de lipides ou on a enregistré des valeurs de : $0,80 \pm 0,196\%$ pour le CR/Sp 0,5% et $0,85 \pm 0,112\%$ pour le CR/Sp 1% et $0,72 \pm 0,034\%$ pour le CR cela s'explique par le faible pourcentage d'incorporation de la spiruline (1% et 0,5%).

3. la valeur énergétique du couscous

Le but de calcul de la valeur énergétique des couscous est de voir l'impact de la supplémentarité de riz par le pois chiche et l'incorporation de la spiruline sur la valeur nutritionnelle. La valeur énergétique de CR ($359,01 \pm 0,355 \text{ kcal}$) (Tableau 03) est légèrement supérieure à celle de la farine de riz (355 kcal) cité par Apfelbaum et Perlemutter *et al.* [41]. Alors que la valeur énergétique augmente pour les autres formules en fonction de l'incorporation de pois chiche et de la spiruline vue leur richesse en lipide et en protéine malgré le taux faible des glucides totaux assimilable pour ces derniers. La valeur énergétique la plus élevée ($372,33 \pm 2,428 \text{ kcal}$) est obtenue Pour le couscous CR/PC / Sp1% ; cette valeur est supérieure à la valeur (344 kcal) cité par Doumandji *et al.* [42], calculée pour le couscous de semoule de blé dure incorporé de la spiruline sèche. Cela indique que la supplémentarité a un effet positif sur la valeur énergétique des produits en question. Le couscous CR/PC/ Sp1% offre plus de nutriment sur le plan quantitatif et même qualitatif selon la composition nutritionnelle détaillé cité par la bibliographie. Selon Roudaut et Lefrancq [26], un riz complètement blanchi contient moins de protéines, de vitamines et des minéraux et plus d'amidon donc possède ainsi une valeur nutritionnelle amoindrie. Alors la supplémentarité de notre couscous de riz blanc par le pois chiche lui offre une complémentarité en en lysine, en vitamine B et même en fibres. En plus la spiruline a été souvent recommandée comme supplément alimentaire en cas de carences en acide aminé, en vitamine principalement le β -carotène, provitamine A en sels minéraux et même en acides gras essentiels. La spiruline contient une teneur exceptionnelle en vitamine B12 (cobalamine) qui est de loin la vitamine la plus difficile à obtenir dans un régime sans viande, car aucun végétal courant n'en contient [43]. Selon Cruchot [44], la supplémentation en spiruline (3 à 5 g par jour de façon continue) permet d'éviter les éventuelles carences liées aux régimes végétariens et végétaliens mal conduits. Riche en fer en zinc,

des minéraux dont manquant souvent les végétariens, ainsi qu'en vitamines du groupe B.

CONCLUSION

L'objectif principal de ce travail porte sur un essai de fabrication d'un couscous anti sprue destiné aux malade cœliaque à partir d'une formulation à base de riz (2/3) et de pois chiche (1/3) en substitution à la semoule de blé dur et afin d'enrichir en plus le couscous et dans la perspective d'incorporation de la spiruline on a jugé utile d'introduire la spiruline à la formulation. L'appréciation de ces derniers se manifeste dans leurs propriétés biochimiques et nutritionnelles. Les résultats montrent que l'incorporation de spiruline et pois chiche a fait preuve de l'enrichissement de la valeur nutritionnelle sur le plan qualitatif et quantitatif ; la formule CR/PC /Sp1% est jugée le produit le plus riche. Ainsi on note une amélioration de la qualité nutritionnelle de couscous de riz avec l'enrichissement en spiruline malgré la faible dose utilisée. A la lumière des résultats obtenus, nous concluons que l'enrichissement du couscous à base de riz destiné aux malades cœliaque par la Spiruline et le pois chiche a été bénéfique et demeure une pratique satisfaisante et encourageante. En guise de perspective, nous envisageons la formulation de couscous de riz avec autre légumineuse (fève, pois) et étudier l'effet de la complémentarité sur la qualité technologique nutritionnelle, culinaire et sensorielle. Ainsi que l'industrialisation du couscous de riz enrichi à la Spiruline et ou pois chiche tout en validant sa qualité nutritionnelle et technologique complétée par des essais et des analyses plus précises (analyse des acides aminées, dosage de vitamine, analyses nutritionnelles après cuissons).

RÉFÉRENCES

BIOBIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. **Tkoub E.M. (2008)**. Maladie cœliaque de l'adulte. Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique *Elsevier Masson* .48 .S27-S31
- [2]. **Mouterde O., Dumant C. et Mallet E. (2011)**. Les manifestations de la maladie cœliaque chez l'enfant. *Patho. Biol. Paris. Elsevier Masson* 61(3).53-55
- [3]. **Malamut G. et Cellier C. (2013)**. Manifestations de la maladie cœliaque de l'adulte. *Patho. Biol. Paris. Elsevier Masson* .61(3). 47-51
- [4]. **Boukezoula F. et Zidoune M. N. (2016)**. Le régime sans gluten en Algérie : observance, difficultés et problèmes d'application chez les malades cœliaques. *Annales des sciences de la santé*. 6(1): 12-20.

- [5]. **Benatallah Le, Zidoune M N, Oulamara H. et Agli A. (2006)**. Formulation et fabrication de couscous à base de riz et de légumes secs pour malades cœliaques. Séminaire d'Animation Régional ' Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments ' INSAT – Tunis, Tunisie / 27 – 28 – 29 novembre 2006.
- [6]. **Derouiche M. (2003)**. Couscous .Enquête de consommation dans l'est algérien, fabrication traditionnelle et qualité. Thèse de Magister. INATAA. Université de Constantine.125 p.
- [7]. **Fortin J. (1996)**. L'Encyclopédie visuelle des aliments : International Collectif Québec Amérique 686 p
- [8]. **Houde K. (2008)**. Cahier de nutrithérapie : Les oléo-protéagineux, Institut de santé naturelle Fleury-Rodet. 102 p.
- [9]. **Baudat N. (2008)**. Petit précis de nutrition, Edition Wolters Kluwer France.312 p
- [10]. **Belay A. (2002)**. The potential application of *Spirulina (Arthrospira)* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *The Journal of the American Nutraceutical and nutrition.*, 2(5):26-49 p.
- [11]. **Serban M-C and al (2015)**.systematicreview and meta-analysis of the impact of *Spirulina* supplementation on plasma lipid concentrations. *Clinical Nutrition* 35(4):842-851p
- [12]. **FAO (1996)**.Céréales, légumes secs légumineuses, produits dérivés et protéines végétales FAO. Vol 7. 2^{ème} édition Rome.164 p.
- [13]. **AFNOR. NF V (1991)**.Recueil de normes- contrôle de la qualité des produits alimentaires céréales et protéagineux et produits céréaliers AFNOR/DGCCRF. 3^{ème} édition. Paris. 360 p.
- [14]. **NFV-03-A603**. Recueil de normes :Amidon-fécule dosage de l'amidon –Méthode polarimétrique de Ewers
- [15]. **Godon B. et Loisel W. (1997)**. Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales. Lavoisier Tec et Doc. Paris.813 p.
- [16]. **Mezroua L.Y. (2011)**. Etude de La qualité culinaire de quelques couscous Industriels et artisanaux et effet d'adjonction de la matière grasse durant la cuisson .thèse de magister Université Mentouri Constantine, Algérie. 107pages.
- [17]. **Atwater W.O. and Benedict F.G. (1899)**. Experiments of the metabolism of matter and energy in the human body .US. Departement of Agriculture Washington, Dc, Bulletin 69, 112p.
- [18].**Dick et Matsuo. (1988)**. Durum wheat and pasta products, pp: 507-547. In « Wheat Chemistry and Technology ». Ed. AACC. St. Paul Minnesota. USA.
- [19]. **Codex alimentarius. Norme codex 202-1995**.Norme codex pour le couscous. P: 1-3.
- [20]. **Codex alimentarius codex standard 198-1995** : Norme codex pour le riz 7page
- [21]. **FAO, 1990** .:Utilisation des aliments tropicaux : Légumineuses tropicales. FAO. Alimentation et Nutrition. 47/4. Rome.76p.
- [22]. **Vierling E. (2008)**. Aliments et boissons «Technologies et aspects réglementaires ». Biosciences et Technologies Ed.Doin 3^{ème} édition Paris .275p.
- [23]. **Laiguellet (1998) in B.Godon et C.Willm (1998)**. Les industries de première transformation des céréales Edition : Lavoisier Tec&Doc. 653 p.
- [24]. **Boucheham (2009)**. Aptitude technologique de trois formules à base de riz pour la fabrication de couscous sans gluten. Thèse de magister. Université Mentouri Constantine, Algérie. INATAA.76 p.
- [25].**Brink M .et Belay G. (2006)**. Céréales et légumes secs. PROTA .327 p.
- [26]. **Roudaut H. et Lefrancq E.(2005)**. Alimentation théorique Wolters Kluwer France .303 p.
- [27]. **Guezlane L. (1993)**. Mise au point de méthodes de caractérisation et étude des modifications physico-chimiques sous l'effet des traitements hydrothermiques en vue d'optimiser la qualité du couscous de blé dur. Thèse de Doctorat d'Etat. INA, El Harrach, Algérie. 89 pages.
- [28]. **Yousfi L. (2002)**: Influence des conditions de fabrication sur la qualité du couscous. Industriel et artisanal. Thèse de Magister. Université Mentouri Constantine, Algérie. 140 pages.
- [29]. **Angar O. et Belhouchet L. (2002)**. Granulométrie du couscous : relation avec quelques paramètres de fabrication et la qualité culinaire. Mémoire d'ingénieur. DNATAA, Université Mentouri Constantine. 53 pages
- [30]. **Debbouz A., Dick, J.W., et Donnelly, B.J. (1994)**. Influence of raw material on couscous quality. *Cereal Foods World*. 39: 231-236.
- [31]. **Dahoun-Lefkir S. (2005)**. Influence des conditions de l'hydratation sur la qualité technologique du couscous. Mémoire Magister. INA, El-Harrach, Alger. 100 p.
- [32]. **Ounane G., Cuq B., Abecassis J., Yesli A. et Ounane S.M. (2006)**. Effects of physicochemical characteristics and lipid distribution in algerian durum wheat semolinas on the technological quality of couscous. *Cereal chem*. 83: 377–384.
- [33]. **Benatallah-Benchikh El Feggoun L. (2009)**. Couscous et pain sans gluten pour malades coeliaques : aptitude technologique de formules à base de riz et de légumes sec .Thèse doctorat en sciences alimentaires I.N.A.T.A-A 164 page.
- [34]. **Scotti G. (1984)**. Analyse physique des grains. In **GODON B. et LOISEL W.** Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales. Lavoisier. Tec et Doc/Apria. Paris. 685 page.
- [35].**Jéantet R., T. Croguennec, P .Schuck et G.Brulé(2006)**. Science des aliments Biochimie .Microbiologie .Procédé des produits Tome2 :Technologie des produits alimentaires ; Edition TEC&DOC Lavoisier. 454 p.
- [36]. **AouirA.,Amiali M.,Betam A.,Benchabane A.,Raghavan V.G.,(2017)**.Comparaison of biochemical composition of differentArthrospiraplasentisstrainfromAlgeria,Chad and the USA. Journal of Food Measurement and Characterization .June 2017.Volume 11. pp.913-923.
- [37]. **Lee J.-B., Hayashi T., Hayashi K. et Sankawa U. (2000)**. Structural Analysis of Calcium Spirulan (Ca-SP)-Derived Oligosaccharides Using Electrospray Ionization Mass Spectrometry.J.Nat.Prod.2000, Volume 63(1),pp.136-138.
- [38]. **Pierlovisi C. (2008)**.Composition chimique de la spiruline .colloque international « spiruline et développement » Toliara sud-ouest de Madagascar 28, 29 et 30 avril 2008.
- [39]. **Sanchez M.,Bernal-Castillo J.,RozoC.,Rodriguez I.(2003)**.Spirulina (*Arthrospira*) : anedible microorganism –a revue Univ.Sci.,8(1) :7-24.

- [40]. **Yesli, A. (2001)**. Etude de l'influence des lipides sur la qualité technologique de quelques variétés de blé algérien (Doctoral dissertation, Thèse de Magister, INA. El-Harrach, Alger, 98 p, 2001. 6) C. Bar, Contrôle de la qualité des céréales et des protéagineux. (Guide pratique), ed., ITFC céréalières de France, Paris, 253 p.
- [41]. **Apfelbaum M., L.Perlemutter (1981)**. Dictionnaire pratique de diététique et de nutrition, éd. Masson 1981-726 page.
- [42]. **Doumandji A, Boutekrabi L, Saidi N, Doumandji S, Hamerouch Dj et Haouari S. (2012)** 'Etude de l'impact de l'incorporation de la spiruline sur les propriétés nutritionnelles, technologiques et organoleptiques du couscous artisanal' Revue « Nature & Technologie ».n° 06/Janvier 2012. p.40 -50.
- [43]. **Falquet J. (1996)**. Spiruline aspects :Nutritionnels.Genève. Antenna.Technologies.
- [44].**Cruchot H.(2008)**. la spiruline bilan et perspectives,Thèse docteur en pharmacie université de franche-comté faculté de médecine et de pharmacie de Besançon ,353 page.