

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCE ALIMENTAIRES
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

N°...../SNV/2022

Présenté par

ALLEM SABRINE.

BENYAGOUB MANSOURIA NACERA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité: NUTRITION ET PATHOLOGIE

THÈME

*Effet de l'inuline sur la cinétique
de croissance de certaines
souches lactiques.*

DEVANT LE JURY

Président	M. YAHLA Imen	MCB	U. Mostaganem
Encadreur	M. KOUADRI BOUDJELTHIA	MAA	U. Mostaganem
Examineurs	M. BOUKEZOULA Nawel	MCA	U. Mostaganem

*Thème réalisé à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem
Année universitaire: 2021/2022*

Remerciements

Tous d'abord nous remercions « **Allah** » le tout puissant de nous avoir éclairer le chemin de la réussite.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à notre Encadreur : **Mme. KOUADRI BOUDJELTHIA** *Nacima*;

pour sa disponibilité au cours de notre travail au laboratoire et pour ses judicieux conseils.

Nous adressons également nos remerciements aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail:

Dr. Boukezoula Nawel (Présidente), **Dr. Yahla Imen** (Examinatrice)

Nous remercions aussi tous les enseignants ayant contribuer à notre formation durant tout le cursus universitaire

Dédicace :

Je dédie ce travail :

A Ma chère maman *AMINA* qui a consacré toute sa vie
pour ma réussite, et que je ne remercierai jamais autant pour son amour ; son soutien et ces
prières pour moi tout au long de mes études;

Merci Maman!

A Mon chère grand père *AHMED* , mes tantes et mes oncles pour leur encouragements.

A Mon mari *MOHEMED SIF EDDINE* et sa famille pour leurs soutiens.

A mon binôme : *SABRINA*.

A tous mes camarades de la promotion de Master-2; Nutrition et Pathologie de l'année
2021/2022

Mansouria

Je dédie ce modeste travail...

A ma très chère mère qui représente pour moi une source de tendresse et un exemple de dévouement qui n'a cessé de m'encourager et de prier pour moi;

Maman, un grand merci

A mon père aucune dédicace ne serait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement, et le respect que j'ai toujours eu pour lui; rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Papa, ce travail est le fruit de tes sacrifices qui ont consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chères sœurs : ***Imane, Soumia, Chaimaa;***

A qui je souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite.

A toute ma famille: **Mes tantes, mes oncles , mes cousins et cousines**

J'exprime aussi mes sentiments de fraternité et d'amour.. à mais amies:

Fatiha, Malika, Wafa, Nabila.

À mon binôme: ***Mansouria***

A tous mes camarades de la promotion de Master-2 Nutrition et Pathologie de l'année 2021/2022.

Sabrina

Résumé :

L'inuline, un prébiotique à effet bénéfique pour la santé peut affecter positivement la croissance de certaines bactéries lactiques. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de ce substrat prébiotique (Inuline) sur la croissance d'une souche de *lactobacillus plantarum*. L'expérimentation consiste à déterminer la cinétique de croissance de cette souche lactique sur différents milieux de culture (MRS normale, MRS sans glucose et MRS +inuline). Le suivi de croissance est réalisé par un dénombrement sur gélose et par mesure de la densité optique à 600nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les mesures sont réalisées toutes les deux heures pendant 24h d'incubation à 37°C. Les résultats démontrent une amélioration claire de la croissance et l'augmentation du nombre de bactéries en présence d'inuline..

Mots clés : Prébiotique, inuline, croissance, bactérie lactique, *lactobacillus plantarum*.

Abstract

Inulin prebiotic with health benefits, can positively affect the growth of certain lactic acid bacteria. This study aims to evaluate the Inulin effect on the growth of *lactobacillus plantarum* strain isolated from cow's milk. The growth kinetics of this lactic strain on different culture media (normal MRS, MRS without glucose and MRS +inulin) was determined and monitoring by counting on agar plate. The optical density at 600 nm was measured using a spectrophotometer every two hours through 24 hours of incubation at 37°C. The results demonstrate a clear improvement in growth and increase in the number of bacteria in the presence of inulin.

Key Words: prebiotics, growth, *Lactobacillus plantarum*, lactic acid bacteria, inuline

ملخص :

يمكن أن يؤثر الإينولين ، وهو مادة حيوية ذات فوائد صحية ، بشكل إيجابي على نمو بعض بكتيريا حمض اللاكتيك. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير ركيزة البريبايوتك (Inulin) على نمو سلالة من العصيات اللبنية. تتكون التجربة من تحديد حركية النمو لهذه السلالة اللبنية على أوساط استنبات مختلفة (MRS عادي ، MRS بدون جلوكوز و MRS + inulin). تتم مراقبة النمو عن طريق العد على أجار وقياس الكثافة الضوئية عند 600 نانومتر باستخدام مقياس الطيف الضوئي. يتم إجراء القياسات كل ساعتين لمدة 24 ساعة من الحضانة عند 37 درجة مئوية. أظهرت النتائج تحسناً واضحاً في النمو وزيادة عدد البكتيريا في وجود الأنسولين.

الكلمات المفتاحية: البريبايوتك، النمو، *Lactobacillus planatum* ، البكتيريا اللبنية، الإينولين.

Remerciements
Dédicace
Résumés
ملخص
Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures

Sommaires

Introduction 1

Partie1 : Rappelles bibliographiques

I. Bactéries lactique2

I.1.Généralités2

I.2. La relation entre les probiotique et les prébiotique2

II. Les prébiotiques..... 3

II.1.Définitions.3

II.2. Critères de sélection d'un prébiotique4

II.3. Les rôles des prébiotiques.7

II.4.L'inuline9

II.4.1. Définition de l'inuline.....9

II.4.2. Les bienfaits de l'inuline.10

II.4.3. L es effets indésirables de l'inuline.12

II.4.4. L'effet de l'inuline sur les bactéries lactiques.13

Partie 2 : Matériels et méthodes.

1. Lieu de travail..... 14

2. Matériels..... 14

2-1. Matériels biologique. 14

2-2. Milieux de cultures et substrat prébiotique. 14

3. Méthodes. 15

3-1. Préparation des inoculas..... 15

3-2. Purification de la souche lactique par des testes phénotypiques..... 15

3-2-1. L'aspect macroscopique. 15

3-2-2. L'aspect microscopique.	15
3-2 -3. Test catalase.	16
3-3. Conservation des souches.	16
3-3-1. Conservation à courte durée.	16
3-3-2. Conservation à long durée.	16
3-4. Détermination de la cinétique de croissance de la souche en présence de l'inuline. ...	18

Partie 3 : Résultats et discussion.

1. Confirmation de la pureté des souches et leur appartenance au groupe lactique. ... 19
2. Résultats de l'effet d'inuline sur le suivi de la cinétique de croissance de la souche *Lactobacillus plantarum*. 22

Conclusion. 26

Références bibliographiques. 27

Liste des abréviations

- **ANSES** : Agence National de Sécurité Sanitaire de l'alimentation.
- **BL/LAB** : Bactéries lactique.
- **PH** : Le potentiel hydrogène.
- **FOS** : Fructo_oligosaccharides.
- **GOS** : Glacto_oligosaccharides.
- **LDL** : Lipoprotéines de basse densité.
- **INCI**: International nomenclature of cosmetic ingredients.
- **SCI** : Syndrome du colon irritable.
- **FODMAP** : types de glucides que l'on trouve dans le blé, lait ...etc.
- **MRS**: Man, Rogosa ET Sharps.
- **UFC** : Unités format colonies.
- **DO** : Densité optique.
- **AGCC** : les acides gras a courtes chaines.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Proposition de critères de sélection des prébiotiques à application intestinale (**FRANK., 2002 ; AFSSA., 2003**) 6

Tableau 2 : Origine de la souche lactique. 14

Tableau 3 : Résultats de l'étude morphologique. 21

Liste des figures

Figure 1 : Principaux critères d'acquisition du statu « prébiotique » par les glucides végétaux (WANG., 2009)	6
Figure 2 : Les rôles de prébiotique sur l'organisme.	8
Figure 3 : la structure chimique de prébiotique l'inuline.	10
Figure 4 : inuline de agave	14
Figure 5 :L'équivalence du test de catalase.....	16
Figure 6 : Schéma de conservation à courte durée des bactéries lactique purifiées (Badis et al ., 2003).....	17
Figure 7 : Schéma de conservation long durée des bactéries lactiques purifiées (Badis et al ., 2005).....	17
Figure 8 : Protocole de dilution des souches lactiques.....	18
Figure 9 : Aspect des souches lactiques Pures en milieu MRS liquide.....	19
Figure 10 : Aspect macroscopique des souches lactique en milieu MRS solide.	20
Figure 11 : Observation microscopiques de bactérie lactique après une coloration de gram avec un grossissement($G * 100$).....	21
Figure 12 :Courbes de croissance de la souche lactique LbN14 testée en présence et absence d'inuline.	23
Figure 13 : Résultats du dénombrement de la souche LbN14 sur milieu de culture solide en présence et absence d'inuline	23

Introduction

Introduction :

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes procaryotes micro aérophiles, Gram positif. On les trouve dans les produits laitiers (yaourts, fromages), les légumes fermentés (olives, cornichons, choucroute), les boissons alcooliques fermentées (vin, bière, cidre), la charcuterie (jambon, saucissons) et le pain au levain. Ils appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques (Probiotiques), dont les vertus se ressemblent. Ces probiotiques sont une sélection de micro-organismes (bactéries et/ou levures) vivants que l'on peut retrouver sous la forme de compléments (dont les compléments alimentaires), ou d'aliments ayant subi une fermentation (yaourt, kéfir, miso...). Ils apportent des bénéfices à l'organisme auquel ils sont administrés (que ce soit l'Homme, ou les animaux) en venant enrichir le microbiote digestif et protéger de l'invasion potentielle par des bactéries pathogènes **(Anonyme., 2017)**

Les prébiotiques quand à eux favorisent la croissance des bactéries et leur permettent d'exercer plus efficacement leurs fonctions bénéfiques sur la santé de l'hôte. Ils sont définis dans un rapport de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) comme étant des « ingrédients alimentaires non - digestibles qui stimulent de manière sélective au niveau du côlon la multiplication ou l'activité d'un ou d'un nombre limité de groupes bactériens susceptibles d'améliorer la santé de l'hôte». Ils sont présents dans les fibres solubles des végétaux. Leur quantité est particulièrement importante dans les fruits, les légumes verts, les légumineuses et les céréales complètes. **(Anonyme., 2017)**

Le rôle de ces prébiotiques est de nourrir et de potentialiser l'action des probiotiques, les prébiotiques ont plusieurs effets bénéfiques pour la santé : Ils participent à l'entretien et réduisent l'inflammation de la paroi intestinale, Ils diminuent le taux de triglycérides (lipides) dans le sang (quoique les études soient controversées sur ce sujet) et favorisent l'élimination des toxines, Ils agissent sur les fonctions immunitaires et ils ont un effet protecteur contre le cancer du côlon. **(DES CHERCHEURS DE L'université du colorado)**

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet de l'inuline sur la croissance de certains bactéries lactiques, le manuscrit est articulé en trois parties , la première comporte des rappelles bibliographiques, dans la deuxième partie , le protocole expérimental y est démontré , et la troisième partie concerne les résultats et la discussion qui nous permettent par la suite de conclure le travail.

PARTIE 01 :
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. Les bactéries lactiques

I.1 Généralités :

Les bactéries lactiques peuvent être présentes naturellement dans le lait, ou apportées par des levains rajoutés au lait si celui-ci n'est pas suffisamment riche. Les bactéries lactiques réalisent la fermentation lactique, c'est-à-dire une réaction de transformation du lactose en acide lactique. Elles se développent donc en milieu acide, à des pH inférieurs à 5.

(SEBSTIANE., 2022)

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes procaryotes micro aérophiles, c'est-à-dire qui se développent dans un milieu faiblement oxygéné. Ce sont des bactéries Gram positif, ce qui signifie qu'elles peuvent être visualisées par la coloration de Gram, caractéristique des bactéries dont la paroi comprend une membrane, un périplasme et une couche de peptidoglycanes. **(SEBSTIANE., 2022)**

Il existe une multitude de bactéries différentes, mais peu sont éligibles au titre de probiotiques. Celles qui le sont, sont essentiellement des bactéries lactiques, c'est-à-dire des bactéries qui fermentent les sucres en acide lactique, appartenant à 4 genres différents (Lactobacilles, Bifidobactéries, Streptocoques, Lactocoques) comportant des milliers d'espèces et des centaines de milliers, voire plus, de souches différentes. **(ARMUZZI et al., 2001)**

La famille des bactéries lactiques comprend : les lactocoques du genre *Lactococcus* ; les lactobacilles et streptocoques thermophiles, qui se développent à des températures élevées ; les *Leuconostoc*, qui, en plus de fabriquer de l'acide lactique, produisent aussi des composés aromatiques (éthanol, acide acétique, diacétyl, acétoïne)

I.2 La relation entre probiotiques et prébiotiques :

Prébiotiques et probiotiques travaillent en symbiose pour protéger notre système digestif. Leur nature et leur action étant très différentes, elles sont complémentaires. On sait aujourd'hui qu'il existe un lien étroit entre certaines affections et le microbiote intestinal. Ce dernier joue un rôle dans les fonctions digestives, métaboliques, immunitaires, neurologiques et bien d'autres encore. C'est pourquoi les probiotiques ont un rôle à jouer dans notre santé, en protégeant ce microbiote intestinal, et il est essentiel de les consommer intelligemment et donc de les associer aux prébiotiques pour une action complète.

Les prébiotiques constituent de la bonne nourriture (fibres et polyphénols spécifiques) pour le microbiote intestinale et ainsi viennent booster la croissance des bactéries probiotiques qui sont un renfort pour la flore intestinale. Des bactéries bénéfiques qui viennent, tel une armée d'intérimaires, donner un coup de main à un microbiote déséquilibré ou appauvri (par exemple suite à un traitement antibiotique). (**équipe de recherche de l'université colorado., 2017**)

II. Les prébiotique

II.1 Historique et Définitions :

Les prébiotiques ont d'abord été identifiés et nommés par Marcel Roberfroid en 1995. En qualité de composant en alimentation fonctionnelle, les prébiotiques, comme les probiotiques, sont conceptuellement intermédiaires entre les aliments et les médicaments. Selon la juridiction nationale, ils reçoivent généralement un niveau intermédiaire de surveillance réglementaire, en particulier au niveau de la santé. (**Marcel., 1995**)

Roberfroid proposé une définition affinée, en 2007, dans un journal spécialisé dans la nutrition en déclarant : Un prébiotique est un ingrédient sélectif fermenté qui permet des changements spécifiques, à la fois dans la composition et / ou dans l'activité de la microflore gastro-intestinale, ce qui lui confère des avantages sur l'hôte, de l'ordre du bien-être et de la santé. (**Marcel., 1995**)

Un prébiotique est une substance non digestible qui favorise l'épanouissement de la flore digestive. Les prébiotiques sont en fait un type de nourriture particulièrement apprécié par les probiotiques qui vivent naturellement dans votre système digestif ou dans votre zone génitale. (**Jdecampos., 2021**) .

Il s'agit de fibres qui ne sont pas indispensables à la survie des probiotiques, mais qui les aident à mieux accomplir leurs missions et à se multiplier plus facilement. Ils sont finalement l'équivalent biologique de l'engrais que vous donnez à vos plantes pour les faire pousser. (**Jdecampos., 2021**).

Les prébiotiques se retrouvent en majorité dans les fruits et légumes frais, les légumineuses et les céréales complètes. Les aliments qui en contiennent le plus sont l'ail, l'oignon, l'asperge, la banane, la chicorée, le poireau, l'artichaut, le kiwi (**Jdecampos., 2021**)

L'apport de prébiotiques peut considérablement moduler le microbiote colique en augmentant le nombre de bactéries spécifiques et donc de modifier la composition du microbiote.

Les oligosaccharides non digestibles, en général, sont des prébiotiques. Ceux-ci ont été montrés pour stimuler la croissance des bifidobactéries endogènes, qui, après une période d'alimentation courte, sont devenues prédominantes dans les excréments humains.

En outre, ces prébiotiques modulent le métabolisme des lipides, probablement par des produits de fermentation. En combinant la logique des probiotiques et prébiotiques, le concept des symbiotiques est proposé pour caractériser certains aliments dans le côlon avec d'intéressantes propriétés nutritionnelles qui rendent ces composés candidats pour la classification comme favorables à la santé avec les ingrédients alimentaires fonctionnels.

II.2 Critères de sélection d'un prébiotique :

Les glucides non digestibles ne sont pas tous des prébiotiques car ils doivent respecter des critères scientifiques particuliers afin de satisfaire à la définition des prébiotiques, ces molécules doivent pouvoir atteindre intactes le colon où elles pourront alors être fermentées sélectivement dans l'écosystème intestinal complexe. Les candidats prébiotiques doivent être sélectionnés selon les différents critères décrits dans le **tableau 01** et la figure 1. Il existe 5 critères qui doivent être validés qui sont :

- Il doit être résistant aux différents processus de digestion pour atteindre le colon (la résistance à l'acidité gastrique).
- Il doit pouvoir être fermenté par la microflore intestinale.
- Il doit être bénéfique pour la santé de l'hôte.
- Il doit stimuler de façon sélective les probiotiques.
- Il doit rester stable durant les différents traitements alimentaires du processus. (**Wang., 2009**)

Les molécules qui à ce jour satisfont à ces critères sont les inulines, les galacto-oligosaccharides et le lactulose. Elles entrent dans la composition de certains aliments et compléments alimentaires. Les inulines sont des mélanges d'oligo et de polysaccharides essentiellement composés de fructose. Les termes de fructo-oligosaccharides (FOS) et d'oligo-

Partie I : Rappels Bibliographiques

fructose sont utilisés pour des inulines de faible poids moléculaires (M. D'autres candidates existent (isomalto-oligosaccharides, lacto sucrose , xylooligosaccharides, oligosaccharides de soja gluco-oligosaccharides , gomme arabique hydrolysats de pectines...) qui ont fait ou font l'objet d'études préliminaires mais sans ,à ce jour , satisfaire les critères ci-dessus (**Mussato et al., 2007**).

Il existe aussi les fibres alimentaires qui ont en commun avec les prébiotiques leur non digestibilité dans l'intestin grêle et leurs effets sur la flore colique .elles diffèrent selon leur spécificité à n'être utilisées que par certaines population microbiennes de la flore colique considérées comme bénéfique , pour en favoriser la croissance et l'activité dans le cas des prébiotiques ,alors que la fermentation de la majorité des fibres alimentaires est non spécifique et implique la totalité des bactéries dominantes. (**Cherbut., 2003**)

Cependant, les doses recommandés pour que les prébiotique soient efficaces, dépendent du profil bactérien des sujets et de la nature de ses molécules actives. En effet , certains prébiotiques de faible masse molaire sont susceptibles d'induire la production de plus forte plus forte quantité de gaz à l'origine de douleurs abdominales et pourraient provoquer à forte dose des diarrhées osmotiques .par ailleurs ,les prébiotiques sont faiblement tolérés par les personnes à troubles intestinaux .En outre ,jusqu'à présent aucun élément n'indique un risque particulier allergique lié à l'utilisation des glucides indigestibles. (**AFSSA., 2003**)

Tableau 01 : proposition de critères de sélection des prébiotiques à application intestinale (**FRANK., 2002 ; AFSSA., 2003**)

Critères de sécurité	Critères fonctionnels	Critères technologiques
<ul style="list-style-type: none">• Produits ou organisme à l'origine de l'ingrédient parfaitement caractérisés procédé d'obtention parfaitement décrit.• Identification et caractérisation des molécules actives	<ul style="list-style-type: none">• Non digestibilité et non assimilation dans la partie supérieure du système gastro- intestinal• Fermentescible dans le colon de façon sélective par un nombre limité de bactéries potentiellement favorables	<ul style="list-style-type: none">• Pas de modification de l'ingrédient au cours des transformations et du stockage des préparations

<ul style="list-style-type: none">• Identification des microorganismes ciblés pour la fermentation• Pas de production excessive de gaz	<ul style="list-style-type: none">• Capacité à altérer la composition de la microflore colique en faveur d'une flore potentiellement plus saine• Induction éventuelle d'effets systémiques qui peuvent être positifs pour la santé de l'hôte	
---	---	--

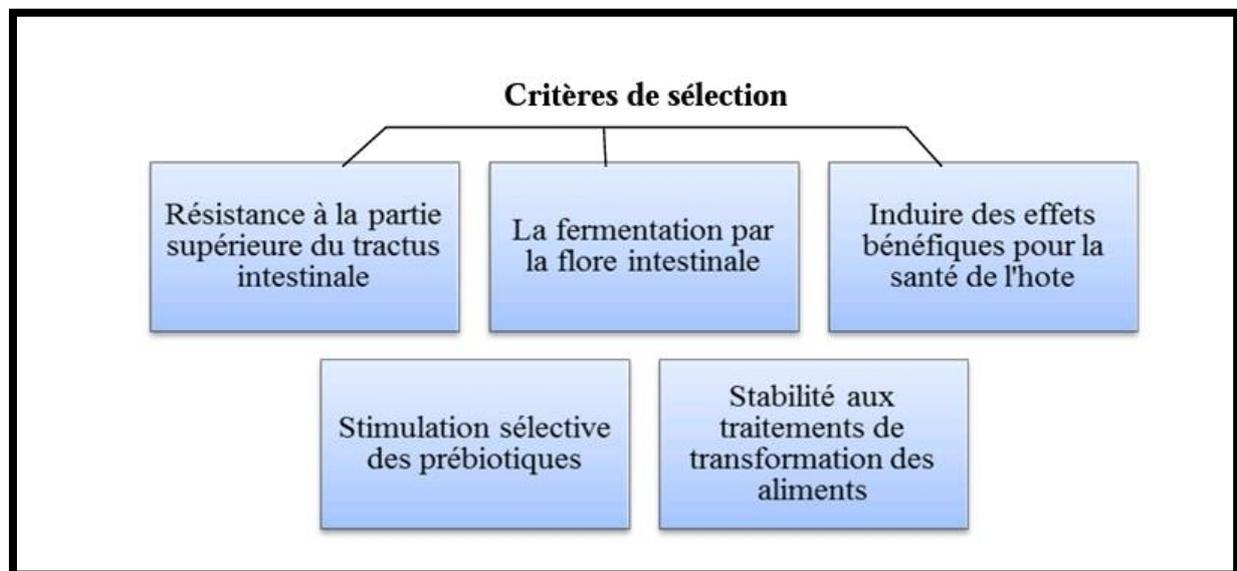


Figure 01 : Principaux critères d'acquisition du statu « prébiotique » par les glucides végétaux (WANG., 2009)

II.3 Le rôle des prébiotiques :

L'effet prébiotique d'un aliment est apporté par sa teneur en fibres. Les fibres alimentaires sont un enchaînement de molécules de sucres (appelés polysaccharides) qui ne peuvent pas être digérées par l'organisme humain. Elles progressent donc intactes au sein de l'appareil digestif haut, résistant aux différents processus de dégradation de la digestion (action des sucs gastriques, libération des enzymes digestives...). Lorsqu'elles progressent dans l'intestin, elles

vont entrer en contact avec les bactéries qui sont de plus en plus représentées au fur et à mesure de l'avancée vers le côlon .(**une équipe de chercheurs de l'université du colorado,2017**)

D'un point de vue biochimique, ces prébiotiques sont des composés qui appartiennent à la grande famille des glucides : sucres, amidon, fibres alimentaires... Plus précisément, il s'agit surtout d'oligo- et de polysaccharides, tels que l'inuline, les fructo-oligosaccharides ou les galacto-oligosaccharides. Ce sont donc des glucides spécifiques qui ne sont pas digérés dans la partie haute de notre intestin et qui peuvent être fermentés sélectivement et utilement dans le côlon par nos bactéries. Certaines fibres alimentaires inscrivent un effet prébiotique parmi leurs différentes fonctions ; la frontière entre les prébiotiques et les fibres est effectivement étroite car leur parcours dans le tube digestif est proche. (**Enseignements du 8^e international yakult symposium ,2015**)

La consommation de prébiotiques conduit à un développement des bifidobactéries dans le côlon. La masse bactérienne fécale augmente et les selles se gorgent d'eau, ce qui améliore leur consistance. La première conséquence directe des prébiotiques est donc une augmentation de la fréquence d'expulsion chez les personnes légèrement constipées. On note également qu'ils augmentent l'absorption des minéraux dans le côlon, en particulier celle du calcium et du magnésium. (**Enseignements du 8^e international yakult symposium ,2015**)

Le microbiote joue sans doute un rôle dans la régulation du poids et, en cas de surpoids, dans une partie de ses complications métaboliques et inflammatoires. Dans ce contexte, des études expérimentales chez l'animal ont révélé que l'administration de prébiotiques permettait de contrôler différents symptômes dont l'excès de masse grasse et le taux de sucre sanguin. (**Enseignements du 8^e international yakult symposium ,2015**)

Les effets des prébiotiques sur la santé intestinale au sens large sont bien documentés. Ils ont notamment un impact sur les fonctions immunitaires, et peuvent être intéressants dans le cadre des pathologies inflammatoires de l'intestin. Mais leur intérêt potentiel peut aller plus loin. Par exemple, des données expérimentales récentes suggèrent que les changements microbiens induits par certains prébiotiques peuvent atténuer des complications cancéreuses. Et que ce soit pour la régulation du métabolisme énergétique ou la gestion du comportement (axe intestin-cerveau), l'approche prébiotique mérite d'être approfondie. (**Enseignements du 8^e international yakult symposium ,2015**)

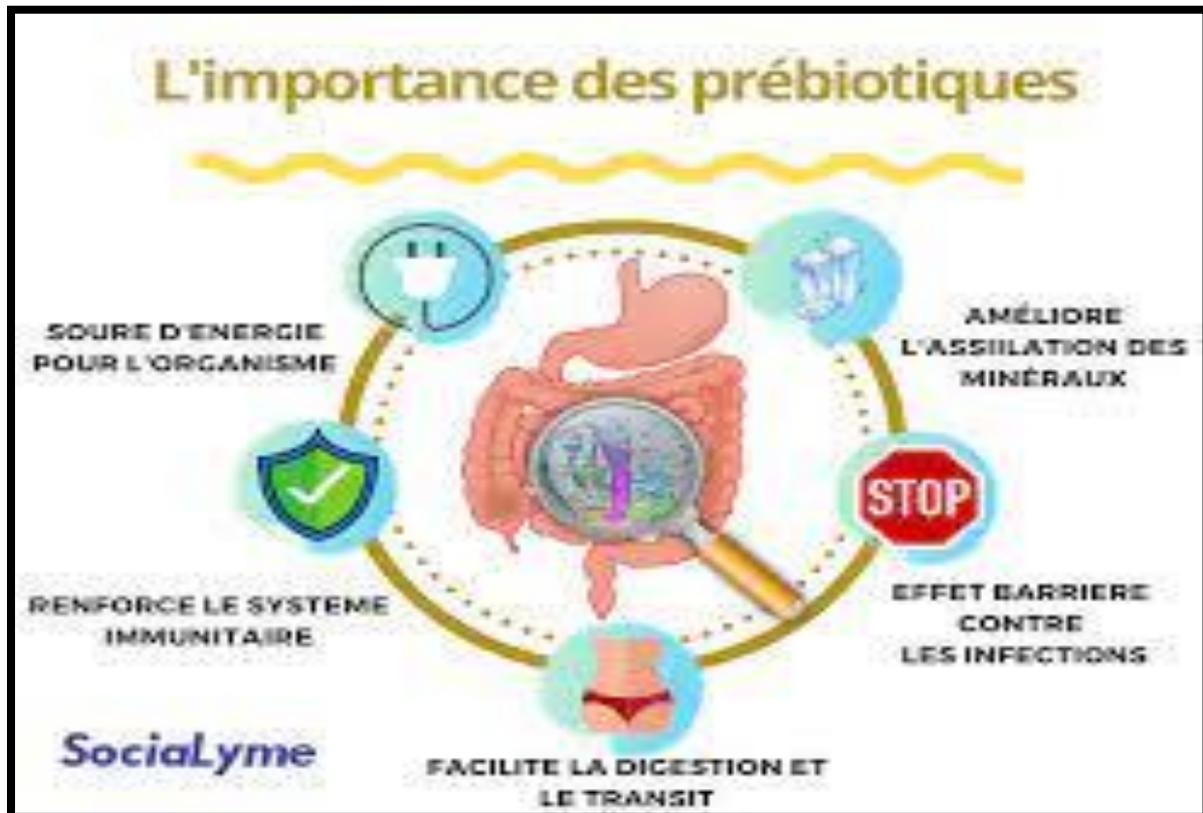


Figure 2 : Le rôle de prébiotique sur l'organisme. (Anonyme, 2022)

II.4 L'inuline :

II.4.1 : Définition de l'inuline.

L'inuline est un polysaccharide présent naturellement dans de nombreuses plantes. Elle est utilisée comme réserve d'énergie et se trouve généralement dans les racines et les rhizomes. (Vincent Garcia, 2021)

C'est une substance ressemblant à l'amidon, utilisée pour l'étude de la fonction glomérulaire du rein, découverte à l'origine dans les racines de l'aunée et qui se trouve surtout dans les racines de chicorée et dans les tubercules de dahlia.

L'inuline, séchée à une douce température, forme une poudre insipide, blanche et ténue semblable à l'amidon (Wurtz, Dict. chim.).

Partie I : Rappels Bibliographiques

Les plantes qui stockent l'inuline en particulier les types de marguerites et d'ombellifères. Les exemples incluent le yacon, l'artichaut de Jérusalem, la chicorée, le dahlia, l'artichaut, le pissenlit, le salsifis, la chicorée et les panais. L'inuline a été découverte en 1807 par Valentin rose le Jeune dans la racine d'Alanten (*Inula helenium*). Lors de la torréfaction des racines de chicorée pour la production de substitut de café, l'inuline est partiellement convertie en hydroxyméthylfurfural, ce qui donne un arôme de café. (Anonyme, 2013)

De nos jours, l'inuline est souvent un ingrédient dans la production alimentaire, par exemple dans le yogourt comme substitut des graisses et pour améliorer le goût, la texture et la sensation en bouche. Dans les saucisses, elle sert à augmenter la teneur en fibres. L'inuline est l'un des additifs alimentaires prébiotiques. Elle sert également de matériau de base pour la production hydrolytique de fructose et d'oligofructose. (Anonyme, 2013)

Les bifidobactéries peuvent métaboliser l'inuline en tant que source d'énergie. La capture d'inuline peut ainsi être utilisée pour l'enrichissement sélectif des bifidobactéries dans l'intestin humain. Cependant, une consommation excessive peut entraîner des ballonnements et des diarrhées chez les personnes sensibles. (Anonyme, 2013)

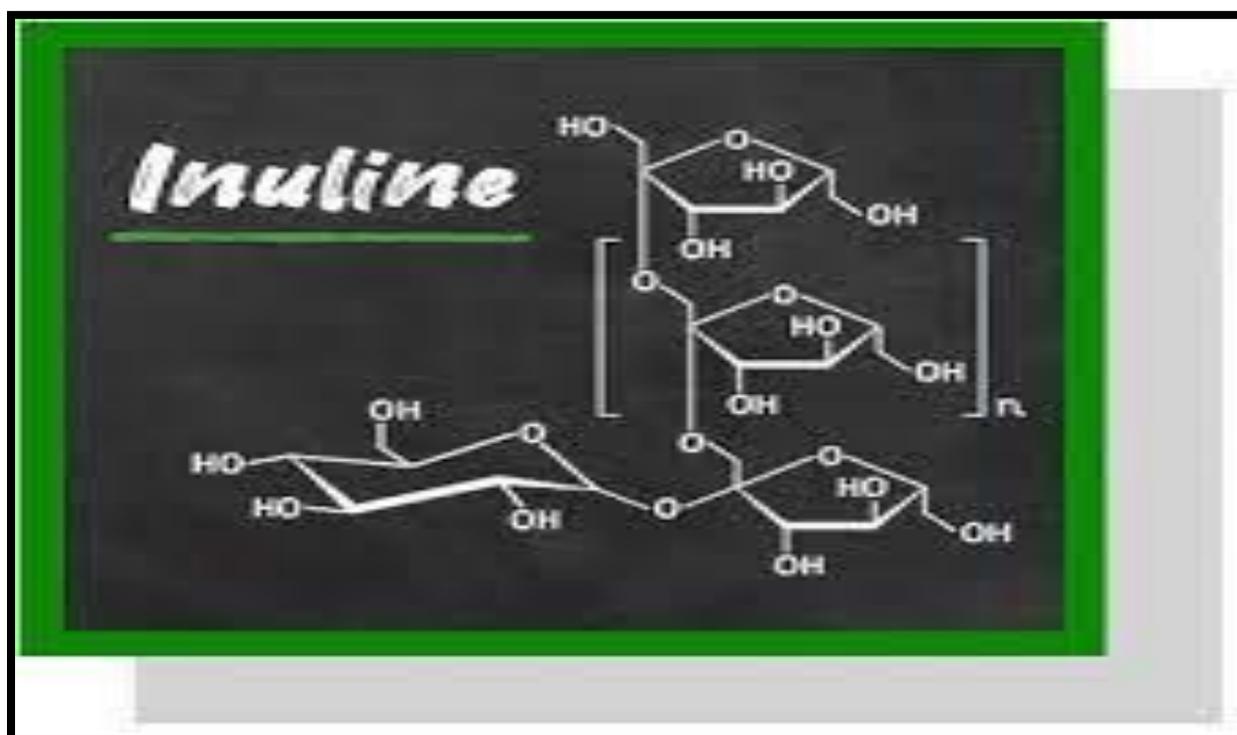


Figure 3 : la structure chimique de prébiotique l'inuline.(équipe rédactionnelle de Nutrixeal Info., 2021)

II.4.2 Les bienfaits de l'inuline :

L'inuline et la perte de poids :

C'est prouvé : les fibres solubles possèdent un intérêt majeur dans le processus de perte de poids, étant impliquées dans la réduction de la sensation de faim. Lors de leur ingestion, les fibres solubles absorbent l'eau qui les entoure et forment un gel visqueux, à l'origine du ralentissement de la digestion. (Vincent., 2021)

De ce fait, la sensation de faim met plus de temps à réapparaître, permettant de limiter la prise alimentaire. L'inuline n'échappe pas à la règle et s'avère relativement utile dans le cadre d'une perte de poids, en régulant l'appétit et en réduisant la survenue de la sensation de faim. (Vincent., 2021)

Certaines études ont effectivement démontré une perte de poids comprise entre 1 et 6 kg en 12 à 18 semaines suite à l'ajout de poudre d'inuline à un régime alimentaire normal. (Vincent., 2021)

Si la régulation de la sensation de faim explique, en grande partie, ce phénomène, on peut aussi citer le rôle de l'inuline dans la réduction du stockage des graisses ectopiques (hors cellules graisseuses) qui, d'ailleurs, s'avèrent relativement nocives pour la santé (stockage au niveau d'organes vitaux). (Vincent., 2021)

L'inuline contrôle les lipides sanguins :

Un essai clinique a été réalisé au Chili sur 12 patients obèses avec des lipides élevés. On leur a administré 7 grammes d'inuline en tant que source de fibres par jour. Après plusieurs mois de consommation, on a conclu que l'inuline avait réussi à faire baisser le cholestérol total, le cholestérol LDL et les triglycérides. (Maria., 2022)

D'autres études sur des humains ont aussi montré les effets bénéfiques de l'inuline sur le profil de lipides sanguins. Dans certains cas, on a seulement trouvé une réduction des triglycérides, tandis qu'une étude n'a démontré aucun effet sur des patients obèses atteints d'un diabète de type 2. (Maria., 2022)

En ce qui concerne la dose, les évidences signalent qu'une ingestion de 6 à 12 grammes d'inuline par jour pendant 2 ou 3 mois mène à des réductions

importantes dans le cholestérol sérique. Il semblerait qu'elle stimule l'excrétion de cholestérol par les selles. (Maria., 2022)

L'inuline et le contrôle de la glycémie :

L'inuline a la capacité de réduire la sensation de faim en initiant une réduction de la vitesse de digestion. Or, cette action a une autre qualité : elle permet d'initier une augmentation progressive de la glycémie (Vincent Garcia., 2021)

L'inuline possède ainsi un fort intérêt dans le contrôle de la glycémie, dont la recherche scientifique nous offre des sources fiables. De plus, en réduisant le stockage du gras au niveau du foie, l'inuline a la capacité d'augmenter la sensibilité à l'insuline, elle-même à l'origine de l'évacuation du glucose présent dans le sang vers les adipocytes (cellules graisseuses).

(Vincent Garcia, 2021)

L'inuline et la santé digestive :

La flore intestinale, ou microbiote, est habitée par des milliers de bactéries, bonnes ou mauvaises, qui forment un environnement biologique définissant, en partie, la santé de son hôte. Véritable prébiotique, l'inuline a la capacité de nourrir les probiotiques (bonnes bactéries), nécessaires au maintien de l'équilibre intestinal et, de ce fait, de la santé. (Vincent Garcia., 2021) .

L'inuline s'avère alors bénéfique pour le traitement d'un certain nombre de problèmes digestifs spécifiques (constipation par exemple)⁶, et pourrait éventuellement être utilisée pour améliorer les symptômes de maladies intestinales inflammatoires. (Vincent Garcia., 2021)

L'inuline et la santé de peau :

L'inuline présent dans les soins cosmétiques est généralement obtenue par extraction à partir de racines de chicorée, suivie d'une hydrolyse enzymatique et d'une purification, puis d'un séchage par pulvérisation. Son nom I.N.C.I. est "Inuline" et il est généralement introduit à une concentration de 0,5 à 5% dans une formule cosmétique. (TESTER et al., 2014)

L'inuline est un "prébiotique", soit un ingrédient qui représente une excellente source d'apport nutritif pour les bonnes bactéries présentes à la surface de la peau. (GILLIET et al., 2016)

L'inuline est un prébiotique, soit un aliment pour les "bonnes" bactéries, au détriment des micro-organismes indésirables. En application cutanée, il rééquilibre le microbiote et prévient la dysbiose. La barrière microbiologique est renforcée, prévenant la colonisation de micro-organismes pathogènes et ainsi l'apparition d'imperfections. La peau est plus saine et uniforme. (GILLIET et al., 2016)

L'inuline est reconnue pour ses propriétés hydratantes. Cet actif est particulièrement recommandé aux peaux déshydratées. En effet, l'inuline est un sucre aux propriétés filmogènes qui capte l'humidité et la retient dans les cellules cutanées. La peau gagne en souplesse et en douceur, prévenant les tiraillements. **(GILLIET et al., 2016)**

Certains chercheurs ont trouvé des effets positifs dans le contenu et la densité des os d'animaux de laboratoire qui consommaient de l'inuline car celle-ci avait augmenté l'absorption de calcium. Chez des patients adolescents, il a fallu 8 grammes d'inuline pendant 8 semaines pour noter des résultats positifs. Dans la revue Journal of Nutrition, on signale que l'inuline a aussi favorisé l'absorption de magnésium. **(Maria., 2022).**

II.4.3 : Les effets indésirables de l'inuline :

L'inuline est un glucide à chaîne courte qui est mal absorbé dans l'intestin, rapidement fermenté par les bactéries de l'intestin, et qui attire un surplus d'eau dans l'intestin. Pour les personnes souffrant de problèmes gastro-intestinaux, comme le syndrome du côlon irritable (SCI), la prise de suppléments ou la consommation d'aliments riches en inuline peut s'avérer problématique. **(Wolfram., 2017)**

De nombreuses personnes atteintes du SCI tirent profit d'un régime alimentaire pauvre en FODMAP. Un régime alimentaire pauvre en FODMAP limite certains types de glucides. Ces glucides sont définis comme des oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides et polyols fermentables (d'où l'acronyme FODMAP). **(Wolfram., 2017)** L'inuline peut provoquer plusieurs effets secondaires gastro-intestinaux, notamment :Diarrhée due à une augmentation des selles Ballonnements et/ou flatulences (gaz Crampes abdominales) . **(Wolfram., 2017)**

II.4.4 . L'effet de l'inuline sur les bactéries lactiques :

À la différence de l'amidon qui est généralement hydrolysé par les enzymes digestives, et cela dès son entrée dans la bouche grâce à l'action des amylases (des enzymes présentes dans la salive), l'inuline n'est absolument pas digérée par les enzymes qu'elles soient gastriques ou intestinales. La grande majorité de l'inuline ingérée se retrouve donc intacte dans le côlon où elle est fermentée par les bactéries coliques colonisant le gros intestin. Ces bactéries sont essentiellement des bactéries lactiques (bifidobactéries et lactobacilles). Elles utilisent l'inuline en tant que substrat énergétique pour produire de l'acide lactique et des acides gras à chaîne moyenne (AGCC), tels que l'acétate, le propionate et le butyrate. Ce dernier serait, dans le cas de la fermentation de l'inuline, l'AGCC le plus représenté. **(Équipe rédactionnelle de Nutrixeal Info., 2021)**

Partie I : Rappels Bibliographiques

De nombreuses études ont démontré le caractère « prébiotique » de l'inuline et son impact positif sur le nombre de certaines bactéries du côlon, notamment les bifidobactéries et les lactobacilles. En stimulant leur croissance et leur activité métabolique, renforçant ainsi le microbiote intestinal, l'inuline favorise donc la santé digestive. (**Équipe rédactionnelle de Nutrixeal Info., 2021**)

Dans plusieurs pays, en France et au Japon notamment, les fabricants d'aliments enrichis en inuline ou en FOS peuvent afficher des allégations à l'effet que leurs produits stimulent la croissance des bifidobactéries. Par exemple, en France, l'allégation suivante est permise : « L'inuline native de chicorée est bifidogène (stimulation de la croissance des bifidobactéries intestinales) à un dosage quotidien de 5 g/jour ». (**Blumenthal et al., 2009**)

Pour cette raison l'incorporation de l'inuline en tant qu'ingrédient, et non en tant qu'additif, se développe dans les processus de fabrication de divers aliments, cherchant à inclure divers effets tels que le remplacement des graisses saturées, en particulier dans les produits de viande, les produits laitiers et les glaces. (**Blumenthal et al., 2009**)

Partie 02:

Matériels & Méthodes

Partie 02 : Matériels & Méthodes

1.Lieu de travail :

La partie expérimentale du sujet a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie N° II , de l'université Abd El Hamid Ibn Badis Mostaganem.

2. Matériel :

2.1.Matériel biologique :

Tableau 2: Origine de la souche lactique

souches	Gram/ catalase	Forme	Origine	Identification moléculaire
LbN14	Positif/ Négatif	bacille	<i>Lait de vache</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>

2.2. Milieux de cultures et substrat prébiotique :

- **Le milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe):** Le milieu MRS est constitué de 10 g.L-1 de peptone, 5 g.L-1 d'extrait de levure, 10 g.L-1 d'extrait de viande, 5 g.L-1 d'acétate de sodium, 2 g.L-1 de citrate de sodium, 5g.L-1 de glucose, 2 g.L-1 KH₂PO₄, 0.25 g.L-1 Mg SO₄, 0.005 g.L-1 MnSO₄, 1mL de Tween 80, 1000 ml d'eau distillée, le pH final est de 6.5 ±0.2. (De Man et al., 1960) .



Figure04 : inuline de agave

3. Méthodes :

3.1. Préparation des inoculas:

Les souches conservées à - 20°C dans du glycérol, sont réactivées sur le milieu MRS et incubées en anaérobiose à 37°C pendant trois jours successifs. Par la suite, 200µL de cultures jeunes (de 18 à 24h) des différentes souches servent à inoculer 10ml de MRS liquide pendant trois jours successifs, afin d'obtenir une concentration initiale de 1.10⁹ UFC/mL. Les tubes ensemencés par des monocultures sont toujours incubés en anaérobiose à 37°C (Keddari., 2014 ; BEDDAICHE et LAZREUG., 2020) .

3.2. Purification de la souche lactique par des tests phénotypiques:

3.2.1. L'aspect macroscopique :

Cette étude est basée sur l'observation visuelle de la culture des isolats sur milieu MRS solide et liquide : pour caractériser la taille , la forme et la couleur des colonies sur milieu solide et le trouble dans le milieu liquide (Badis et al., 2005)

3.2.2. L'aspect microscopique :

Cette étude est mise en évidence par la coloration de Gram qui va nous permettre de vérifier la pureté et la forme de la souche lactique étudiée.

Préparation du frottis bactérien: une colonie a été prélevée à partir d'une culture sur boîte et étalée sur une lame de verre . La lame a ensuite été séchée à l'air libre , passée à la flamme afin de fixer l'échantillon . Après fixation , la lame a été posée sur un porte - objet et colorée par la coloration de Gram

- **Coloration de Gram:** le frottis fixé est recouvert par le violet de Gentiane pendant 01min avant d'être rincée rapidement à l'eau courante , ensuite traité pendant une minute par une solution de Lugol , et de nouveau rincé rapidement . On soumet alors la lame coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95 % . Il s'agit de l'étape critique : la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 2 à 3 secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis . Celui - ci est alors immédiatement rincé à l'eau courante . A ce stade les cellules Gram- seront incolores , les cellules Gram + seront violettes . On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 30 secondes à la Fushine pour colorer les cellules Gram- présentes . Après un bref rinçage , le frottis est séché et examiner à l'objectif à immersion (grossissement X 100) (Singleton, 1999

Partie 02 : Matériels & Méthodes

). Avec cette coloration double , les bactéries « Gram - positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram - négatif » sont colorées en rose ou en rouge (**Delardas., 2007 ; Makhlouf Sarah et Souane Asmae., 2017**).

3.2.3. Test catalase : Pendant leur respiration aérobie certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) celui - ci est très toxique et certaines bactéries sont capable de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase . Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction dans la (**figure 02**).

Ce test a pour but de différencier les bactéries lactiques (catalase -) des entérobactéries (catalase +) . Une colonie est mise en suspension avec une ou deux gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène (10 volumes) sur une lame

La réaction positive se traduit par un dégagement immédiat de bulles de gaz (O_2) (**Marchal et al., 1991 ; Makhlouf Sarah et Souane Asmae., 2017**).

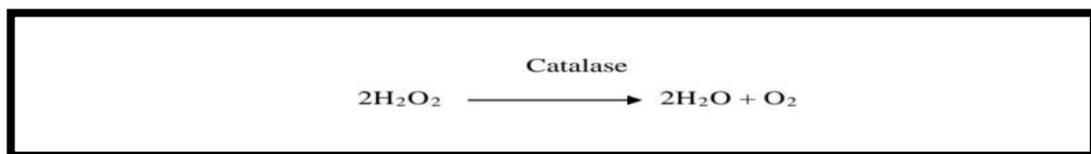


Figure 05: l'équivalence du test de catalase.

3.3.Conservation des souches :

3.3.1. Conservation à courte durée :

Elle consiste par ensemencement des souches isolées sur gélose MRS inclinée en tubes à essais, les cultures pures sont conservées à +4°C à l'obscurité et un repiquage est nécessaire toutes les quatre semaines (**Badis et al., 2003 ; Makhlouf Sarah et Souane Asmae., 2017**).

3.3.2. Conservation à longue durée :

Elle se fait par ensemencement des souches dans des eppendorfs, les cultures lactiques jeunes à raison de 70% additionné de 30% de glycérol et on les place dans le congélateur à -20°C (**Badis et al., 2003 ; Makhlouf Sarah et Souane Asmae., 2017**).

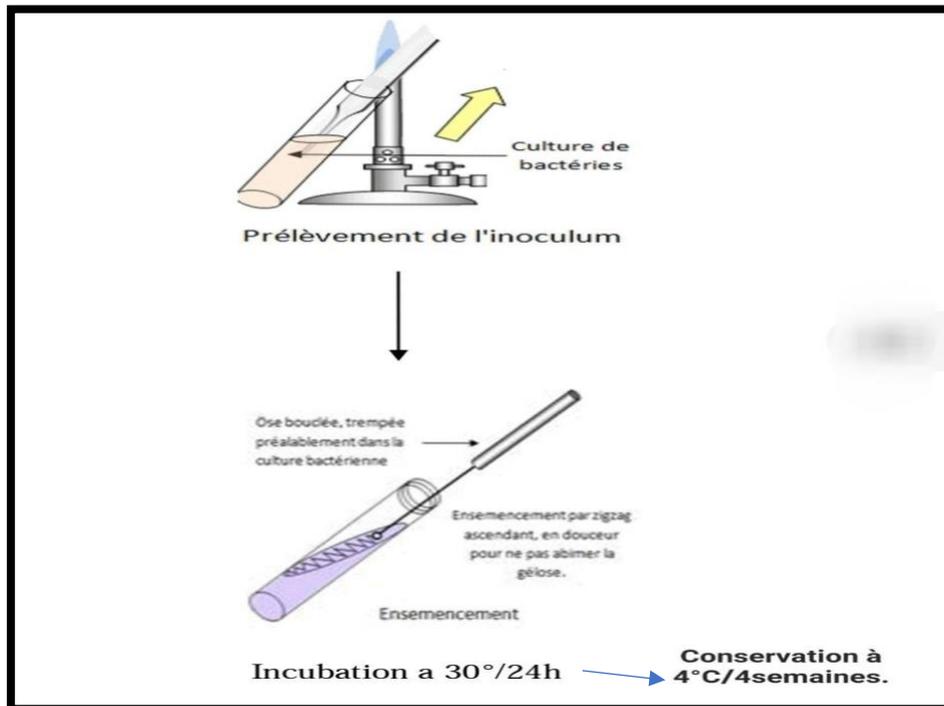


Figure 06: Schéma de conservation à courte durée des bactéries lactiques purifiées (Badis et al., 2003).

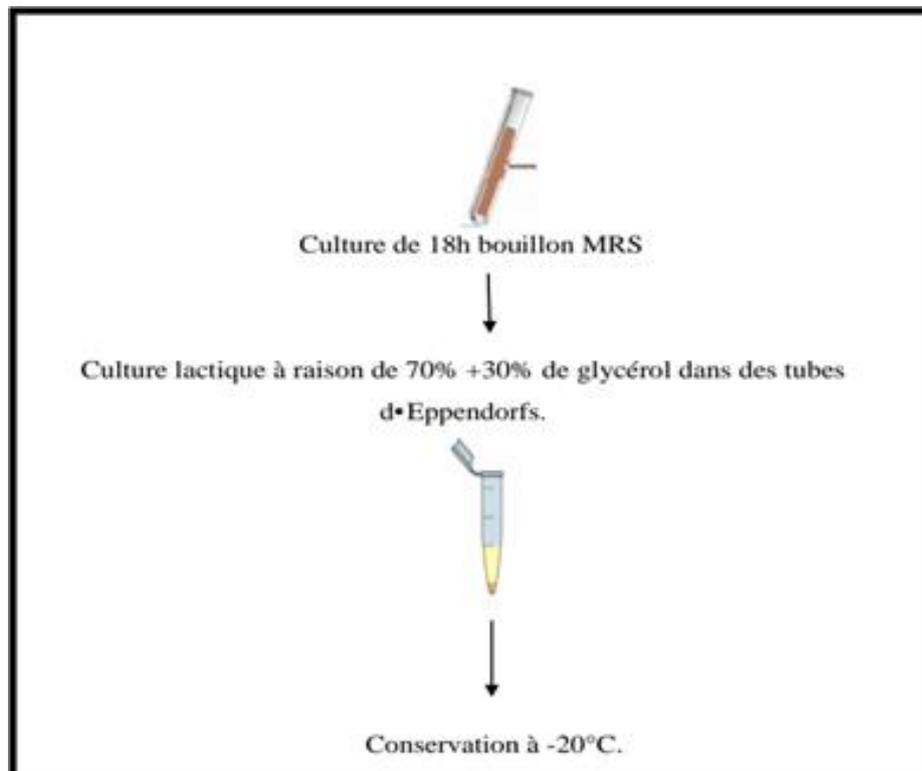


Figure 07 : Schéma de conservation longue durée des bactéries lactiques purifiées (Badis et al., 2005).

3.4. Détermination de la cinétique de croissance de la souche en présence de l'inuline:

Selon le protocole de **Su et al. (2007)**, brièvement, les milieux MRS en présence (contrôle positif) ou en absence (contrôle négatif) de glucose, additionnés d'inuline (effet prébiotique) sont répartis chacun dans des flacons à raison de 100 mL/flacon puisensemencés en monoculture par la souche bénéfique à raison de 1% (V/V) de façon à avoir une concentration finale de $1 \cdot 10^7$ UFC/mL. Les flacons sont incubés en anaérobiose à 37°C pendant 48 h (**Su et al., 2007**). La cinétique de croissance des souches bénéfiques (*Lactobacillus plantarum*) est déterminée par la mesure de la densité optique (DO) à 600 nm au spectrophotomètres par dénombrement sur milieux solides (**Fig.05**). Un échantillon est recueilli au démarrage de la culture (0h); puis des prélèvements sont effectués régulièrement (après 3h, 6h, 9h, 12h, 24h et 48h) pour suivre la biomasse produite .

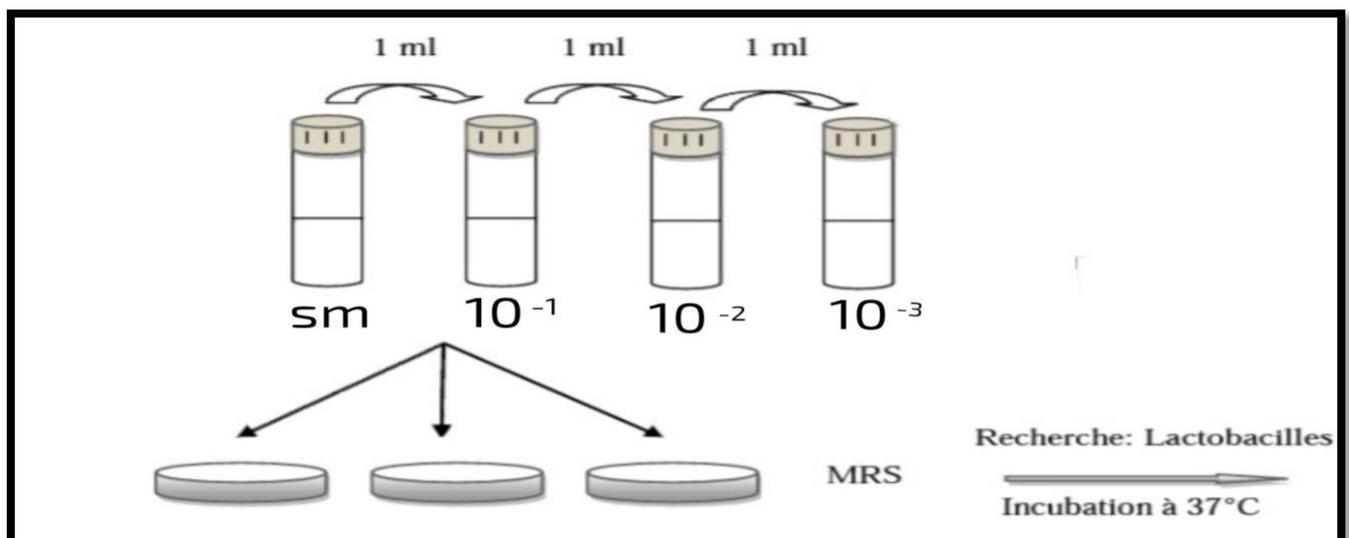


Figure 08: Protocole de dilution des souches lactiques

Partie 03 :

Résultats et discussion

Partie III : Résultats et Discussion

1. Confirmation de la pureté des souches et leur appartenance au groupe lactique :

Lors de cette étude la confirmation de l'identité des souches est faite par les procédures phénotypiques conventionnelles basées sur les tests morphologiques et physiologiques .

L'observation macroscopique du développement des bactéries lactiques dans le milieu MRS liquide est représentée sous forme de trouble homogène dense après 24 heures et 18 heures d'incubation. (Figure 09)

Quant au milieu MRS solide , les souches ont donnés des colonies lenticulaires parfois circulaires , de petites tailles à moyennes d'environ 1mm de diamètre , blanchâtres ou laiteuses , avec un pourtour régulier et lisse après 24 heures et 18 heures d'incubation. (Figure 10)

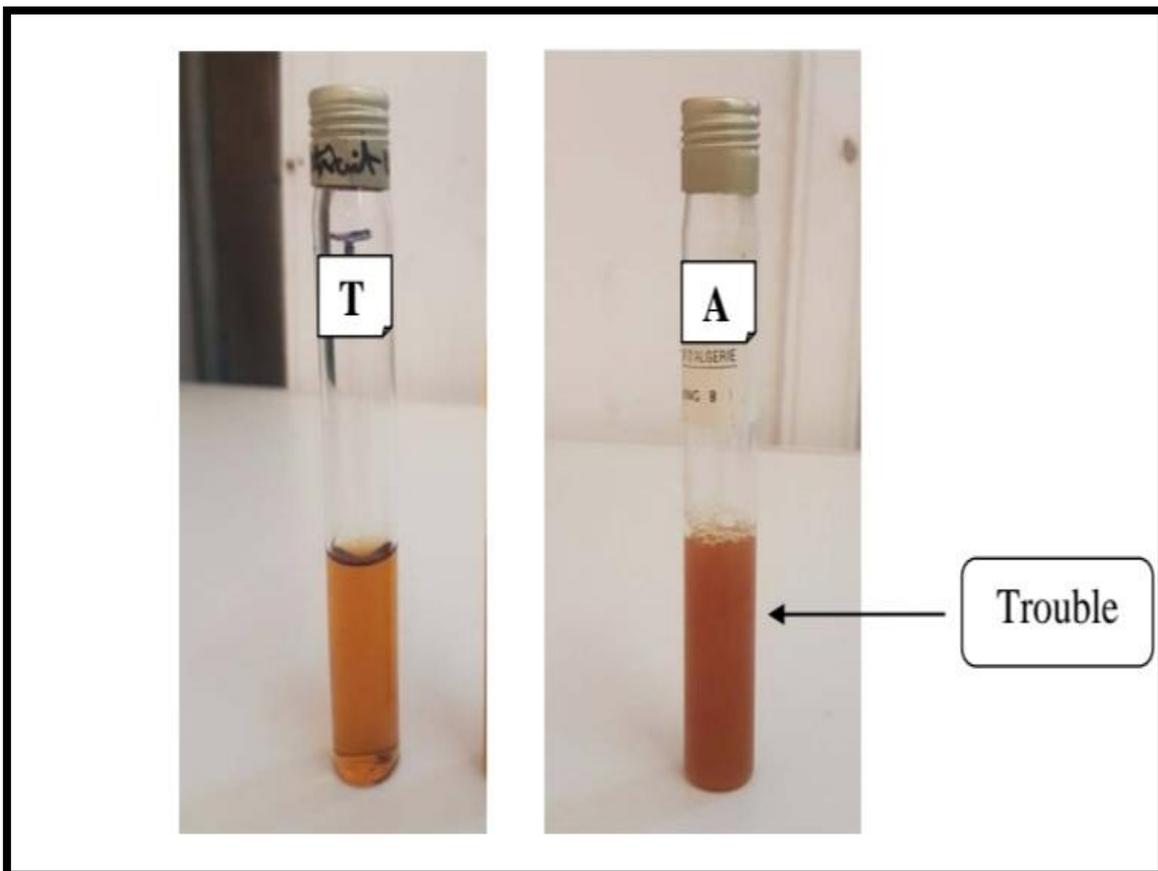


Figure 09 : Aspect des souches lactiques pures en milieu MRS liquide.

T : Témoin

A : Culture microbienne

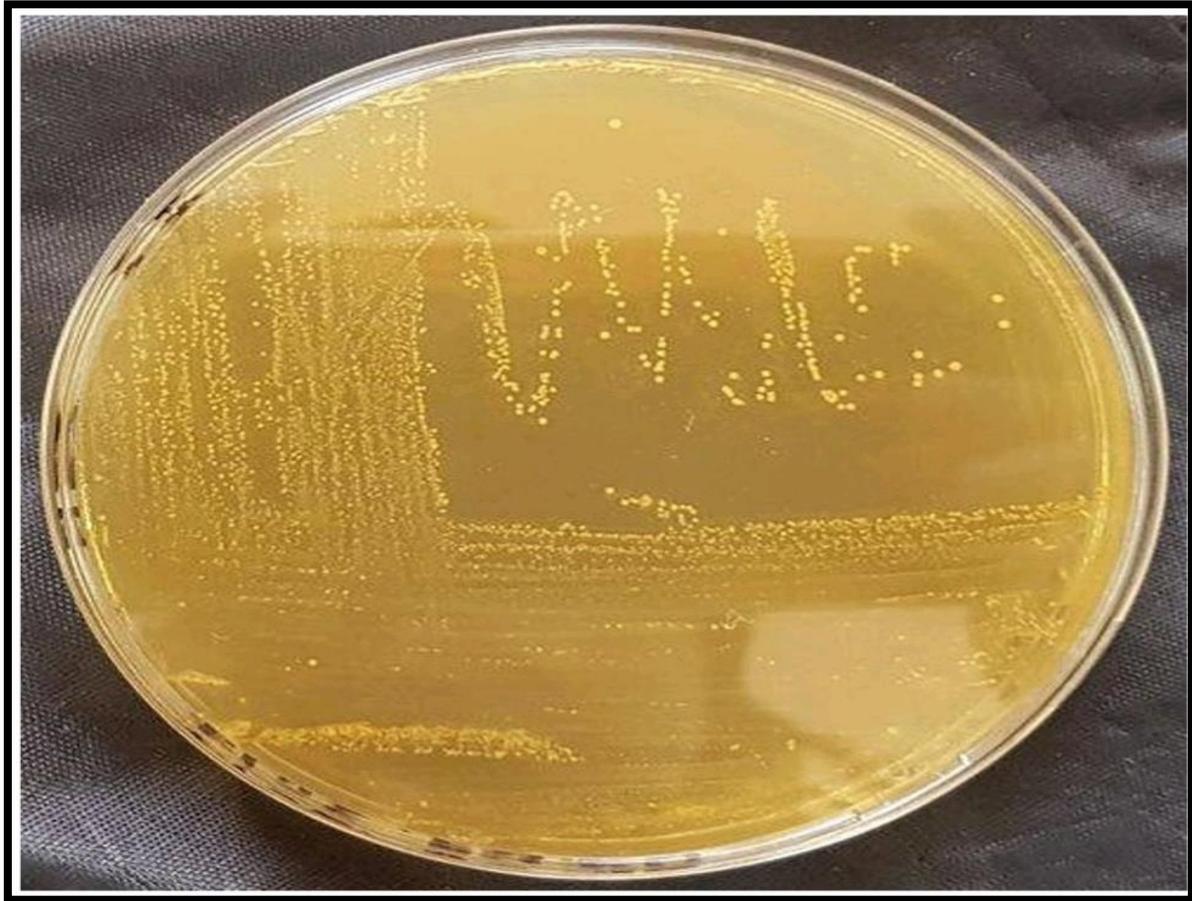


Figure 10 : Aspect macroscopique des souches lactiques en milieu MRS solide .

Pour les test de catalase et la coloration de Gram ; la souche lactique n'a pas présenté d'activité catalase (absence de dégagement gazeux (O₂) donc elle est bien catalase négative et lors de l'observation microscopique après coloration de Gram la souche est bien Gram positif avec une forme allongé de la cellule (Bacille) et les résultats sont représentées dans les figures **11** et le **tableau N 03**.

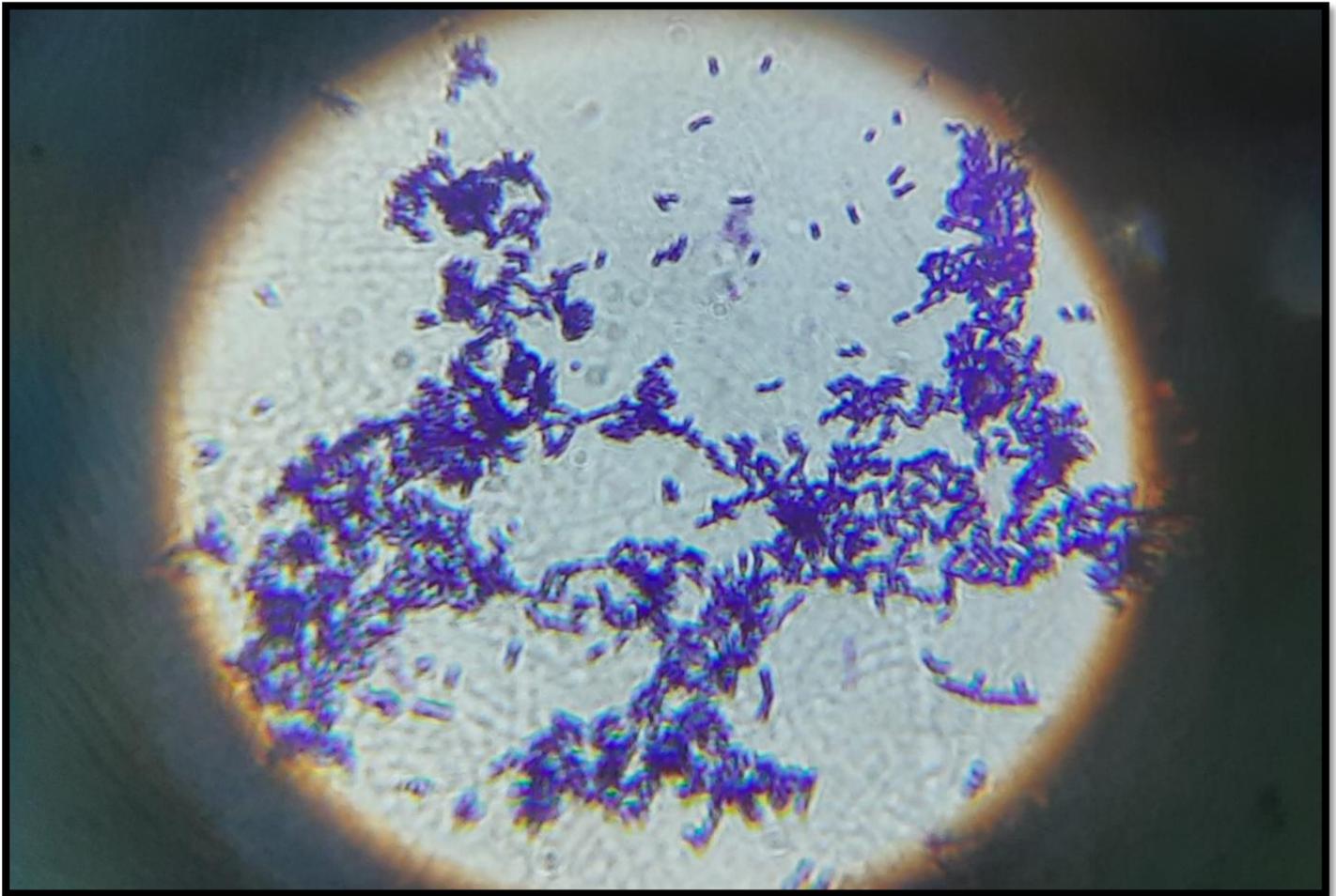


Figure 11 :Observation microscopiques de bactérie lactique après une coloration de Gram avec un grossissement (G : x100).

Tableau 03 : Résultats de l'étude morphologique

souche	Forme	Températures de croissante	Gram	Catalase
LbN14	bacille	37°	<i>Positive</i>	<i>Négatif</i>

2. Résultats de l'effet d'inuline sur croissance de la souche lactique:

Dans le but d'étudier l'effet de l'inuline sur la croissance de *Lactobacillus planatrum* isolées de lait de vache, a été étudiée sur le milieu MRS à 37°C pendant 24 heures, et le suivi de la cinétique de croissance de la souche a été établi sur différents milieux de culture en présence et en absence de l'inuline . Les résultats obtenues sont représentés dans **la figure 12**.

Partie III : Résultats et Discussion

La souche LbN14, présente une très bonne croissance sur milieu (MRS g: Témoin positif) dont la seule source de Carbone est le glucose avec une phase d'adaptation ($\mu=0$) très rapide pour entrer en phase exponentiel et atteindre le seuil de sa phase stationnaire ($\mu_{\max} g= 0,14$ avec D.O = 2.03 à 600nm) au bout de 16h d'incubation à 37°C . Par contre, sur le Milieu (MRS sg: Témoin négatif) qui ne contient aucune source de carbone; la souche démontre clairement une très lente croissance avec une phase d'adaptation ($\mu=0$) très longue jusqu'à 8h, aussi la phase exponentiel ne présente pas d'accélération même au bout de 24h ($\mu_{\max} sg = 0,01$) avec une DO de 0,5. En présence de L'inuline , la croissance de la souche est plus ou moins importante car la phase exponentielle est rapidement atteinte au bout de 4h et l'accélération de la croissance est claire comparée au témoin négatif avec $\mu_{\max} I = 0,07$.

En effet, le Glucose est un glucide simple et c'est l'hydrate de carbone le plus rapidement métabolisable (**Vander stel et al., 2018**) Contrairement à l'inuline qui est un glucide complexe et c'est un polymère composé principalement d'une chaîne de fructose se terminant par une liaison (2→1) reliant un α -D-glucose à cette chaîne. Les unités de fructose des inulines sont reliées par un lien glucosique β (2 → 1) ainsi la supplémentation alimentaire avec des prébiotiques peut aboutir à la stimulation de la croissance des bactéries bénéfiques telles que les lactobacilles et les bifidobactéries dans le tractus gastro-intestinal humain (**Quigley., 2010**).

Les résultats se rapprochent de plusieurs études **Menne et al., (2000)** ; **Van de Wiele et al., (2004)** ; **Pompei et al., (2008)** qui présentait l'inuline comme le prébiotique favori dans la stimulation de la croissance des bifidobactéries (**Keddari., 2014**).

Dans le présent travail, cet effet prébiotique n'est pas observé en comparant la croissance de la souche au témoin positif ou le taux de croissance été le double avec la présence de glucose qu'en présence d'inuline seule. Ceci pourrait être dû à l'absence des enzymes spécifiques d'hydrolyse de ce substrat et/ou à la complexité de sa composition. D'autres travaux **Su et al., (2007)** ont fait la même observation sur l'inefficacité de l'inuline à stimuler la croissance des deux souches *Bifidobacterium animalis lactis* B94 et *Lactobacillus acidophilus* L10 (**Keddari., 2014**).

Partie III : Résultats et Discussion

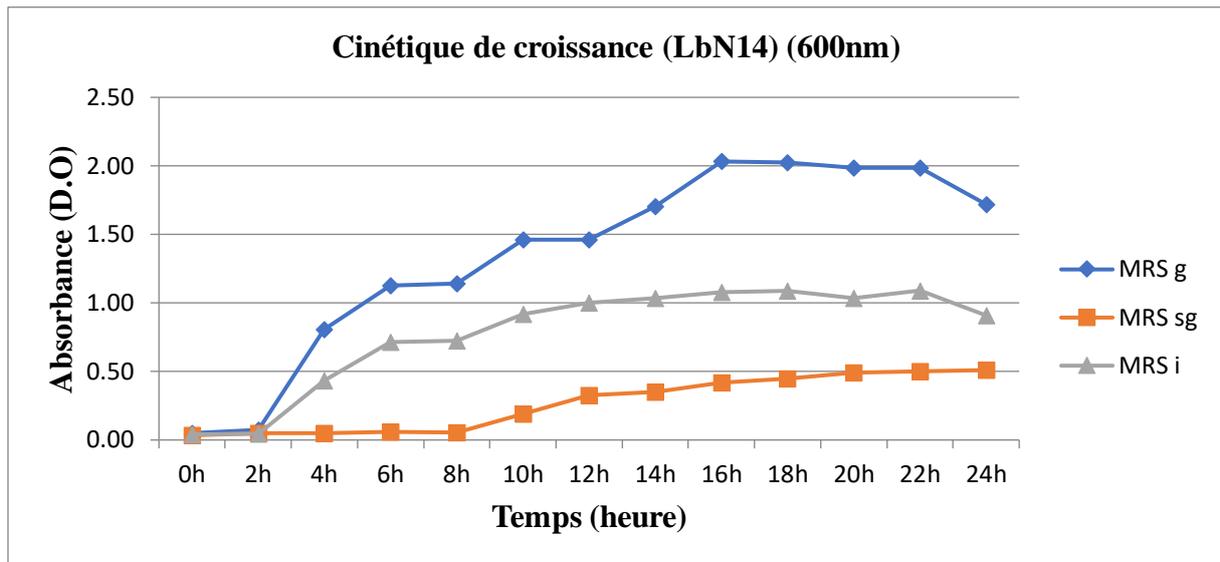


Figure 12: Courbes de croissance de la souche lactique LbN14 testée en présence et absence d'inuline.

MRS g : MRS + glucose **MRS SG :** MRS sans glucose **MRS I :** MRS + inuline

Les résultats obtenus lors du dénombrement de la souche lactique testée en présence et en absence de l'inuline démontrent les résultats suivant représentés dans la **figure 13**:

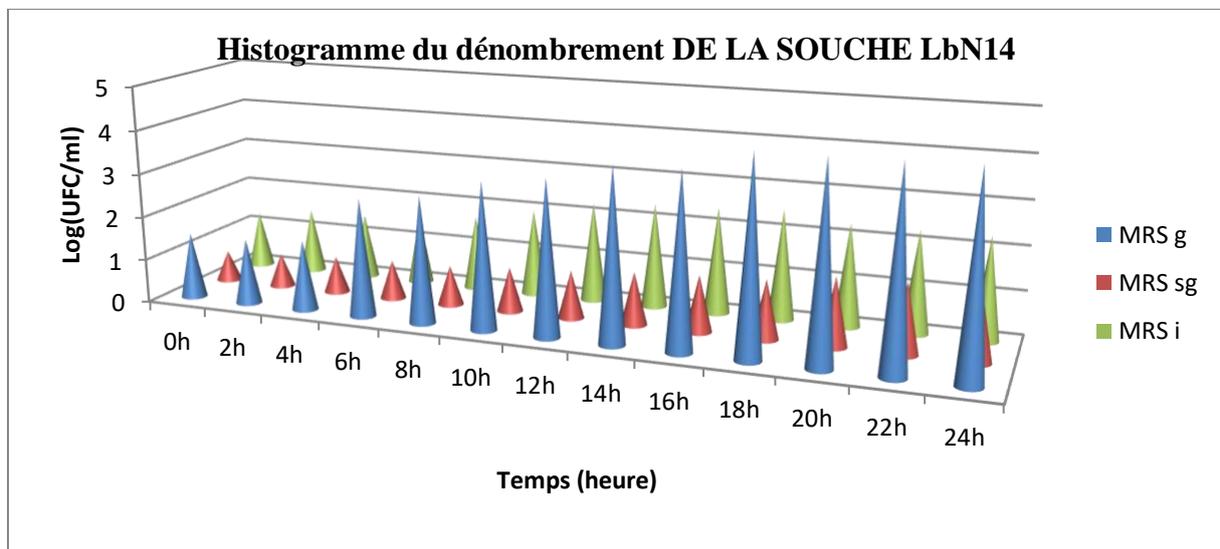


Figure 13 : Résultats du dénombrement de la souche LbN14 sur milieu de culture solide en présence et absence d'inuline.

MRS g : MRS + glucose **MRS SG :** MRS sans glucose **MRS I :** MRS + inuline

Partie III : Résultats et Discussion

Une croissance de la souche LbN14 est observée dans les trois milieux de manière progressive, et ce dans les 4 premières heures d'incubation: . Après 04 heures d'incubation, il y a une augmentation importante et rapide de la croissance bactérienne dans le milieu MRS riche en glucose ou la souche atteint 0.5×10^3 UFC/ml au bout de 6h d'incubation ; un ralentissement de la croissance de cette même souche sur le milieu sans glucose en absence d'inuline ; alors qu'en présence d'inuline la croissance est plus améliorée qu'en absence de glucose et d'inuline avec $0,5 \times 10^2$ UFC/ml (6h) . Les résultats obtenus sont donc en adéquation avec les résultats obtenus de la cinétique de croissance et concorde exactement ce qui nous permet de dire que dans l'ensemble des résultats obtenus, et en comparaison aux milieux témoins choisis , il apparaît que l'inuline améliore la cinétique de croissance et la multiplication des bactéries lactiques.

Ces résultats se rapprochent de plusieurs autres études similaires, sur l'effet de l'inuline sur la cinétique de croissance de certaines bactéries lactiques, à savoir les résultats de **Eissa et al., (2018)** qui prouve que La supplémentation en inuline a conduit à une stimulation remarquable de la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* (**Eissa et al., 2018 ; BEDDAICHE et LAZREUG., 2020**).

Aussi selon d'autres études, sur la différence dans la numération de *L. bulgaricus* entre les groupes d'échantillon de yaourt avec addition d'inuline (G3, G4, G5, G6, G8 et G9) et les groupes sans inuline (G1 et G7) peut être dû au fait que l'inuline fournit des nutriments supplémentaires, du carbone et de l'énergie, essentiels pour favoriser la croissance des bactéries de la culture de démarrage et qu'elle protège les cellules des lésions dues à l'acide (**Desai et al., 2004 ; Makras et al., 2005 ; Capela et al., 2006 ; Aryana et al., 2007 ; Donkor et al., 2007 ; Mayo et al., 2010 ; BEDDAICHE et LAZREUG., 2020**).

supplémentaires, du carbone et de l'énergie, essentiels pour favoriser la croissance des bactéries de la culture de démarrage et qu'elle protège les cellules des lésions dues à l'acide (**Desai et al., 2004 ; Makras et al., 2005 ; Capela et al., 2006 ; Aryana et al., 2007 ; Donkor et al., 2007 ; Mayo et al., 2010 ; BEDDAICHE et LAZREUG., 2020**).

Dans une autre étude, pour **Su et al., (2007)**, concerne l'identification de nouveaux prébiotiques qui pourraient être utilisés pour améliorer la survie et maintenir la persistance de trois souches probiotiques représentatives dans un modèle murin *in vivo*, dont les résultats démontrent l'utilisation potentielle des FOS, de l'inuline et des SOS comme prébiotiques en

Partie III : Résultats et Discussion

conjonction avec les souches probiotiques L10, B94 et L26 comme de nouveaux produits synbiotiques (**Su et al., 2007 ; BEDDAICHE et LAZREUG., 2020**).

Par ailleurs, les ingrédients prébiotiques comme l'inuline peuvent exercer un effet protecteur, améliorant la survie et l'activité des bactéries probiotiques pendant le stockage des produits alimentaires probiotiques, ainsi que pendant le passage dans la TIG (**Donkor et al., 2007c ; Buriti et al., 2010 ; Hernandez-Hernandez et al., 2012**).

L'inuline fait toujours partie des prébiotiques les plus utilisés. En fait, l'inuline, l'oligofructose et les FOS ont été largement étudiés en tant que prébiotiques, mais l'inuline est la plus largement utilisée et la plus efficace pour de nombreux types de probiotiques (**Cardarelli et al., 2008**). Elle a donc des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, comme la modulation du métabolisme des lipides, l'amélioration de l'absorption du calcium, l'amélioration du système immunologique et la modification de la fonction intestinale (**Marteau et al., 2011**). Elle est reconnue comme un ingrédient alimentaire naturel dans toute l'Union européenne et a obtenu le statut "Generally Recognized as Safe" (GRAS) aux États-Unis (**Abed et al., 2016**).

L'inuline peut être utilisée soit pour ses avantages nutritionnels, soit pour ses propriétés technologiques et fonctionnelles, mais elle est souvent appliquée pour offrir un double avantage : amélioration des propriétés sensorielles, substitut de graisse, substitut de sucre, émulsion, faible teneur en calories et stabilisateur de mousse (**Franck., 2007 ; González-Herrera et al., 2015**).

Conclusion

Conclusion

Conclusion :

La souche LbN14 étudiée dans ce travail , présente une très bonne croissance sur milieu (MRS g: Témoin positif) contrairement au Milieu (MRS sg: Témoin négatif) qui ne contient ni glucose ni inuline et où la souche démontre clairement une très lente croissance avec une phase d'adaptation ($\mu=0$) très longue jusqu'à 8h, avant d'atteindre la phase exponentielle n'apparaît pas ni présente d'accélération même au bout de 24h ($\mu_{\max} \text{ sg} = 0,01$) avec une DO de 0,5 alors qu'en présence de L'inuline , la croissance de la souche est plus ou moins importante car la phase exponentielle est rapidement atteinte au bout de 4h et l'accélération de la croissance est claire comparée au témoin négatif avec $\mu_{\max} \text{ I} = 0,07$.

Les résultats du dénombrement des cellules viables sur milieu solide obtenues sont en adéquation avec les résultats de la cinétique de croissance et concorde très bien . La souche LbN14 est dénombrée dans les trois milieux et les résultats sont variables avec multiplication progressive, selon le milieu considéré pendant les 4 premières heures d'incubation, Ensuite , il y a une augmentation importante et rapide de la croissance bactérienne dans le milieu MRS riche en glucose où la souche atteint $0,5 \times 10^3$ UFC/ml au bout de 6h d'incubation ; un ralentissement de la croissance de cette même souche sur le milieu sans glucose en absence d'inuline ; alors qu'en présence d'inuline la croissance est plus au moins améliorée qu'en absence de glucose et d'inuline avec $0,5 \times 10^2$ UFC/ml (6h) .

A la lumière des résultats de notre étude, nous concluons que l'inuline contribue à l'augmentation de la croissance de la souche *Lactobacillus planatrum* et a un réel rôle dans l'amélioration de sa cinétique de croissance si les conditions nécessaires sont réunies, et Une meilleure compréhension des mécanismes de protection conférés par les prébiotiques aux probiotiques permettra d'améliorer encore plus leurs effets bénéfiques sur la santé de l'homme.

En perspective, il serait intéressant de mettre en évidence l'effet des prébiotiques les plus connues (inuline, pectine) ou d'autres sources de fibre alimentaires (farine de soja ou d'autres graines) par des tests in vitro sur la survie des bactéries probiotiques fraîchement isolées à partir de lait de vache afin de confirmer ces résultats préliminaires.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Abed, S.M., Ali, A.H., Noman, A., SobiaNiazi, Alfarga Ammar, Bakry, A.M. (2016). Inulin as Prebiotics and its Applications in Food Industry and HumanHealth; A Review. IJAIR. 5(1): 88-97.

AurélieBiron-Paumard . Prébiotiques et probiotiques travaillent en symbiose pour protéger notre système digestif.

AFSSA. (2003). Alimentation infantile et modification de la flore intestinale. Rapport du groupe de travail. <http://www.afssa.fr>.

B

Badis A., Guetarni D., Kihal M., Boudjemaa M. (2003). « Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races ». In Food and microbiology, 579-588.Mémoire de master, Nutrition et pathologie . Page 25.

Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». Sci. Technol., 23:30-37.Mémoire de master, Nutrition et pathologie . Page 25.

C

Cardarelli, H.R., Buriti, F.C.A., Castro, I.A., Saad, S.M.I. (2008). Inulin and Oligofructose ImproveSensoryQuality and Increase the Probiotic Viable Count in PotentiallySynbiotic Petit Suisse Cheese. LWT - Food Sci. Technol. 41(6): 1037-1046.

Cherbut , 2003, flore intestinale et favorise donc leur développement.

<https://www.futura-sciences.com> › al...

D

Delarras, C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits.Mémoire de master, Nutrition et pathologie . Page 26.

Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2007a). a-Galactosidase and proteolyticactivities of selectedprobiotic and dairy cultures in fermentedsoymilk. Food Chemistry 104, 10e20.

Donkor, O.N., Nilmini, S.L.I., Stolic, P., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2007c). Survival and activity of selectedprobioticorganisms in set-type yoghurt during cold

Références Bibliographiques

storage. *International Dairy Journal* 17, 657-665. Mémoire de master, Nutrition et pathologie . Page 35.

E

Eissa S.A., Elbarbary H.A., Ekbal, M. A. Ibrahim, et Hamdi, A. Mohammed. (2018). **Growth Pattern of Starter Cultures and Antifungal Activity of Some Bacteriocins and Inulin in Skim Milk Yoghurt.** *Alexandria Journal of Veterinary Sciences (AGVS)* Vol. 59 (2). Mémoire de master, Nutrition et pathologie . Page 33-34 .

Enseignements du 8^e international yakult symposium ,2015)

<https://www.ponroy.com/plantes/les-prebiotiques>

Équipe rédactionnelle de Nutrixeal Info, 2021. https://nutrixeal--info-fr.cdn.ampproject.org/v/s/nutrixeal-info.fr/index/inuline/amp/?amp_gsa=1&_js_v=a9&usqp=mq331AQKKAFAQArABIIACAw%3D%3D#amp_tf=Source%20%3A%20%251%24s&aoh=16627449879155&referrer=https%3A%2F%2Fwww.google.com&share=https%3A%2F%2Fnutrixeal-info.fr%2Findex%2Finuline%2F.

Équipe de recherche de l'université colorado , 2017. University of Colorado Boulder

<https://phet.colorado.edu/team>

Notre équipe - PhET - University of Colorado Boulder

Out of the office, Kathy enjoys biking and hiking in Colorado's great

F

Frank A. (2002). **Prébiotiques.** In *Aliments fonctionnels*, Roberfroid M (coordonnateur) Editions Tec & Doc, Collection Sciences & Techniques Agroalimentaires, Lavoisier, Paris, 105-123.

J

Jdecampos ,2021. <https://www.aquaportail.com/definition-13175-prebiotique.html>

K

Références Bibliographiques

Keddari, 2014, BEDDAICHE et LAZREUG , 2020.Substances prébiotiques et aptitudes fermentaires des bifidobactéries. Thèse de doctorat, Nutrition humaine. Univer. Mostaganem . Mémoire de master, Nutrition et pathologie . Page 21 .

M

Mannu, L., Comunian, R. and Scintu, M.F. (2000a)Mesophilic lactobacilli in Fiore Sardo cheese: PCR-identification and evolution during cheese ripening. **International Dairy Journal 10, 383-389.**

Marchal N., Bourdon J.L, Richard, C.L. (1991). « Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries » .3^{ème} Ed. , Doin éditeurs, Paris

Marteau, P., Jacobs, H., Cazaubiel, M., Signoret, C., Prevel, J.-M., Housez, B. (2011). Effects of Chicory Inulin in Constipated Elderly People: A Double-blind Controlled Trial. **Int. J. Food Sci. Nutr. 62: 164-170.**

Maria Patricia Pinero Corredor, 2022.<https://amelioresante.com/inuline-quest-ce-que-cest-benefices-et-effets-secondaires>.

Marcel Roberfroid, 1995.<https://www.pensersante.fr/leffet-bifidogene-des-prebiotiques>.

Mussato et al, 2007.<https://www.pileje.fr/revue-sante/benefices-prebiotiques-sante#:~:text=Les%20pr%C3%A9biotiques%20constituent%20en%20effet,la%20sant%C3%A9%20de%20l'h%C3%B4te>.

Q

Quigley E.M.M. (2010). Prebiotics and probiotics; modifying and mining the microbiota. **Pharmacological Research; 17: 259-275.**

S

Singleton, P. 1999.Bactériologie. 4^{ème} Edition. Dunod, Paris. 317 pages.

Su P., Henriksson A., et Mitchell H. (2007). Prebiotics enhance survival and prolong the retention period of specific probiotic inocula in an in vivo murine model . **Journal compilation. The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology 103 : (9) 2392–2400.** Mémoire de master, Nutrition et pathologie . Page 40.

Références Bibliographiques

Su P., Henriksson A., et Mitchell H. (2007). Selected prebiotics support the growth of probiotic mono-cultures in vitro. *Anaerobes*; 13:134:139. Mémoire de master, Nutrition et pathologie . Page 41.

SEBSTIANEKAULITIZKI ,2022<https://www.futurasciences.com/sante/dossiers/gastronomie-lait-cru-pasteurise-tradition-hygiene-1712/page/5/>

V

Van der Stel AX, van de Lest CHA, Huynh .(2018).. Catabolite repression in *Campylobacter jejuni* correlates with intracellular succinate levels. *Environ Microbiol* 2018 ; 20 : 1374–1388.

Vincent Garcia, 2021. maladies intestinales inflammatoires vitro Kinetic analysis of oligofructose consumption by *Bacteriodes*, *Bifidobacterium* spp. indicates different degradation mechanisms. *Appl Environ Microbiol* ;721 : 006-1012.