



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Abdelhamid Ibn Badis –Mostaganem

جامعة عبد الحميد بن باديس- مستغانم

Faculté Science de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département d'Agronomie

قسم العلوم الزراعية

Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques

Option

**<< Hygiène et Sécurité Alimentaire >>**

Présenté le 18 mars par Mr :

**MOUSSAOUI BADR-EDDINE**

***EFFETS DES FIBRES DE CAROUBE SUR LE  
DEVELOPPEMENT ET LA SURVIE POST-  
FERMENTAIRE DES SOUCHES BENEFIQUES SUR  
MILIEU LAIT ECREME***

*Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé*

(LMBAFS)

**Composition du jury de soutenance**

<b>Nom et Prenom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>	<b>Appartement administrative</b>
<b>Halbouche Miloud</b>	Pr	Président	Université de Mostaganem
<b>Benali Mohamed</b>	Pr	Examineur	Université de Sidi-Bel-Abbes
<b>Dilmi Bouras Abdelkader</b>	Pr	Examineur	Université de Chlef
<b>Riazi Ali</b>	Pr	Directeur de mémoire	Université de Mostaganem

**Année Universitaire 2013-2014**

## **Table des matières**

« Effets des fibres de caroube sur le développement et la survie de souches bénéfiques sur milieu lait écrémé »

Avant-propos

Dédicaces

Résumé

Abstract

Listes des tableaux et figures

Liste des abréviations

**Page**

**Introduction..... 01**

### **Chapitre I: Revue bibliographique.**

**I.1. Les fibres alimentaires..... 03**

**I.1.1. Historique et définition ..... 03**

**I.1.2. Classification des fibres ..... 04**

I.1.2.1. Les fibres solubles ..... 04

I.1.2.2. Les fibres insolubles ..... 04

**I.1.3.Les principales fibres ..... 04**

I.1.3.1. La cellulose..... 04

I.1.3.2. Les hémicelluloses ..... 05

I.1.3.3. Les substances pectiques ..... 07

I.1.3.4. La lignine..... 12

I.1.3.5. Les gommes..... 12

I.1.3.6. Les substances présentant des propriétés de fibre ..... 14

**I.1.4. Les méthodes de dosage des fibres alimentaires..... 15**

**I.1.4.1. Les méthodes gravimétriques..... 15**

I.1.4.1.1. Les méthodes gravimétriques chimiques..... 15

I.1.4.1.2. Les méthodes gravimétriques enzymatiques ..... 16

**I.1.4.2. Les méthodes directes ou Méthodes enzymatiques-chimiques ..... 16**

**I.1.4.3. Dosage par spectrophotométrie dans le proche**

**infra rouge –spir ..... 17**

### **I.1.5. Sources, apports conseillés et état actuel de la consommation**

**des fibres..... 17**

### **I.1.6. Propriétés physico-chimiques des fibres ..... 19**

**I.1.6.1.La solubilité..... 19**

**I.1.6.2. Propriétés d’hydratation ..... 20**

**I.1.6.3. Pouvoir viscosifiant et gélifiant ..... 21**

**I.1.6.4. Capacité d’échange cationique et d’adsorption de  
molécules organiques ..... 21**

**I.1.6.5. Fermentescibilité ..... 21**

### **I.1.7. Utilisation technologique et rôles physiologiques des fibres..... 23**

**I.1.7.1. La fermentation des fibres..... 23**

**I.1.7.2. Effets sur la digestion..... 24**

**I.1.7.3. Effets sur le métabolisme ..... 25**

**I.1.7.4. Effet immunitaire ..... 25**

**I.1.7.5. Effets sur les pathologies ..... 25**

### **I.2. Les aliments fonctionnels (probiotiques et prebiotiques). ..... 26**

#### **I.2.1. Les aliments fonctionnels..... 26**

**I.2.1.1. L’écosystème gastro-intestinal ..... 26**

**I.2.1.2. Le microbiote intestinal (microflore intestinale) ..... 28**

**I.2.1.3. Distribution des bactéries dans le tube digestif humain ..... 28**

**I.2.1.4. Colonisation du tube digestif..... 29**

**I.2.1.5. Les principaux facteurs influençant le microbiote intestinal..... 29**

**I.2.1.6. Fonctions de la flore intestinale ..... 30**

#### **I.2.2. Les probiotiques ..... 30**

**I.2.2.1. Historique et définition ..... 30**

**I.2.2.2. Les types de micro-organismes ..... 31**

**I.2.2.2.1. Les bactéries lactiques ..... 31**

**I.2.2.2.2. Levures (*Saccharomyces boulardii*) ..... 36**

**I.2.2.3. Les critères de sélection des probiotiques ..... 36**

**I.2.2.4. La dose recommandée..... 37**

**I.2.2.5. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé..... 37**

#### **I.2.3. Les prebiotiques..... 40**

**I.2.3.1. Définition..... 40**

**I.2.3.2. Principaux prebiotiques..... 40**

I.2.3.2.1. L'inuline et les fructo-oligosaccharides.....	40
I.2.3.2.2. Les galacto-oligosaccharides (GOS) .....	42
I.2.3.2.3. Les oligosaccharides de soja.....	44
I.2.3.2.4. Lactulose.....	44
I.2.3.2.5. Autres prébiotiques.....	45
<b>I.2.3.3. Critères de sélection .....</b>	<b>45</b>
<b>I.2.4. Les synbiotiques.....</b>	<b>46</b>

## **Chapitre II: Matériels et méthodes.**

<b>II.1. Nature et origine des souches.....</b>	<b>47</b>
<b>II.1.1. Les bactéries lactiques.....</b>	<b>47</b>
<b>II.1.2. Les souches bénéfiques.....</b>	<b>47</b>
<b>II.2. Vérification de l'identité des souches .....</b>	<b>47</b>
<b>II.3. Préparation de la poudre de gousses et extraction des fibres</b>	
<b>de caroube.....</b>	<b>47</b>
<b>II.3.1. Analyse de l'extrait.....</b>	<b>48</b>
II.3.1.1. Dosage des fibres brutes (cellulose brute).....	48
<b>II.3.2. Propriétés physicochimiques de l'extrait .....</b>	<b>50</b>
II.3.2.1. Mesure du pH .....	50
II.3.2.2. Détermination de la capacité de gonflement .....	50
II.3.2.3. Détermination de la capacité de rétention d'eau .....	50
II.3.2.4. Détermination de la capacité de liaison d'eau .....	50
II.3.2.5. Détermination de la capacité de rétention d'huile.....	51
<b>II.4. Préparation du lait et choix des concentrations utilisées .....</b>	<b>51</b>
<b>II.5. Les milieux de cultures utilisés et les conditions de croissance .....</b>	<b>51</b>
<b>II.5.1. Les ferments lactiques .....</b>	<b>52</b>
<b>II.5.2. Les souches bénéfiques.....</b>	<b>52</b>
<b>II.6. La culture des deux ferments lactiques (<i>Streptococcus thermophilus</i></b>	
<b>et <i>Lactobacillus bulgaricus</i>) en présence d'une souche bénéfique.....</b>	<b>53</b>
<b>II.7. Détermination de la cinétique de croissance .....</b>	<b>54</b>
<b>II.8. Détermination de la cinétique d'acidification .....</b>	<b>54</b>
<b>II.9. Détermination de la post-acidification du lait fermenté</b>	
<b>conservé à 4°C.....</b>	<b>55</b>
<b>II.10. Détermination de la survie des souches bactériennes dans</b>	
<b>le lait fermenté entreposé à 4°C .....</b>	<b>55</b>

**II.11. Analyse statistique des résultats ..... 55**

**Chapitre III: Résultats et discussion.**

<b>III.1. Identification des souches.....</b>	<b>56</b>
<b>III.2. Le rendement d'extraction des fibres de caroube.....</b>	<b>56</b>
<b>III.2.1. Teneurs en fibres brutes de la pulpe de caroube.....</b>	<b>56</b>
<b>III.2.2. Les caractéristiques de l'extrait de fibres de caroube .....</b>	<b>59</b>
III.2.2.1. Le pH.....	59
III.2.2.2. Les propriétés d'hydratation des fibres de caroube. ....	59
<b>III.3. Effets de différentes concentrations d'extrait de fibre de caroube sur la cinétique de croissance des souches et d'acidification du lait. ....</b>	<b>61</b>
<b>III.3. 1. Effets des fibres de caroube sur la cinétique de croissance des souches.....</b>	<b>61</b>
<b>III.3.1.1. Croissance des souches impliquées dans la coculture ferments lactiques –<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LBRE- LSAS.. .....</b>	<b>62</b>
III.3.1.1.1. Croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i> (ST) en présence de LBRE-LSAS et LB.....	62
III.3.1.1.2. Croissance de <i>Lactobacillus delbreukii</i> subsp bulgaricus (LB) en coculture avec ST et LBRE-LSAS. ....	62
III.3.1.1.3. Croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (LBRE-LSAS) en présence des starters du yaourt (ST et LB). ....	63
<b>III.3.1.2. Croissance des souches impliquées dans la coculture ferments lactiques- <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp <i>lactis</i> Bb12 .....</b>	<b>63</b>
III.3.1.2.1. Croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i> (ST) en présence de Bb12 et LB. ....	63
III.3.1.2.2. Croissance de <i>Lactobacillus delbreukii</i> subsp bulgaricus (LB) en coculture avec Bb12 et ST.....	64
III.3.1.2.3. Croissance de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp <i>lactis</i> (Bb12) en coculture avec ST et LB.....	65
<b>III.3. 2. Effets des différentes concentrations d'extrait de fibres de caroube sur la cinétique d'acidification du lait .....</b>	<b>75</b>
<b>III.3.2.1. Cas de la coculture ferments lactiques – <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LBRE- LSAS .....</b>	<b>75</b>
<b>III.3.2.2. Cas de la coculture ferments lactiques – <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp <i>lactis</i> Bb12.....</b>	<b>75</b>
<b>III.4. Effets des fibres de caroube sur la viabilité post-fermentaire des ferments</b>	

<b>lactiques et des souches bénéfiques et, sur la post-acidification du lait fermenté et entreposé à +4°C pendant 28 jours.....</b>	<b>81</b>
<b>III.4.1.Effets des fibres de caroube sur la viabilité des starters</b>	
<b>(<i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i>) et des souches bénéfiques (<i>L. rhamnosus</i> LBRE-LSAS et <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>) dans les différents yaourts au cours de l'entreposage à 4°C.....</b>	<b>81</b>
<b>III.4.1.1. Viabilité de <i>Streptococcus thermophilus</i> au cours de l'entreposage du yaourt à 4°C.....</b>	<b>81</b>
III.4.1.1.1. Viabilité de <i>Streptococcus thermophilus</i> dans le yaourt contenant <i>L.bulgaricus</i> LB et <i>L. rhamnosus</i> LBRE-LSAS. ....	81
III.4.1.1.2. Viabilité de <i>Streptococcus thermophilus</i> ST dans le yaourt contenant <i>L. bulgaricus</i> LB et <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb12. ....	82
<b>III.4.1.2. Viabilité de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (LB) au cours de l'entreposage du yaourt à 4°C .....</b>	<b>83</b>
III.4.1.2.1. Viabilité de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (LB) dans le yaourt contenant <i>S. thermophilus</i> (ST) et <i>L. rhamnosus</i> LBRE-LSAS. ....	83
III.4.1.2.2. Viabilité de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp <i>bulgaricus</i> LB dans le yaourt contenant <i>Streptococcus thermophilus</i> LB et <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp <i>lactis</i> Bb12.....	84
<b>III.4.1.3. Viabilité de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (LBRE-LSAS) au cours de l'entreposage du yaourt à 4°C.....</b>	<b>85</b>
<b>III.4.1.4. Viabilité de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp <i>lactis</i> Bb12 au cours de l'entreposage du yaourt à 4°C.....</b>	<b>86</b>
<b>III.4.2. Effets des fibres de caroube sur la post-acidification du yaourt contenant les deux ferments lactiques (<i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>) en présence d'une souche bénéfique, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LBRE-LSAS ou <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb12.....</b>	<b>95</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>99</b>
<b>Références bibliographique</b>	

## ***Avant-propos***

*Le présent travail a été réalisé au Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS) du Pr A. Riazi à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem que je remercie pour m'y avoir accueilli et mis à ma disposition les moyens dont il dispose pour mener à bien mon expérimentation.*

*Le sujet que j'ai traité m'a été proposé par le Pr Riazi et fait partie de la thématique de son projet cnepru F02220110021 intitulé « le caroubier : utilisation technologique et effets bénéfiques sur la santé ». Je lui exprime ma reconnaissance pour les enseignements qu'il m'a prodigué, l'encadrement qu'il m'a assuré et pour le temps qu'il n'avait pas et qu'il m'a pourtant consacré.*

*Je voudrais que Mr Halbouche Miloud, Professeur à l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, trouve ici l'expression de mes remerciements les plus chaleureux pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider mon jury.*

*Mr Dilmi Bouras Abdelkader, Professeur à l'université Hassiba Ben Bouali de Chlef, a été mon enseignant en année théorique de cette formation de magister et, avec lui, nous avons appris non seulement des notions scientifiques liées aux enseignements qu'il nous dispensait, mais aussi certaines autres valeurs humaines qui caractérisent ces gens du savoir. Je lui exprime mes vifs remerciements pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Mes remerciements les plus forts sont également adressés à mon enseignant, Mr Benali Mohamed, Professeur à l'université Djillali Liabes de Sidi-Bel-Abbes, pour la formation théorique qu'il nous a dispensé avec cette rigueur qui se raréfie de plus en plus dans notre environnement, et pour avoir trouvé ce qui lui manque le plus, le temps, pour marquer de son empreinte la critique scientifique de ce travail.*

*A toutes ces bonnes gens qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, j'adresse mes chaleureux remerciements.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à ma grand-mère et mes parents, qui m'ont tout donnés sans rien attendre en retour.*

*A mes frères et sœurs, surtout Ahmed et Abdallah, ainsi qu'à toute ma famille sans exception.*

*A la femme de ma vie, à mon épouse Fatiha.*

*A tous mes amis de Dahmouni, de Tiaret, de Msila et de Mostaganem.*

*Ce travail est également dédié à tous ces anonymes de l'ombre dont je me sens tellement proche...*

*Badr-eddine*

### **Résumé :**

Cette étude vise l'exploration des effets des fibres de pulpe de gousses de caroube *Ceratonia siliqua* (L.), extraites par une méthode hydro-thermique, sur la cinétique de croissance et d'acidification des starters du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*) en coculture dans le lait écrémé à 10% (P/V) avec une souche bénéfique à la fois (*Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* Bb12 ou *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS), ainsi que sur la viabilité post-fermentaire de ces souches et la post-acidification du yaourt entreposé 28 jours à 4°C.

Les résultats obtenus montrent que le taux d'amélioration de la croissance des souches bénéfiques par les fibres atteint 11.94% pour *L. rhamnosus* et 7.98% pour *B. animalis* subsp. *lactis*; pendant que celui des starters du yaourt est de 10.93% pour les streptocoques et de 24.66% pour les lactobacilles. La présence des fibres de caroube ne raccourcit pas le temps de coagulation du lait qui, au contraire, est prolongé de 10 à 20 min selon les souches impliquées dans la fermentation; et ceci malgré le pH acide de ces fibres (pH 5.2).

L'étude de l'effet des fibres de caroube sur la survie des souches au cours des 28 jours d'entreposage à 4°C a montré que les meilleurs taux de survie ont été enregistrés pour les starters; tandis que la viabilité des souches bénéfiques, à l'exception de celle enregistrée après les deux premières semaines, n'est pas améliorée par l'addition de fibres de caroube au lait; elle est, au contraire, très fortement diminuée. La présence de ces fibres dans le lait, donne des pH finaux plus élevés en fin d'entreposage au froid, situés entre 3.72 et 4.15 dans les yaourts contenant *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS et entre 3.66 et 4.00 dans ceux avec *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12, comparés aux pH (3.54 et 3.38) de leurs témoins respectifs.

**Mots clés :** Fibres de caroube – Lait- Fermentation – starters - *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS- *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12.

**Abstract:**

The aim of the present study is to explore the effects of *Ceratonia siliqua* (L.) carob pod fibers, extracted by an hydro-thermal method, on kinetic of growth and acidification; and also on survival and post-acidifying activity of yogurt starters (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*) in mixed culture with *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS or *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in a 10% (w/v) reconstituted and fermented skimmed milk during four weeks of a refrigerated storage.

The obtained results have shown that carob fibers enhance growth of *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS (+11.94%), *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* (+7.98%), *Streptococcus thermophilus* (10.93%) and *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* (24.66%). In spite of the acidity of the added fiber extract (pH 5.2), the Curdling time of milk was slightly prolonged by 10 to 20 minutes according to the involved strains in fermentation process. The best survival scores registered after 4 weeks of refrigerated storage of yogurts containing carob fibers, were those of the starters; whereas a dramatic decrease in that of beneficial bacteria, except during the two first weeks of storage, was observed. Higher pH values were registered in the presence of carob fibers in yogurts containing *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS (3.72 to 4.15) or *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 (3.66 to 4.00); comparatively to those of the control ((3.54 et 3.38).

**Keywords:** Carob fibers - Milk – Fermentation- Starters- - *Lactobacillus delbrueckii* ssp *Bulgaricus* LBRE-LSAS – *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12.

## Liste des tableaux et figures

### Liste des tableaux

	page
<b>Tableau 01 : Constituants des fibres alimentaires (Jones, 2000b) .....</b>	<b>06</b>
<b>Tableau 02 : Composition chimique des oligosaccharides non digestibles (OND) (Fabrice, 1999) .....</b>	<b>14</b>
<b>Tableau 03 : Les aliments riches en fibres (Anonyme, 1993) .....</b>	<b>18</b>
<b>Tableau 04 : Les apports journaliers conseillés (Anonyme, 2002) .....</b>	<b>19</b>
<b>Tableau 05 : Certaines applications technologiques des fibres (Diez et Istasse, 1996) .....</b>	<b>18</b>
<b>Tableau 06 : Les organes humains bénéficiant des AGCC comme source d'énergie (Slavin et al., 2009) .....</b>	<b>23</b>
<b>Tableau 07 : Exemples de composants d'aliments fonctionnels (Cuibai, 2008) .....</b>	<b>27</b>
<b>Tableau 08 : Les principaux facteurs influençant la microflore intestinale (Holzapfel et al., 1998) .....</b>	<b>33</b>
<b>Tableau 09 : Principales souches probiotiques (Shah, 2007) .....</b>	<b>35</b>
<b>Tableau 10 : Effets bénéfiques sur la santé humaine de quelques souches probiotiques commerciales (Prioult, 2003) .....</b>	<b>39</b>
<b>Tableau 11 : Exemples de composés prébiotiques commercialisés (Grizard et Barthomeuf, 1999 ; Franck, 2002) .....</b>	<b>41</b>
<b>Tableau 12 : Effets positifs des prebiotiques sur la santé (Bornet et al., 2002; Franck, 2002 ; AFSSA, 2003) .....</b>	<b>43</b>
<b>Tableau 13 : Les différents types de milieux de culture et les conditions de croissance .....</b>	<b>53</b>
<b>Tableau 14 : Vitesses spécifiques maximales de croissance (<math>\mu</math> max en <math>h^{-1}</math>); temps de génération (<math>T_g</math> en h) et temps de coagulation (<math>T_c</math> en h) des cultures associées de starters (mélange de ferments lactiques CK340) et de souches bénéfiques (<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LBRE-LSAS et <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp <i>lactis</i> Bb12) en absence (témoin) et en présence de différentes concentrations de fibres brutes de pulpe de caroube. ....</b>	<b>67</b>
<b>Tableau 15 : Taux de diminution du pH (= <math>\Delta</math>pH en %) entre le début de fermentation et le point de coagulation du lait; et vitesse d'acidification (<math>V_A = \Delta</math>pH / <math>\Delta</math>t en <math>h^{-1}</math>) dans les différentes cocultures réalisées .....</b>	<b>77</b>

## Listes des figures

	<b>Page</b>
<b>Figure 01 :</b> Structure chimique de la cellulose avec son unité cellobiose. (Chaplin, 2004) .....	08
<b>Figure 02 :</b> Représentation schématique des fibres de cellulose (Mirande, 2009).....	08
<b>Figure 03 :</b> Structure moléculaire du xylane (Mirande, 2009).....	08
<b>Figure 04 :</b> Structures des différents types de xylanes (Ebringerova et al., 2000) .....	09
<b>Figure 05:</b> Structure chimique des xyloglucanes (Colin-Henrion, 2008) .....	09
<b>Figure 06:</b> Structure chimiques des domaines acides et neutres des pectines (Habibi, 2004 ; Colin-Henrion, 2008).....	11
<b>Figure 07 :</b> Structure schématique des pectines (Willats, et al., 2001).....	11
<b>Figure 08 :</b> Structure moléculaire de la lignine (Kuzmanovic, 2004).....	13
<b>Figure 09 :</b> Polymérisation de la lignine (Hatfield et Vermerris, 2001) .....	13
<b>Figure 10:</b> gomme de caroube, de tara et de Guar (Batlle et al, 1997) .....	13
<b>Figure 11:</b> phénomènes de gélification et d'épaississement (Ralet ,1992) .....	22
<b>Figure 12:</b> Schéma des compartiments de l'appareil digestif de l'homme (Ouwehand et Vesterlund, 2003) .....	33
<b>Figure 13:</b> Les Fonctions de la flore intestinale sur la muqueuse intestinale (O'Hara et Shanahan, 2006) .....	34
<b>Figure 14 :</b> Présentation des effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine (Saarela <i>et al.</i> , 2000).....	38
<b>Figure 15 :</b> Structure du sucrose (GF), de l'inuline (GFn), de l'oligofructose (Fm) (Bryan, 2000).....	41
<b>Figure 16 :</b> Appareil extracteur de fibres .....	49
<b>Figure 17:</b> Colonies de <i>Streptococcus thermophilus</i> (A), <i>Lactobacillus</i> <i>delbreukii</i> subsp <i>bulgaricus</i> (B), <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp <i>lactis</i> (C) et de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LBRE-LSAS(D) .....	51
<b>Figure 18 :</b> Observation microscopique de <i>Streptococcus thermophilus</i> (A) et <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp <i>bulgaricus</i> (B) (coloration de gram) (Grossissement: x100).....	58
<b>Figure 19:</b> Aspect des gousses de caroube (A) utilisées, du broyat de pulpe (B) et de l'extrait de fibres (C) de caroube obtenus .....	58

- Figure 20:** Cinétique de **croissance** des souches **starters** (*Streptococcus thermophilus* ST et *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* LB) et **bénéfique**, *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS, en culture mixte (starters +LBRE-LSAS) sur milieu lait. Culture sans fibres (sf) (témoin) (◆), cultures additionnées de fibres (P/V) à 0,5% (■), 1% (▲), 1,5% (●) et 2% (◆). Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$ SEM répétées 3 fois (three times in triplicate) (n = 9). T0= 0h ; T1 = 2h ; T2 = temps de coagulation (pH 4,7) ..... **66**
- Figure 21:** Cinétique de **croissance** des **starters** (*Streptococcus thermophilus* ST et *Lactobacillus bulgaricus* LB) et de la souche **bénéfique** *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 en culture mixte (**starters + Bb12**) sur milieu lait. Cultures témoin (◆), cultures additionnées de fibres de caroube (P/V) : 0,5% (■), 1% (▲), 1,5% (●) et 2% (◆). Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$ SEM répétées 3 fois (three times in triplicate) (n = 9). T0 = 0h ; T1 = 2h ; T2 = temps de coagulation (pH 4,7) ..... **68**
- Figure 22:** Effets des **fibres brutes de pulpe de caroube** utilisées à 0.5 (■), 1 (▲), 1.5 (●) et 2% (◆) par rapport à un témoin sans fibres (◆) sur la cinétique **d'acidification** du lait en fermentation par les **starters** du yaourt en présence de *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS (**Starters + LBRE-LSAS**) ou de *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 (**Starters + Bb12**) à 42°C. Dans toutes ces cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$ SEM répétées 3 fois (three times in triplicate) (n = 9). T0 = 0h ; T1 = 2h ; T2 = temps de coagulation (pH 4,7). ..... **78**
- Figure 23 :** Cinétique de **viabilité post-fermentaire au cours de l'entreposage à +4°C** de *Streptococcus thermophilus* (ST), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB) et de *Lactobacillus rhamnosus* (LBRE-LSAS) dans le lait fermenté à 42°C par le mélange des 3 souches en absence (témoin) (■) ou en présence de 0.5 (■), 1 (■), 1.5 (■) et 2% (■) de fibres brutes de caroube. Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m)  $\pm$ SEM de 3 déterminations répétées 3 fois (three times in triplicate) (n = 9). .....**87**
- Figure 24:** Cinétique de **viabilité post-fermentaire au cours de l'entreposage à +4°C** de *S. thermophilus* ST, *L. bulgaricus* LB et *B. animalis* subsp. *lactis* Bb12 dans le lait fermenté à 42°C par le mélange des 3 souches en absence (témoin) (■) ou en présence de (P/V) : 0,5% (■), 1% (■), 1,5% (■) et 2% (■). Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations répétées 3 fois (three times in triplicate)  $\pm$ SEM (n = 9). .....**89**
- Figure 25:** **Post-acidification au cours de l'entreposage à 4°C** des laits fermentés à 42°C par les starters, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, avec une souche **bénéfique**, *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS ou *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 en absence (témoin) (◆) ou en présence de (P/V) : 0,5 (■), 1 (▲), 1.5 (●) et 2% (■) de fibres brutes de caroube. Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$ SEM répétées 3 fois (three times in triplicate) (n = 9).....**98**

## Liste des abréviations

**ST:** *Streptococcus thermophilus*

**LB:** *Lactobacillus delbeukii* subsp *bulgaricus*

**LBRE-LSAS:** *Lactobacillus rhamnosus*

**Bb12:** *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis*

**OND:** Oligosaccharides non digestibles

**OF:** Oligofructose

**FOS:** Fructo-oligosaccharide

**GOS:** Galacto-oligosaccharide

**XOS:** Xylo-oligosaccharide

**TOS:** Transgalose

**AR:** Amidon résistant

**SC:** (*Swelling Capacity*), Gonflement

**WBC:** (*Water Binding Capacity*), Capacité de liaison d'eau

**WHC:** (*Water Holding Capacity*), Capacité de rétention d'eau

**OHC:** (*Oil holding capacity*), Capacité de rétention d'huile

**DP:** Degrée de polymérisation

**h:** Heure

**°C:** Degré Celsius

**$\mu$  max:** Vitesse spécifique maximale de croissance

**Tg:** Temps de génération

**Tc:** Temps de coagulation

**$\Delta$  pH:** Taux de diminution du pH entre le début de fermentation et le point de coagulation

**$V_A = \Delta$  pH /  $\Delta$  t:** Vitesse spécifique maximale d'acidification

**Log UFC:** Logarithme d'unité formant colonie

# **Introduction**

## **Introduction**

Le caroubier est une légumineuse typiquement méditerranéenne, largement répartie en Algérie sous forme de peuplements spontanés dans les zones côtières, semi-arides et arides.

A l'instar de son grand potentiel écologique de développer des stratégies d'adaptation morphologique, physiologique et biochimique vis à vis les conditions climatiques particulières caractérisées par des précipitations rares ou irrégulières et par de longues périodes estivales sèches, le caroubier a, en plus, d'énormes intérêts socio-économiques puisque ses gousses, plus riches en sucres que la canne à sucre et la betterave sucrière, sont utilisées en industrie alimentaire et pharmacologique.

Par ailleurs, à cela, s'ajoute la présence de nombreuses autres substances d'intérêt dans le fruit du caroubier ; et parmi lesquelles, il y a les fibres contenues dans la gousse. Actuellement, les fibres sont encore peu valorisées car elles sont éliminées après l'extraction des sucres, et utilisées dans le meilleur des cas comme combustible.

La problématique développée dans ce travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouveaux aliments dits « fonctionnels » capables, non seulement d'apporter des nutriments, c'est-à-dire de nourrir, mais aussi d'apporter des microorganismes d'intérêt digestif et/ou des substances naturelles promotrices de leur croissance et de leur survie in vitro dans l'aliment vecteur et in vivo chez l'hôte recevant cet aliment vecteur.

Les fibres alimentaires sont connues, généralement, comme des substances indigestes pour l'homme mais digestes pour sa flore intestinale ; et, par conséquent, elles sont non seulement très bénéfiques pour la santé du colon, mais aussi pour la promotion de la vie de microorganismes nichant dans cette partie du tube digestif.

L'aliment vecteur choisi dans cette expérience est le lait fermenté ou yaourt. Ce choix est triplement justifié : primo, par l'universalité de sa consommation ; secundo, parce qu'il s'agit d'un excellent milieu nutritif pour un groupe de bactéries d'importance alimentaire stratégique (i.e. les bactéries lactiques) ; et tertio, parce que le lait peut abriter et permettre le développement d'autres souches d'intérêt digestif, communément appelées « souches probiotiques ».

L'idéal, évidemment, c'est la mise au point de yaourts fonctionnels de ce type, avec zéro sucres à absorption rapide ajoutés comme caractéristique supplémentaire.

Répondre à une telle problématique, c'est aussi répondre, quelque part, aux mutations profondes que subit le modèle de consommation de nos concitoyens qui nous interpellent sur le plan alimentaire dont les conséquences sanitaires deviennent l'un de leur souci majeur.

Nous disposons dans notre collection de laboratoire d'une souche bénéfique, *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS, isolée à partir de selles de bébés allaités exclusivement au sein et ne recevant aucune antibiothérapie, qui présente des caractéristiques intéressantes en matière de croissance et d'antagonisme.

Nous nous proposons d'associer cette souche aux starters du yaourt, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, ainsi qu'aux fibres de caroube dans la fermentation du lait en vue d'élaborer un yaourt fonctionnel capable de servir d'aliment, de source en bactérie d'intérêt digestif et en fibres pouvant remplir un rôle prébiotique.

Une autre souche, *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12, à statut probiotique reconnu universellement, sera engagée de la même façon dans ce protocole en tant que souche de référence.

**Chapitre I**

**Revue**

**Bibliographique**

## **Chapitre I: Revue bibliographique**

### **I.1. Les fibres alimentaires.**

#### **I.1.1. Historique et définition.**

Le terme **fibres alimentaires** a été utilisé une première fois par Hipsley en 1953, pour décrire les composants provenant des parois cellulaires végétales, contenus dans les aliments (Gurr et al., 1994).

Dans les années soixante, le terme de fibre était défini physiologiquement comme « *la somme de toutes les substances d'origine végétale qui augmentaient le volume fécal et diminuaient le temps de transit* » (Kaaks, 1994).

En 1973, Trowell a employé ce terme pour désigner « *les résidus cyto-squelettiques végétaux résistant à la digestion par les enzymes intestinales de l'homme* ». Cette définition est élargie en 1976 à « *tous les polysaccharides indigestibles, surtout les sucres de réserve* » (Trowell et al., 1976).

Au début des années 80, une définition consensuelle est admise. Elle décrit les fibres alimentaires comme « *constituées des résidus des cellules végétales, polysaccharides, lignines et substances associées qui ne sont pas dégradées par les enzymes endogènes du tube digestif de l'homme* » (Cho et al., 1997).

La définition des fibres reste controversée entre les chercheurs, et plus généralement, entre les organismes à vocation scientifique, et c'est ce qui a empêché son unification au cours de la dernière décennie (Steinmetz et al., 1991).

Ce débat sur la définition, est dû à l'hétérogénéité des fibres, l'immense diversité de leur constitution chimique, et la différence entre les méthodes d'analyse, ainsi qu'à la quantité énorme d'informations récentes qui s'écoule sur ce sujet.

Ceci a conduit vers la multitude de concepts et de notions, mais qui se basent tous sur les critères physiologico-chimiques, on cite : « *Les fibres alimentaires sont les parties comestibles des plantes ou des glucides analogues qui résistent à la digestion et à l'absorption dans l'intestin grêle chez les humains et dont la fermentation dans le gros intestin est partielle ou complète. Les fibres alimentaires comprennent les polysaccharides, les oligosaccharides, la lignine et d'autres substances végétales associées. Les fibres alimentaires produisent des effets physiologiques bénéfiques, dont la régularisation de la fonction intestinale ou la réduction du cholestérol sanguin ou de la glycémie.* » (AACC., 2001).

En juillet 2006, lors d'une réunion convoquée par la FAO/OMS, les experts ont convenu que : « *Les fibres alimentaires consistent en des polysaccharides intrinsèques de la paroi cellulaire végétale.* » (Cummins et Stephen, 2007).

Le Comité consultatif d'experts de la commission santé Canada précise que : « *Les fibres alimentaires sont les glucides (DP>2) des parties comestibles des plantes qui ne sont ni digérés ni absorbés dans l'intestin grêle et elles comprennent les fibres alimentaires nouvelles acceptées*» (Santé Canada, 2010)

### **I.1.2. Classification des fibres.**

Les fibres forment donc un groupe très hétérogène, scindé en deux familles en fonction de leur solubilité dans l'eau (Tournié, 2006; Anonyme, 2007): fibres solubles et fibres insolubles (Tableau1).

#### **I.1.2.1. Les fibres solubles.**

Les fibres solubles comprennent les pectines, certaines hémicelluloses, bêta-glucanes, gommés, fibres d'algues, certains mucilages, inuline (Modai, 2009).

Elles ont la propriété d'augmenter la viscosité du milieu où elles se trouvent pour former des solutions épaissies, voire des gels. Par ailleurs, la plupart d'entre elles est dégradée par les enzymes bactériens dans le gros intestin (Kathleen, 1996; Cabrol, 2006)

#### **I.1.2.2. Les fibres insolubles.**

On mentionne : la Cellulose, certaines hémicelluloses, lignine, certains mucilages. Elles ont la propriété d'absorber jusqu'à 25 fois leur poids en eau, ce qui augmente le volume fécal et accélère le transit; c'est l'action laxative. En revanche, ces fibres sont très peu fermentées par la flore colique (Lairon, 2002; Cabrol, 2006).

### **I.1.3. Les principales fibres.**

#### **I.1.3.1. La cellulose.**

La cellulose pure est un homo-polysaccharide linéaire comprenant jusque 14 000 unités de résidus D-glucopyranose liés par des liaisons glycosidiques en  $\beta$ 1-4 inattaquables par les enzymes digestives mais dégradées par des cellulases bactériennes ou fongiques. (Fig. 1 et 2) (tableau1) (Rouau et Thibault, 1987).

Deux molécules de glucose, liées en  $\beta$ -(1-4) et faisant une rotation de  $180^\circ$  l'une par rapport à l'autre, forment l'unité de base cellobiose (Colin-Henrion, 2008).

Les molécules de cellulose à structure en ruban peuvent s'associer parallèlement en microfibrilles, puis en longues fibres pouvant présenter une structure cristalline (Seyer, 2005).

Cette organisation tri-dimensionnelle, stabilisée par les liaisons hydrogènes, donne à la cellulose une grande résistance chimique et physique. Elle est strictement insoluble dans l'eau (chaude ou froide), les acides dilués, et les solvants classiques; et très résistante aux bases, et son hydrolyse par les enzymes digestives est un phénomène lent et partiel ((Rinaudo, 1980; Cho et *al.*, 1997; Chaplin, 2004).

### **I.1.3.2. Les hémicelluloses.**

Ce sont des polymères de 50-200 unités, linéaires ou branchées, mixtes d'oses neutres (xylose, arabinose, mannose, galactose, glucose) et d'acides neutres (acide glucuronique, acide 4-O-méthylglucuronique), avec des chaînes linéaires de xylose, glucose ou mannose, liés en  $\beta$ -(1-4) comme squelette de base (tableau1) (Seyer, 2005).

Selon leur structure et leur composition en unités osidiques constitutives, on a les:

- **Homo-polysaccharides**: leur chaîne principale est constituée par un seul type d'ose;  $\beta$ -glucane (glucose), xylane (xylose), mannane (mannose) (Mirande, 2009).
- **Hétéro-polysaccharides** : la chaîne principale est constituée par plusieurs types d'oses, *arabinogalactanes* (galactose et arabinose) xyloglucanes, arabinoxyanes, glucomannanes, glucuronoxyanes, glucuronoarabinoxyanes (Mirande, 2009).

Les hémicelluloses, sont insolubles dans l'eau (chaude ou froide) et les acides dilués chauds, mais solubles dans les bases diluées. Par ailleurs, il faut noter qu'il existe les hémicelluloses solubles (arabinogalactane) ou insolubles comme les xyloglucanes et certains xylanes) (Joseleau, 1980; Cho et *al.*, 1997 ; Mirande, 2009). Les principales catégories d'après McDougall et al. (1996) sont les xylanes, les mannanes et les xyloglucanes.

**Tableau 1: Constituants des fibres alimentaires (Jones, 2000b)**

Type		
<b>Polysaccharides non amidon et Oligosaccharides Resistants</b>	Cellulose	
	Hemicellulose	Arabino-xylanes
		Arabino-galactanes
	Polyfructoses	Inuline
		Oligo-fructanes
	Galactooligosaccharides	
	Gommes	
	Mucilages	
Pectines		
<b>Hydrates de carbone analogues</b>	Dextrines Indigestibles	Maltodextrines Resistantes
		Dextrines Resistantes
	Hydrates de carbone synthetisés	Polydextrose
		Methyl cellulose
		Hydroxypropyl-methyl Cellulose
	amidon resistant	
<b>Lignine</b>		
<b>Substances Associées au complexe (polysaccharides non amylicés – lignine) dans la plante</b>	Cires	
	Phytate	
	Cutine	
	Saponines	
	Suberine	
	Tannins	
<b>Fibres d'origine animale</b> AACC (2001)	Chitine	
	Chitosane	
	Collagène	
	Chondroïtine	

#### **I.1.3.2.1. Les xylanes.**

Selon Habibi (2004), les xylanes sont constitués d'une chaîne principale d'unités D-xylopyranose liées en  $\beta$ -(1-4), et moins fréquemment en  $\beta$  (1-3), et portant des branchements latéraux d' $\alpha$ -L-arabinose, pour donner les arabinoxylanes (xylanes neutres), l'acide glucuronique pour donner les glucuronoxylanes ou l'acide 4-O-méthylglucuronique formant ainsi les glucurono-arabinoxylanes (xylanes acides) (Rodionova et al., 1992; Colin-Henrion, 2008). Lorsque les xylanes comportent les acides férulique ou *p*-coumarique, on parle d'hétéroxylanes. (Jarrige et al., 1995) (Fig. 3 et 4)

#### **I.1.3.2.2. Les mannanes.**

Ce sont des polyosides de résidus  $\beta$ -D-mannopyranoses liés en (1-4) et qui portent souvent des unités galactose, pour former les galactomannanes (parois de graines de caroube), mais leur chaîne principale est intercalée parfois par des unités de glucose, pour donner les glucomannanes. Ces derniers peuvent porter aussi des galactoses sur l'O<sub>6</sub> pour donner les galactoglucomannanes. (Voragen et al., 1986; Habibi, 2004).

#### **I.1.3.2.3. Les xyloglucanes.**

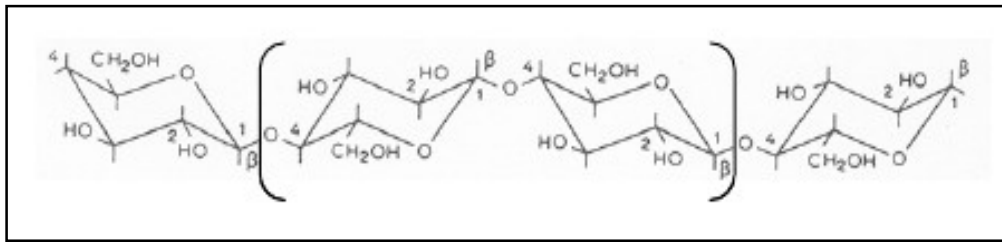
Ils sont composés d'un squelette de D-glucoxyranoses  $\beta$ ,1-4, dont les trois quarts sont substitués en O(6) par diverses chaînes latérales mono, di ou trimériques (xylose, galactose-xylose ou fucose-galactose-xylose) (Colin-Henrion, 2008) (fig. 5).

#### **I.1.3.2.4. Les $\beta$ -glucanes.**

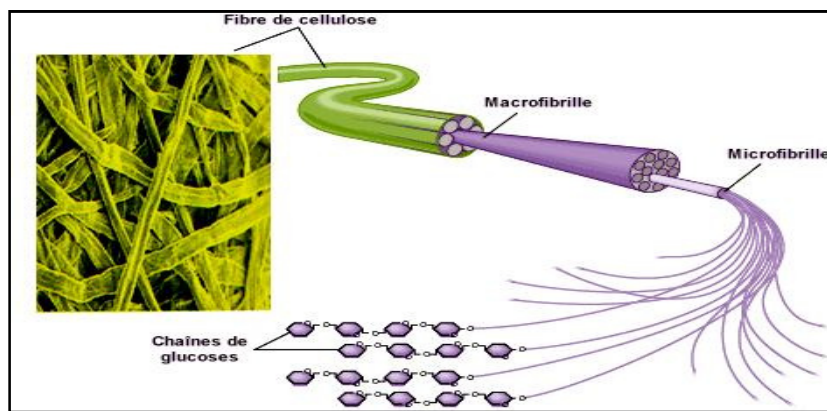
Ils ont une chaîne de D-glucoses reliés par des liaisons mixtes  $\beta$ ,1-3 et  $\beta$ ,1-4. (Mirande, 2009)

#### **I.1.3.3. Les substances pectiques.**

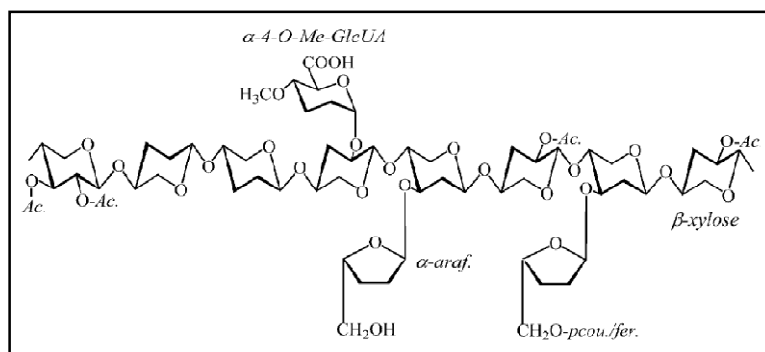
Ce sont des hétéro-polysaccharides dont le squelette principal est formé par l'acide galacturonique  $\beta$ (1-4). Cet acide est l'ose constitutif principal (50 à 60 % du poids sec des fractions pectiques), à côté des oses neutres (l'arabinose 4 à 10 %; le galactose 5 %; le rhamnose 1-2 %), tandis que les quantités de xylose et glucose sont proches de celles du rhamnose (Renard et Thibault, 1993; Renard, 2005b; Colin-Henrion, 2008). L'arrangement de ces constituants forme différents domaines pectiques :



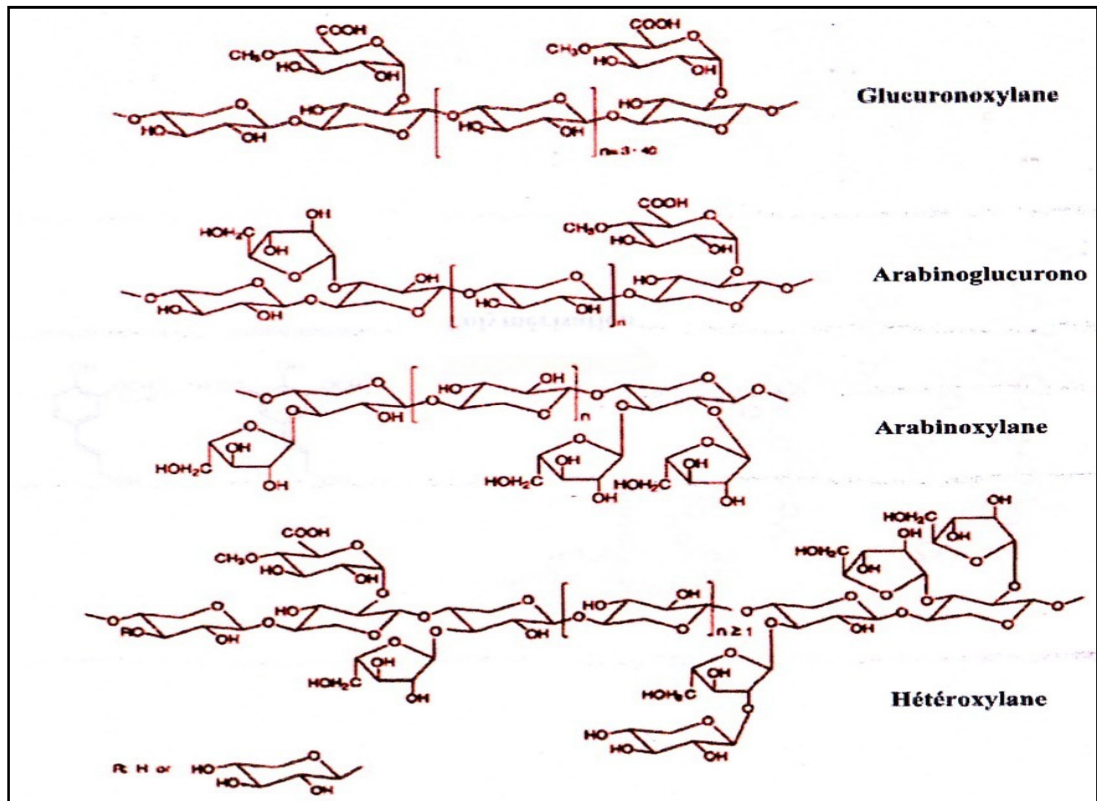
**Figure 1 :** Structure chimique de la cellulose avec son unité cellobiose. (Chaplin, 2004).



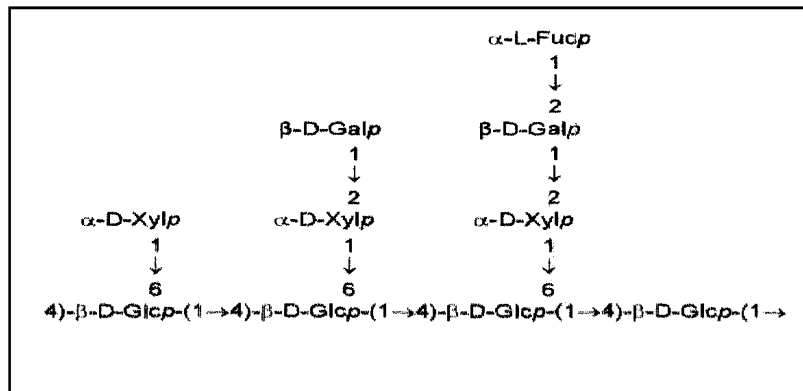
**Figure 2 :** Représentation schématique des fibres de cellulose (Mirande, 2009)



**Figure 3:** Structure moléculaire du xylane (Mirande, 2009)



**Figure 4** : Structure des différents types de xylanes (Ebringerova et al., 2000)



**Figure 5**: structure chimique des xyloglucanes (Colin-Henrion, 2008)

#### **I.1.3.3.1. Les domaines acides.**

D'après Colin-Henrion (2008), deux types de polymères forment les domaines acides :

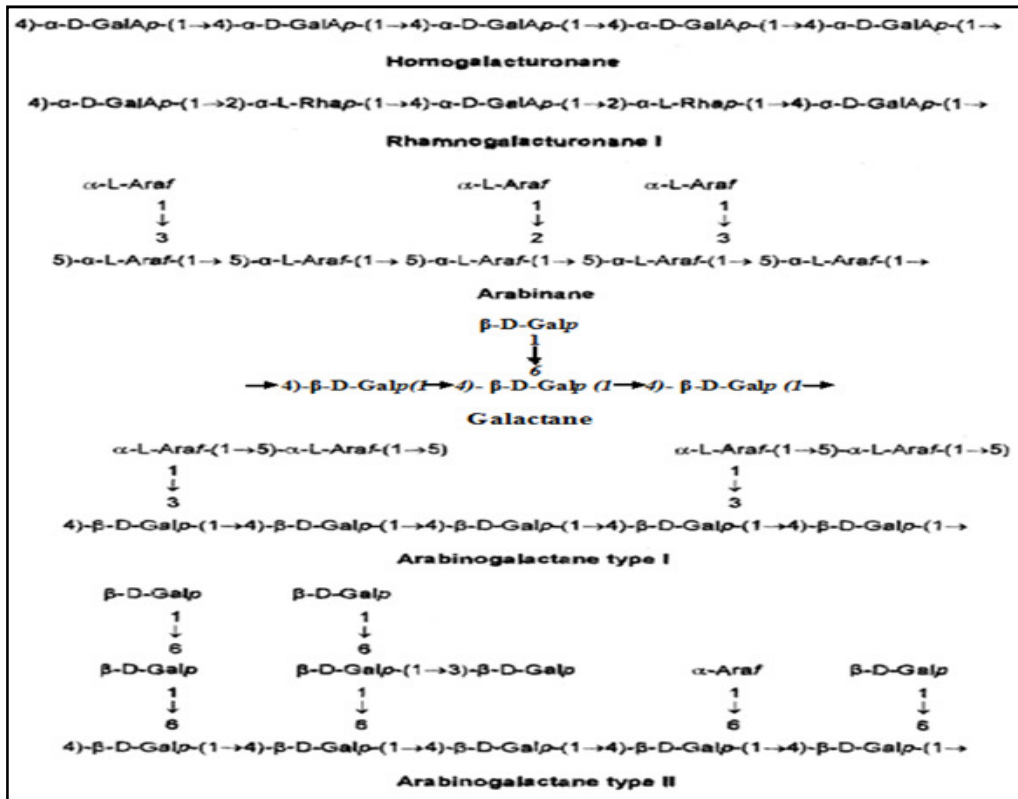
- Les homogalacturonanes (**HG**) : les zones « lisses » où les acides poly-galacturoniques sont constituées de chaînes d'acides D-galacturonique liés en  $\alpha$ -(1-4) (fig. 6)
  
- Les rhamnogalacturonanes (**RG**) : les zones « hérissées » où leur chaîne principale est formée par des enchaînements répétitifs d'acide galacturonique et de rhamnose; c'est la zone RG I (Renard et *al.*, 1995). La zone RG II est le deuxième composant, constitué de chaînes galacturoniques sur lesquelles peuvent se greffer des chaînes latérales d'oses neutres composées d'au moins 12 monomères différents (Cosgrove, 2005) (fig. 6)

#### **I.1.3.3.2. Les domaines neutres.**

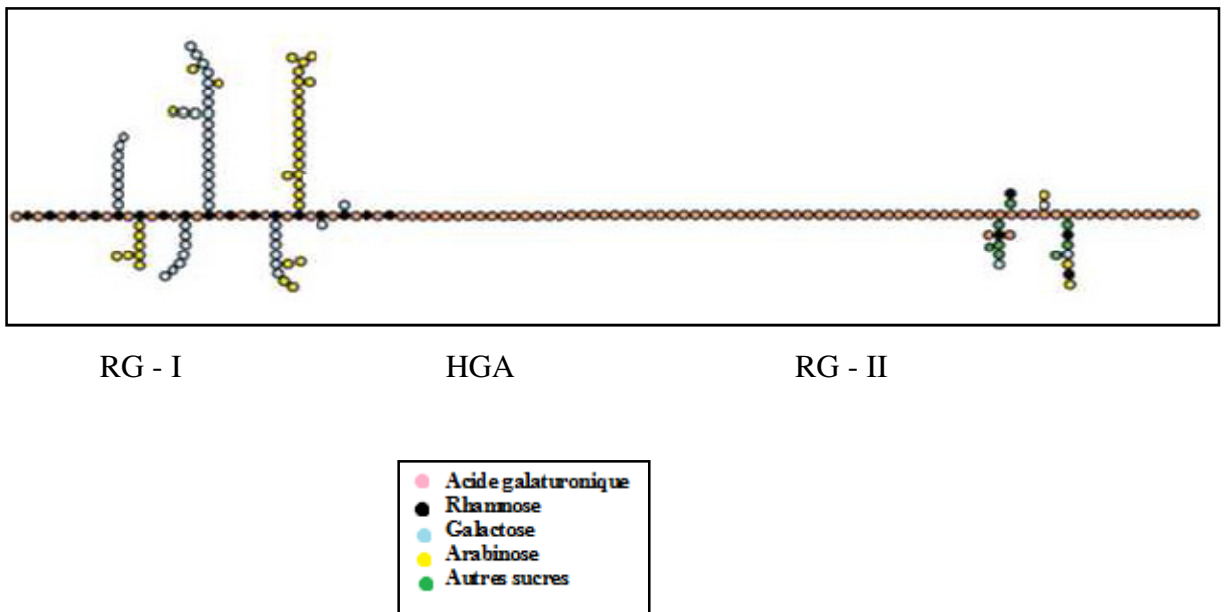
Ils sont formés de chaînes latérales d'oses neutres associées aux zones RG I, et portées par des résidus rhamnosyls en position O(3) et/ou O(4). Le  $\beta$ -D-galactopyranose et l' $\alpha$ -L-arabinofuranose en sont les oses majoritaires et s'organisent en structures complexes pour former les arabinanes, les galactanes de type I, et les arabinogalactanes de type I et II (fig. 6) (Colin-Henrion, 2008; Mirande, 2009).

L'organisation des pectines, était décrite pendant longtemps comme une alternance de zone « lisses » (HG) et de zones « hérissées » (RGI) substituées par des chaînes latérales d'oses neutres (Voragen et *al.*, 1995). Récemment, la suggestion est que la chaîne principale soit une zone RG à laquelle seraient substituées des chaînes latérales d'oses neutres et des zones HG (fig. 7) (Vincken *et al.*, 2003; Colin-Henrion, 2008).

Selon Colin-Henrion (2008), les pectines constituent l'essentiel des fibres solubles et sont extractibles par l'eau, les tampons, les agents chélatants des cations divalents et les acides et bases dilués. Les propriétés gélifiantes des substances pectiques en présence d'agents déshydratants (exp : sucre) sont connues et largement exploitées depuis longtemps



**Figure 6:** structure chimiques des domaines acides et neutres des pectines (Habibi, 2004 ; Colin-Henrion, 2008).



**Figure 7 :** Structure schématique des pectines (Willats, et al., 2001).

par les industries agro-alimentaires pour la fabrication de gelées ou confitures. Les pectines ne présentent aucune toxicité, elles ne sont pas digérées mais fermentées dans le colon. (Diez et Istasse, 1996).

#### **I.1.3.4. La lignine.**

Il est reconnu que la lignine n'est pas un glucide, mais un composé phénolique, amorphe, de haut poids moléculaire avec une structure très complexe et apparaît comme aléatoire et désorganisée (Boerjan, *et al.*, 2003; Boudet, *et al.*, 2003).

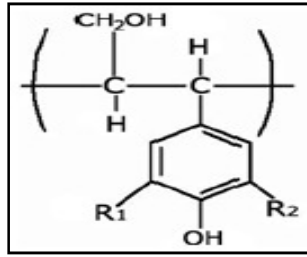
Sur le plan chimique, c'est un hétéropolymère tridimensionnel hautement branché, composé d'alcools dérivant du phénylpropane (coniférylique, *p*-coumarylique et sinapylique) liés par des liaisons éther, ester ou encore carbone-carbone (Marlett et Vollendorf, 1994) (fig. 8 et 9).

La lignine est un polymère plastique qui confère aux végétaux des propriétés d'imperméabilité retardant la pénétration de l'eau dans les tissus, et de résistance aux attaques microbiennes (Rouau et Thibault, 1987; Marlett et Vollendorf, 1994; Chaplin, 2004).

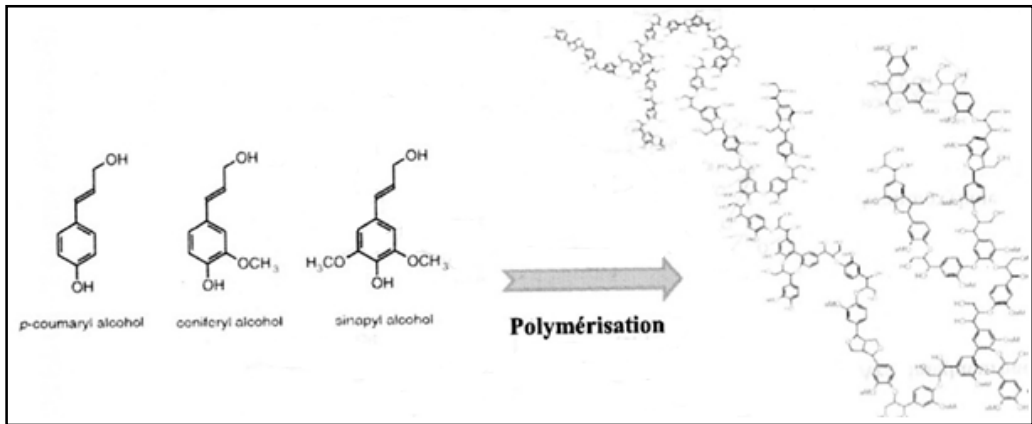
#### **I.1.3.5. Les gommes.**

Au sens large, le terme "gommes" désigne un groupe de polysaccharides complexes d'origine végétale, solubles dans l'eau, avec un haut poids moléculaire et une affinité pour l'eau responsable de la formation de solutions visqueuses et de gels épais, même à basse concentration (Berk, 1976). Perrin (1996) présente plusieurs types de gommes; les gommes d'exsudat de plantes (gomme arabique), les gommes des graines de légumineuses (exemple : la gomme de caroube) et les polysaccharides d'algues (carraghénanes, agar).

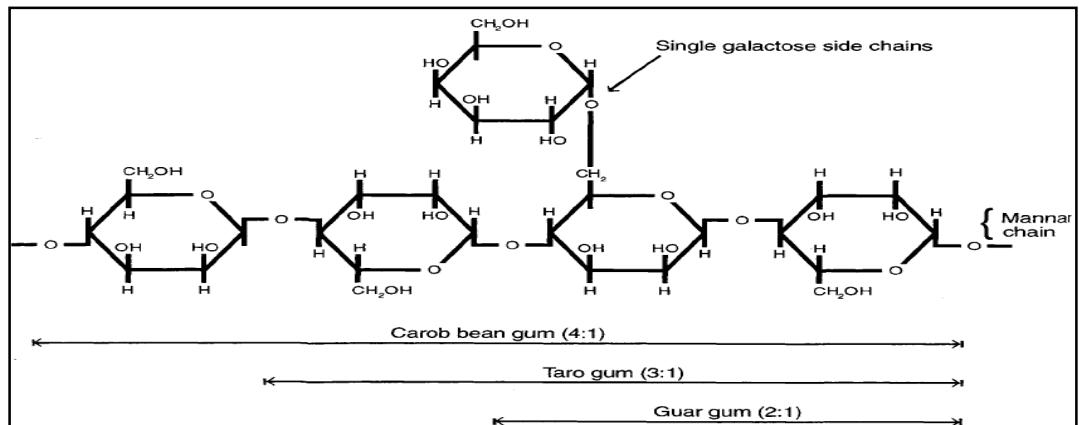
La gomme de caroube ou galactomannanes, est une molécule polysaccharidique composée de deux unités de sucre, (le  $\beta$ -D-mannose et le  $\alpha$ -D-galactose), à une proportion de 4:1 (fig. 10). Elle est dotée de diverses propriétés importantes, à savoir une haute viscosité dans l'eau, même à température et à pH variables, une capacité de former, à partir d'une solution très diluée, de stables solutions visqueuses et une haute potentialité de réagir avec d'autres polysaccharides induisant ainsi un effet de synergie (García-Ochao et Casas, 1992 ; Puhan et Wielinga, 1996).



**Figure 8 :** Structure moléculaire de la lignine (Kuzmanovic, 2004).



**Figure 9:** polymérisation de la lignine (Hatfield et Vermerris, 2001).



**Figure 10:** gomme de caroube, de tara et de Guar (Batlle et al., 1997).

### I.1.3.6. Les substances présentant des propriétés de fibres.

Les oligosaccharides non digestibles (OND) sont composés d'une moyenne de 2 à 10 monosaccharides et subdivisés en plusieurs sous classes (tableau 2). Ils existent naturellement dans l'alimentation, notamment le blé, la banane, l'oignon, l'ail, l'asperge les artichauts, la chicorée et le lait maternel (Fabrice, 1999; Verghese *et al.*, 2002).

**Tableau 2: Composition chimique des oligosaccharides non digestibles (OND)**  
(Fabrice, 1999)

Type d'OND	Composition chimique
<b>Fructo-oligosaccharides (FOS)</b>	> 95% d'oligosaccharides $\beta$ 2-1 fructan: sucrose, fructose (dp: 2 à 5, 4 en moyenne)
<b>Inuline</b>	> 99% d'oligosaccharides $\beta$ 2-1 fructan (dp: 10 à 12)
<b>Galacto-oligosaccharides (GOS)</b>	85% d'oligogalactose: petite quantité de glucose, galactose et lactose
<b>Xylo-oligosaccharides (XOS)</b>	70% de xylose, liaison $\beta$ 1-4 (dp 2 à 4)
<b>Isomalto-oligosaccharides</b>	Mélange d'oligomères de glucose, liaison $\alpha$ 1-6 (isomaltose, panose)
(dp = degré de polymérisation)	

Ils peuvent être produits de trois façons différentes :

- 1- extraction à partir de sources naturelles (chicorée)
- 2- hydrolyse enzymatique partielle des sources naturelles (oligofructoses, XOS)
- 3-synthèse enzymatique à partir des disaccharides comme le sucrose et le lactose (ex, transgalacto-oligosaccharides) (Harris et Ferguson 1999)

Les plus importants sont deux  $\beta$  (2-1) fructanes : les fructooligosaccharides (ou oligofructoses) et l'inuline (Van Loo *et al.*, 1995), car ces substances présentent un grand intérêt en nutrition humaine puisqu'elles ont un pouvoir sucrant tout en étant indigestibles dans l'intestin grêle. D'autre part, elles présentent la propriété de stimuler la croissance des bifidobactéries chez l'homme (Spiegel *et al.*, 1994).

L'amidon résistant est considéré comme une fibre alimentaire, il réunit l'amidon et les produits de dégradation de l'amidon non digérés ou non absorbés par le petit intestin (inaccessibles à l' $\alpha$ -amylase), mais qui peuvent être digérés ou fermentés dans le gros

intestin (Institut de Médecine, 2002; McCleary, 2003). Selon Haralampu (2000), Il est réparti en quatre groupes :

- AR1 : Amidon physiquement inaccessible (emprisonné dans une matrice non digestible)
- AR2 : Amidon non gélatinisé (surtout la structure cristalline de type B)
- AR3 : Amidon rétrogradé (réassociation sous forme cristalline)
- AR4 : Amidon modifié chimiquement (Crowe *et al.*, 2000).

Certains lipides complexes comme (les cutines, subérines et cires), Les amino-polysaccharides (la chitine, les chitosanes, les kératines et les xanthanes), Et Les produits de la réaction de Maillard. Qui sont des produits de dégradation formés lors de cuisson des aliments peuvent être aussi incluses dans la définition des fibres (Lairon, 1996; Gurr *et al.*, 1994; Diez *et Istasse*, 1996)

#### **I.1.4. Les méthodes de dosage des fibres alimentaires.**

Les méthodes de dosage des fibres ont évolué depuis leur apparition au début du 19<sup>ème</sup> siècle. Leur développement est très lié à l'évolution du concept et à leur domaine d'application; il a été freiné par le manque de définition précise des "fibres" (Hoebler, 1986)

##### **I.1.4.1. Les méthodes gravimétriques.**

Elles donnent une valeur globale de la fraction "fibres alimentaires" (Hoebler, 1986):

##### **I.1.4.1.1. Les méthodes gravimétriques chimiques.**

Dans ces méthodes, les fibres sont obtenus après plusieurs traitements par des agents chimiques (acides, bases, détergents, solvants):

- *Le dosage de cellulose brute ou cellulose weende* (du nom de la ville allemande « Weende ») correspond au résidu résistant aux attaques successives acide et alcaline après déduction de la teneur en cendres.
- *La méthode aux détergents acides et neutres ou la méthode Van Soest*, donne un résidu "fibre" pauvre en azote après plusieurs extractions par des détergents anioniques et cationiques en milieu acide ou tamponné (neutre).

Cependant le dosage des fibres insolubles peut être fait par solubilisation des constituants cytoplasmiques par des réactifs chimiques (exp : phénol/acide acétique/eau, diméthyl sulfure) (Hoebler, 1986)

#### **I.1.4.1.2. Les méthodes gravimétriques enzymatiques.**

Ces méthodes simples et faciles sont les plus employées à l'heure actuelle. Elles comportent 3 étapes successives (Cho et al., 1997): l'échantillon est préparé par le broyage, le tamisage, et parfois une délipidation pour permettre une attaque enzymatique efficace, il est ensuite soumis à une digestion enzymatique (Termamyl «  $\alpha$ -amylase thermostable », amylogucosidase et protéase) pour le débarrasser de ses constituants non pariétaux (amidon, protéines), et les fibres totales sont récupérées pour être lavées et séchées après la filtration du digestat précipité dans quatre fois son volume d'éthanol. Ce protocole a été publié par Prosky et al. (1984) et il est devenu aujourd'hui la méthode de référence recommandée par l'Agence Française des Fraudes et de Sécurité Alimentaire (AFSSA 2002) pour l'analyse des fibres alimentaires.

#### **I.1.4.2. Les méthodes directes ou méthodes enzymatiques-chimiques.**

Ces méthodes donnent le profil de la composition des fibres par détermination des monomères constitutifs des polysaccharides. Elles comportent une hydrolyse, généralement acide, puis une quantification des oses libres obtenus, incluant généralement une séparation et une identification des différents oses.

*La méthode enzymatique-colorimétrique « Southgate »*, utilise un chromogène pour former avec les oses libres obtenus après hydrolyse acide à chaud un composé coloré (Thibault, 1979).

Tandis que *la méthode enzymatique-chromatographie en phase gazeuse* (Upsala; du nom de la ville danoise d'Upsala) quantifie les oses neutres constitutifs, libérés par hydrolyse en milieu acide, par CPG après acétylation en acétate d'alditol (Englyst et Cummings, 1984).

Toutefois, il y a aussi la *méthode enzymatique-chromatographie en phase liquide* qui utilise des colonnes d'échange d'anions couplées à des détecteurs permettant de quantifier séparément après hydrolyse enzymatique, certaines fractions rarement prises en compte comme l'inuline (Quemener et al., 1994).

#### **I.1.4.3. Dosage par spectrophotométrie dans le proche infra rouge –spir.**

Cette technique rapide et simple comporte la sélection d'un ensemble d'échantillons de composition connue et la mesure de leurs spectres, puis la recherche des longueurs d'ondes les plus significatives de la caractéristique étudiée, afin d'établir une équation de prédiction, ensuite la mesure des spectres des échantillons inconnus et l'application de l'équation d'étalonnage (Hoebler, 1986)

#### **I.1.5. Sources, apports conseillés et état actuel de la consommation des fibres.**

Les fibres alimentaires existent naturellement dans les plantes telles que les céréales, fruits, légumes, légumineuses, noix, graines avec des quantités et compositions différentes d'un aliment à un autre (tableau 3) (Desmedt et Jacobs, 2001; Yutin, 2010).

D'une façon générale, on trouve les pectines dans les pommes, carottes, bananes; les hémicelluloses solubles dans les fruits (agrumes) et légumes; et les  $\beta$ -glucanes au sein des céréales complètes, en particulier avoine, orge.

La cellulose est localisée majoritairement dans les fruits et légumes, frais et secs, alors que les hémicelluloses insolubles sont concentrées chez les céréales complètes (en particulier blé et seigle), les fruits et légumes frais et secs; tandis que la lignine est repérée massivement dans les grains des fraises, des raisins, enveloppes des grains de céréales) (Cabrol, 2006 ; Modai, 2009).

Dans l'alimentation occidentale, les céréales constituent la source principale des fibres avec 50%; suivis des légumes (32 %), et fruits (16 %), le reste est fourni par les sources mineurs (exp : légumes secs) (3%) (Gregory et *al.*, 1990; Cummings, 1996 ; Lambo et *al.*, 2005).

En janvier 2007, un Corrigendum de la réglementation de l'Union Européenne (EC) No 1924/2006 (Official Journal 409 p9, 30.12.2006 on nutrition and health) spécifie les allégations:

- **Source de fibres** : correspond à 3g/100 g ou /100ml, si non 1,5g/100 kcal
- **Riche en fibres** : correspond à 6g/100 g ou /100ml, si non 3g/100 kcal

**Tableau 3:** les aliments riches en fibres (Anonyme, 1993)

sources de fibres solubles		sources de fibres insolubles	
Aliment	(g /100 g)	Aliment	(g /100 g)
Son d'avoine	16	Amandes	13
Pruneaux	13	Pain de son de blé	10
Figues sèches	12	Pain complet	7
Haricots rouges cuits	9	Dattes sèches	7
Flocons d'avoine	7	Petits pois cuits	6
Choux de Bruxelles cuits	3	Pois chiches cuits	5
Mangues, bananes	3	Pain blanc	3
Carottes cuites, épinards cuits	3	Haricots verts cuits	2
Oranges, poireaux, pêches, pommes	2	Lentilles cuites	2
Pommes de terre vapeur, laitues, tomates	1	Ananas	1

L'apport en fibres conseillé chez l'adulte est au minimum 25 g/jour, ou mieux, 30 g/jour. Dans le cas des enfants, il semble cependant raisonnable de proposer l'ingestion journalière de "âge + 5 g" de fibres (tableau 4). Dès l'adolescence, les apports recommandés pour l'adulte devraient s'appliquer (Diplock et *al.*, 1999, Martin, 2001).

L'état actuel de la consommation des fibres est très diminué; on constate actuellement que les apports quotidiens sont de l'ordre de 15 - 20 g/ jour contre 30 - 35 g au début du siècle, alors que les nutritionnistes recommandent un apport quotidien de 25 - 30 g (Debry, 1990).

Par exemple, Les américains mangent la moitié des apports quotidiens conseillés, soit 15-18g/j pour l'homme et 12-13g/j pour la femme ; alors que les français consomment seulement 17 g/j (Anonyme, 2004; Anonyme, 2008)

**Tableau 4: Les apports journaliers conseillés (Anonyme, 2002)**

Tranches d'âge	Recommandations (en g/jour)	
	Sexe masculin	Sexe féminin
Nourrissons 1-3 ans	19	19
Enfants 4-8 ans	25	25
Jeunes 9-13 ans	31	26
Adolescents 14-18 ans	38	26
Adulte 19-30 ans	38	25
31 to 50 ans	38	25
51 to 70 ans	30	21
71 ans et +	30	21
Grossesse < 19 ans	-	28
Grossesse 19-50 ans	-	28
Lactation < 19 ans	-	29
Lactation 19 - 50 ans	-	29

Cette diminution de consommation de fibres est due au raffinage des farines et d'une moindre consommation d'aliments qui en sont riches (céréales, pain, légumes secs...) (Anonyme, 2007).

#### **I.1.6. Propriétés physico-chimiques des fibres.**

Les propriétés physicochimiques des fibres sont à l'origine de leur utilisation comme ingrédients fonctionnels, car elles modifient la consistance, la texture et les caractéristiques rhéologiques et sensorielles des aliments. En outre, ces propriétés sont derrière les fonctions physiologiques bénéfiques des fibres (Dikeman et Fahey, 2006 ; Collar et *al.*, 2009).

##### **I.1.6.1. La solubilité.**

La solubilité des fibres dépend de :

- la structure des chaînes, parce que les chaînes linéaires régulières s'assemblent pour former des régions pseudo-cristallines qui se dispersent difficilement dans l'eau (exemple de la cellulose), tandis que la présence d'un branchement empêche, sur le plan stérique, l'association inter-chaînes et augmente la solubilité (exemple des pectines fortement branchées) (Whistler, 1973; Cloutour, 1995).

- la présence des liaisons (1-6) qui rend les chaînes flexibles, et donc facilement solubilisées, par la suite les polymères les plus solubles sont les plus flexibles (dextrine) (Whistler, 1973; Thebaudin et al., 1997).

- la présence des groupes sulfates ou pyruvates, de l'acide uronique, etc..., ayant une charge électrique favorise la solubilisation (Thebaudin et al., 1997).

- la présence de très nombreuses fonctions alcool capables d'interagir avec l'eau (Guillon et Champ, 2000)

#### **I.1.6.2. Les propriétés d'hydratation.**

Les propriétés d'hydratation sont des attributs des fibres insolubles (Thebaudin et al., 1997), et les principaux paramètres utilisés pour les décrire sont :

- *Le gonflement* : c'est la capacité des fibres à s'hydrater sans l'application d'aucune autre force que la gravité. Il correspond au volume occupé par une masse connue de fibres hydratées rapporté à la masse sèche de l'échantillon initial (Robertson et al., 2000).
- *la capacité d'absorption d'eau* : correspond à l'aptitude des fibres à absorber l'eau par capillarité. (Massiot et Renard, 1997).
- *La capacité de rétention d'eau* : est la quantité d'eau retenue par une masse connue de fibres dans des conditions standards d'hydratation après application d'une force extérieure: la force centrifuge, la force osmotique ou la filtration.

Les propriétés d'hydratation des fibres sont influencées par la taille des particules de l'échantillon et sa porosité, le pH, la température, et la force ionique (Renard et Thibault, 1991 ; Cloutour, 1995).

### **I.1.6.3. Pouvoir viscosifiant et gélifiant.**

Les polysaccharides présentent un pouvoir **épaississant** lorsque les liaisons moléculaires sont faibles voire inexistantes et que les molécules sont entourées d'une gangue de molécules d'eau (exp : dérivés de cellulose) (Launay et *al.*, 1986). Or, un polysaccharide **gélifie** lorsqu'il forme un réseau tridimensionnel macromoléculaire retenant entre ses mailles une phase liquide (exp : les pectines) (Cloutour, 1995) (figure 11).

### **I.1.6.4. Capacité d'échange cationique et d'adsorption de molécules organiques.**

Les fibres peuvent échanger des cations grâce à la présence de groupements ionisables (substances pectiques). Elles fonctionnent alors comme des résines échangeuses de cations (Ralet, 1992). Les fibres peuvent par ailleurs, adsorber certaines molécules organiques. Ainsi la lignine adsorbe les acides biliaires et le son de blé peut réduire le niveau de certains carcinogènes et mutagènes (Vikse et *al.*, 1992 ; Nagengast et *al.*, 1993).

### **I.1.6.5. Fermentescibilité.**

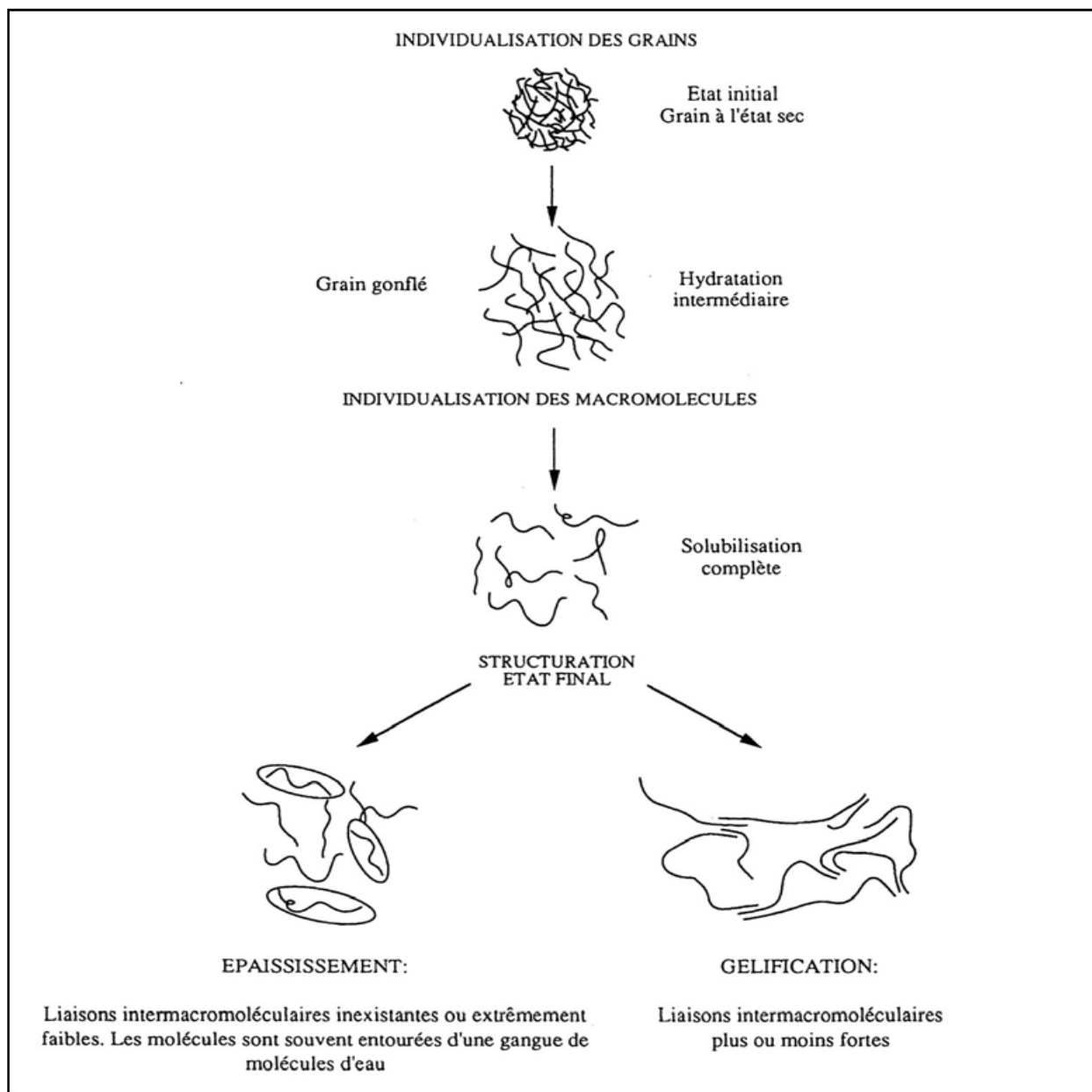
La fermentation des fibres dans le côlon par la flore digestive, va permettre leur dégradation plus ou moins poussée, qui en dehors de maintenir en vie la flore bactérienne locale, elle permet la production de certains métabolites, tels que des acides gras à chaîne courte, associés à une baisse du taux de cholestérol libre (McDougall et *al.*, 1996; Cho et *al.*, 1997 ; Escrig et Muniz, 2000).

La capacité des fibres à être fermentées dépend de la nature des polysaccharides constitutifs et de leur forme physique :

-Les fibres solubles sont beaucoup mieux fermentés que les insolubles (Horvath, 1984)

-Les fibres se comportent différemment vis-à-vis la fermentation :

- ✓ elles sont complètement fermentées (pectines), partiellement fermentées (hémicellulose), ou bien pas du tout fermentées (lignine), (Horvath, 1984)
- ✓ elles sont aussi soit rapidement fermentés (fibres des fruits et légumes), soit lentement fermentées (son de blé) (Katz et *al.*, 1987).



**Figure 11:** phénomènes de gélification et d'épaississement (Ralet ,1992).

### **I.1.7. Utilisation technologique et rôles physiologiques des fibres.**

Les carraghénanes sont utilisées comme gélifiant, épaississant, stabilisant pour produits à base de lait et aliments humides pour chiens et chats. La cellulose et ses dérivés sont employés comme épaississant, gélifiant. Par contre, la gomme de guar, les pectines et les oligofructoses sont utilisés exclusivement comme épaississant, gélifiant et agent sucrant, respectivement (Diez et Istasse, 1996).

#### **I.1.7.1. La fermentation des fibres.**

La fermentation des fibres surtout solubles peuvent présenter des effets physiologiques bénéfiques sur l'hôte (Chawla et patil, 2010 ; Brownlee, 2011) :

##### **I.1.7.1.1. Production d'acides gras à chaînes courtes (AGCC) « Short Chain Fatty Acids SCFA »:**

Dans le gros intestin, les fibres alimentaires sont fermentées par des enzymes bactériennes pour donner principalement des AGCC, (l'acide acétique, propionique et butyrique), et d'autres composés tels que l'eau, les gaz (l'H<sub>2</sub>, le CO<sub>2</sub>), et le lactate (Macfarlane et *al.*, 1991 ; Campbell et *al.*, 1997).

Ces AGCC sont rapidement absorbés par le côlon et stimuleraient l'absorption d'eau et de sodium. De plus, ils sont une source d'énergie importante pour les bactéries et pour différents organes de l'homme (tableau 6) (Hebuterne, 2002).

**Tableau 6: Les organes humains bénéficiant des AGCC comme source d'énergie (Slavin et *al.*, 2009)**

<b>AGCC</b>	<b>Organe</b>
Butyrate	Colon distal et rectum (Cellules de revêtement d'épithélium, colonocytes)
Acétate	cœur, rein, cerveau
Propionate	Foie

Les AGCC peuvent également diminuer le pH intestinal et le maintenir constant au voisinage des cellules épithéliales du côlon, et inhibent la prolifération et/ou l'adhésion de certains germes entéro-pathogènes (Daisuke *et al.*, 2004 ; May *et al.*, 1994). Mais, l'effet bénéfique majeur de ces acides, surtout le butyrate, est sans doute, l'effet protecteur vis-à-vis du cancer colique (Siavoshian, *et al.*, 2000 ; Key et Spencer, 2007; Spurling, *et al.*, 2008).

#### **I.1.7.1. 2. Effet prébiotique.**

Les oligosaccharides non digestibles appartiennent à la famille des fibres qui présentent le plus d'effet prébiotique; il s'agit de l'inuline, des fructo-oligosaccharides (FOS), des galacto-oligosaccharides (GOS) et du lactulose (Bouhnik *et al.*, 1993 ; Alles *et al.*, 1999; Roberfroid, 2007).

Toutefois les deux premiers (inuline et FOS) sont les plus significativement efficaces, étant connus par plusieurs études pour stimuler la croissance des bifidobactéries et des lactobacilles (Okubo *et al.*, 1994; Roberfroid *et al.*, 1998; Pasman *et al.*, 2006; Vos *et al.*, 2007).

Les xylo-oligosaccharides (XOS), notamment les arabinoxylanes, montrent aussi des effets très concluants vis-à-vis du métabolisme gastro-intestinal, et améliorerait de manière très efficace la croissance des bifidobactéries. (Cloetens *et al.*, 2008; Van Craeyveld *et al.*, 2008, Xu *et al.*, 2008).

#### **I.1.7.2. Effets sur la digestion.**

Les fibres stimulent la salivation, diluent la masse de l'aliment, activent la sécrétion de l'acide gastrique et des hormones digestives (Cummings et Englyst, 1995; McDougall *et al.*, 1996; Guillon et Champ., 2000). Elles donnent une sensation de satiété (*effet rassasiant*) suite à une mastication plus lente et une vidange gastrique ralenties (Edward et Parrett 1996 ; Guillon et Champ., 2000).

De plus, l'Augmentation de la masse fécale est la résultante des propriétés d'hydratation des fibres et de leur caractère d'indigestibilité, à coté de l'action d'augmentation de la masse bactérienne qu'elles induisent (McDougall *et al.*, 1996 ; Kurasawa *et al.*, 2000).

Les fibres réduisent aussi le temps de transit intestinal par la production des gaz de fermentation qui distend la paroi colique, et l'augmentation du volume fécal, excitent et stimulent les capteurs de vidange rectale (Borel, 1990).

### **I.1.7.3. Effets sur le métabolisme.**

La digestion et l'absorption des glucides sont diminuées par les fibres, qui ralentissent la vidange gastrique et augmentent la viscosité du bol alimentaire (Leclère et al., 1994), elles ont encore des effets hypocholestérolémiants, hypolipémiants et hypotriglycéridémiant (Mee et Gee, 1997; Aprikian et al., 2001; Leontowicz et al., 2001)

De même que plusieurs travaux confirment que les fibres améliorent l'absorption du calcium, magnésium, zinc et fer par l'accroissement du transport actif (Tahiri et al., 2001; De cassia et al., 2003; Vermorel et al., 2004; Coudray et al., 2005; Holloway et al., 2007 )

### **I.1.8.4. Effet immunitaire.**

Les fibres alimentaires assistent les propriétés de barrière de la muqueuse du colon par le fait de promouvoir la production des cellules T, anticorps, et leucocytes (Pratt et al., 1996; Mariadason et al., 1997; Sanderson, 2004)

### **I.1.8.5. Effets sur les pathologies.**

Les fibres alimentaires soulagent la constipation par l'augmentation du poids et de la consistance fécale, ainsi par l'élévation de la fréquence de défécation, et ramollissent les fèces pour diminuer l'hémorragie et la récurrence hémorroïdale. Elles ralentissent ainsi le transit intestinal chez les personnes à transit anormalement rapide pour lutter contre *La diarrhée* (Ashraf et al., 1995; Jie et al., 2000; Alosnso et al., 2005,2006)

La lutte contre le diabète par les fibres, est due au ralentissement de l'absorption des glucides, à l'abaissement de la glycémie post prandiale, et à la réduction de sécrétion d'insuline (Jang et al., 2001; Anderson et al., 2009).

L'obésité est allégée en leur présence suite à la diminution de l'apport et de la densité énergétique totale, à l'utilisation des lipides, à la stimulation hormonale et à la réduction de la sécrétion d'insuline. (Pereira et Ludwig, 2001; Hill et Peters, 2002 ; Tapsell, 2004 ;Keenan et al., 2006 ; Anderson et al., 2008 ; Sharma et al., 2008; Mikusova et al., 2009)

Par ailleurs, selon Potter (1999) et Perrin et al. (2001), l'effet synergique entre le butyrate résultant de la fermentation des fibres qui induit l'apoptose, et inhibe les acides biliaires secondaires mutagènes, et la limitation du temps d'interaction entre muqueuses intestinales et carcinogènes aide à lutter contre le cancer colorectal.

La diminution du taux d'œstrogènes dans le sang par les fibres est une autre forme de lutte contre le cancer du sein (Cummings et al., 1982)

L'abaissement de la LDLémie et de la cholestérolémie, provoqué par l'ingestion des fibres, affectent positivement les risques de maladies cardiovasculaires (stark et Madar, 1994 ; Rimm et al., 1996).

## **I.2. Les aliments fonctionnels (probiotiques et prebiotiques).**

### **I.2.1. Les aliments fonctionnels.**

On appelle aliment fonctionnel « *un aliment qui contient (en concentration adéquate) un composé ou une association de composés qui modifie les fonctions de l'organisme de sorte que l'on observe des effets cellulaires ou physiologiques positifs* » (Roberfroid, 1998).

Il ne s'agit en aucun cas de capsules/gélules ou de comprimés, mais plutôt de produits alimentaires traditionnels dont la consommation dans le cadre d'un régime normal; montre -au delà des effets nutritionnels habituels- un effet bénéfique sur une ou plusieurs fonctions cibles dans l'organisme, ce qui améliore l'état de santé et le bien être d'un individu ou réduit le risque d'une maladie (Contor, 2001 ; Izquierdo, 2009).

Cela peut être un aliment entièrement naturel, un aliment auquel un composant a été ajouté ou enlevé par des moyens technologiques ou biotechnologiques, même un aliment dans lequel la nature ou la biodisponibilité d'un ou plusieurs composants a été modifiée, ou encore n'importe quelle combinaison de ces possibilités (Ashwell 2002) (tableau 7).

De ce fait, de nouveaux produits ont vu le jour Il s'agit notamment des prébiotiques, des probiotiques, et des synbiotiques.

#### **I.2.1.1. L'écosystème gastro-intestinal.**

Le tractus gastro-intestinal, de 200 à 300 m<sup>2</sup> de superficie, est l'interface entre le monde extérieur et le monde intérieur, sa fonction vitale est la digestion et l'assimilation des aliments tout en étant un organe immunitaire important capable de nous protéger contre des pathogènes (Cuibai, 2008).

C'est un écosystème complexe, composé par une alliance stable entre l'épithélium gastro-intestinal, le système immunitaire qui lui est associé (*GALT: gut associated lymphoid tissue*) et la flore microbienne résidente.

**Tableau 7: Exemples de composants d'aliments fonctionnels (Cuibai, 2008)**

Composants fonctionnels	Source	Avantages potentiels
<b>Caroténoïdes</b>		
a-carotène B-carotène	Carottes, fruits, légumes	Neutralisent les radicaux libres
Lutéine	Légumes verts	Réduit les risques de dégénérescence maculaire
Lycopène	Produits de tomate (ketchup, sauces)	Réduit les risques de cancer de la prostate
<b>Fibres alimentaires</b>		
Fibres insolubles	Son de blé	Réduisent les risques de cancer du sein ou du côlon
Bêta-glucane	Avoine, orge	abaissent le taux de LDL et le cholestérol total ; Protègent contre les maladies cardiovasculaire et certains cancers;
Fibre soluble	Psyllium	
<b>Acides gras</b>		
Oméga-3 à longue chaîne Acides gras - acide déhydracétique/acide eicosapentanoïque	Huiles de saumon et d'autres poissons	Réduisent les risques de maladie cardiovasculaire. Améliorent les fonctions mentales et visuelles
Acide linoléique conjugué (ALC)	Fromage, produits carnés	Améliore la constitution corporelle. Diminue les risques de certains cancers
<b>Composés phénoliques</b>		
Anthocyanidines	Fruits	Neutralisent les radicaux libres; réduisent les risques de cancer
Catéchine	Thé	
Flavonones	Agrume	
Flavones	Fruits/légumes	
Lignans	Lin, seigle, légumes	Prévient le cancer, l'insuffisance rénale
Tanins (proanthocyanidines)	Canneberges, cacao, chocolat	Améliorent la santé de l'appareil urinaire. Réduisent les risques de maladie cardiovasculaire.
<b>Phytostérols</b>		
Ester de stanol	Maïs, soja, blé, huiles de bois	Abaisse la cholestérolémie en inhibant l'absorption du cholestérol
<b>Prébiotiques/probiotiques</b>		
Fructo-oligosaccharides (FOS)	Topinambours, échalotes, poudre d'oignon	Améliorent la qualité de la flore microbienne intestinale; santé gastro-intestinale
Lactobacillus	Yogourt, autres produits laitiers	
<b>Phytoestrogènes du soja</b>		
Isoflavones: Daidzein Genistein	Soja et aliments à base de soja	Diminuent les symptômes de la ménopause. Préviennent les cardiopathies et certains cancers; abaissent le taux de LDL et le cholestérol total.

Des altérations génétiques ou fonctionnelles de l'un de ces trois composants peuvent perturber l'alliance et, par conséquent, favoriser l'installation de diverses pathologies (McCracken et Lorenz, 2001).

### **I.2.1.2. Le microbiote intestinal.**

Selon la définition d'Isolauri *et al.* (2002) : « la flore intestinale normale est une collection complexe et en équilibre de microorganismes qui habitent normalement le tractus gastro-intestinal et remplissant un rôle dans la nutrition, la physiologie et le contrôle du système immunitaire de l'hôte ».

Cette microflore a été estimée à près de  $10^{13}$ - $10^{14}$  cellules microbiennes (1-2 kg de bactéries/individu), dont environ 400 à 1000 espèces bactériennes différentes ont été recensées (Hooper et Gordon, 2001).

On y trouve à la fois des bactéries aérobies (*Escherichia*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*) et anaérobies (*Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Eubacterium*) (O'hara et Shanahan, 2006). Ces bactéries sont classées en deux catégories ; les bactéries indigènes (autochtones) composées de bactéries dominantes ( $10^8$  à  $10^{11}$  UFC/g fèces, 25 à 40 espèces souvent anaérobies strictes), et des bactéries sous-dominantes ( $10^6$  à  $10^8$  UFC/g fèces), et les bactéries transitoires (allochtones) provenant d'autres habitats que le tractus ( $< 10^6$ /g de fèces) (Hao et Lee, 2004).

### **I.2.1.3. Distribution des bactéries dans le tube digestif humain.**

L'environnement gastro-intestinal comprend trois régions principales qui offrent des conditions physico-chimiques très différentes aux microorganismes qui s'y trouvent (fig.12).

**L'estomac** qui se caractérise par la présence d'oxygène apporté par la déglutition et par une forte acidité, héberge sélectivement les microorganismes acidotolérants, Gram positif et anaérobies facultatifs comme les lactobacilles et les streptocoques (Ait-Belgnaoui, 2006).

**L'intestin grêle** loge des bactéries anaérobies strictes notamment « bifidobactéries, bactéroïdes, clostridies » et des anaérobies facultatives, telles que « les lactobacilles (*L. acidophilus*, *L. planturum*, *L. casei* et *L. rhamnosus*), les streptocoques et les entérobactéries» (Farnworth, 2008).

Puisque *Le colon* est dépourvu d'oxygène, sa microflore est très complexe et dominée par les anaérobies strictes (*Bacteroides spp*, *Clostridium spp*, *Bifidobacterium* : *B. longum*, *B. bifidum* et *B. infantis*), tandis que les anaérobies facultatives sont moins nombreuses et représentées par les lactobacilles, les entérocoques, les streptocoques et les Enterobacteriaceae (Cuibai, 2008; Farnworth, 2008).

La charge microbienne dans les différents compartiments a été estimée à environ  $10^3$  à  $10^4$  UFC/ ml ou g dans le contenu de l'estomac;  $10^7$  UFC / ml dans le jéjunum, jusqu'à  $10^9$  UFC / g dans l'iléon terminal et d'environ  $5 \times 10^{11}$  UFC / g dans le contenu du côlon distal (Goktepe *et al.*, 2006).

#### **I.2.1.4. Colonisation du tube digestif.**

La colonisation du tube digestif a lieu dès les premiers jours de vie, et elle varie selon la durée de la gestation, la voie de naissance (césarienne ou naturelle), et l'alimentation du nouveau-né (Goldin, 1986). D'après Midtvedt et Midtvedt, (1992) et Bourlioux *et al.* (2003), elle n'intervient qu'au moment de la naissance par les flores vaginales et fécales de la mère, et se sont *Escherichia coli* et *Enterococcus* sp les premières bactéries colonisatrices pendant les 12-24 premières heures de la vie. Par la suite, si le nouveau-né est nourri au sein les souches anaérobies strictes dominent (*Bifidobacterium* sp, quelques *Bacteroides* sp), le cas contraire (enfant nourri avec des formules infantiles), le genre *Bacteroides* sp. est prédominant et les bifidobactéries sont présentes de façon aléatoire. L'équilibre de la microflore intestinale est proche de celui de l'adulte vers l'âge de 2 ans (Cuibai, 2008)

Chez l'adulte en bonne santé, la composition microbienne semble unique et elle reste stable au cours du temps. Cependant, sa diversité entre individus est hautement remarquable, puisque elle est déterminée en partie par son propre génotype, et par la colonisation initiale à la naissance (Zoetendal *et al.*, 2004)

#### **I.2.1.5. Les principaux facteurs influençant le microbiote intestinal.**

La composition et les fonctions de la microflore intestinale sont influencées par des facteurs exogènes incluant les changements physiologiques de l'hôte (âge, état de santé), le régime alimentaire et l'environnement (antibiothérapie, chimiothérapie, climat, stress, hygiène), et des facteurs endogènes comprenant les sécrétions du tube digestif, mais aussi

les métabolites des premiers microorganismes colonisateurs qui globalement conditionnent le milieu physico-chimique du biotope (tableau 8) (Hopkins et Macfarlane 2002).

### **I.2.1.6. Fonctions de la flore intestinale.**

Les interactions extrêmement complexes entre l'hôte et sa flore digestible se produisent dans les deux sens (Schiffrin et Blum, 2002). Les fonctions physiologiques bénéfiques exercées par cette flore permettent de la comparer à « un organe dans un organe » (fig. 13) (O'Hara et Shanahan., 2006).

Le microbiote contribue à l'absorption de glucides et de lipides, et augmente le stockage de triglycérides dans les adipocytes en plus de l'élévation de l'activité du lipoprotéine lipase (Backhed et al., 2004-2005; Sonnenburg et al., 2005; Turnbaugh et al., 2006 ; Backhed et al., 2007). Par ailleurs, ce microbiote forme des métabolites absorbés et utilisés par l'organisme, facilite l'absorption des ions et le métabolisme des xénobiotiques, et accélère le transit intestinal. Au delà, la fermentation des glucides, en stimulant la protéosynthèse microbienne, diminue largement la disponibilité des métabolites potentiellement toxiques dérivés des protéines (Cuibai, 2008).

## **I.2.2. Les probiotiques.**

### **I.2.2.1. Historique et définition.**

Le terme probiotique vient de deux mots grecs « **pros** » et « **bios** » qui signifient littéralement «pour la vie» et qui est actuellement utilisé pour désigner des bactéries associées à des effets bénéfiques chez l'homme et les animaux (FAO/OMS, 2001; Cubai, 2008)

Le concept de probiotique est issu des travaux d'Eli Metchnikoff (1907) qui attribuait la longévité des paysans bulgares à la diminution du vieillissement résultant « de l'auto-intoxication intestinale », suite à leur consommation de yaourt contenant des *Lactobacillus* vivants, pour remplacer les microbes protéolytiques tels que *Clostridium* qui produit des substances toxiques (phénols, indoles et ammonium) à partir des protéines de la digestion, ce qui améliore l'hygiène digestive et augmente alors l'espérance de vie.

Le terme “**probiotiques**” fut d'abord introduit en 1965 par Lilly et Stillwell ; pour désigner les facteurs microbiologiquement dérivés stimulant la croissance des autres organismes. Depuis, ce terme a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques (Ait-Belgnaoui, 2006) :

-Selon Parker (1974), les probiotiques désignent « les microorganismes et les substances qui contribuent au maintien de l'équilibre de la flore intestinale ».

-Plus tard, Roy Fuller (1989) propose la définition « *supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale* » ; pour souligner l'importance de la viabilité des microbes, et renforcer le concept d'une action bénéfique sur la microflore intestinale.

-Récemment, les probiotiques se définissent comme « *des cultures microbiennes vivantes survivant le transit gastro-intestinale, où elles colonisent le système* » (Saarela *et al.*, 2000; Matilla-Sandholm *et al.*, 2002; Betoret *et al.*, 2003).

-D'autre part selon Margoles et Garcia (2003), le terme probiotique se réfère à « *des cultures de microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés à l'homme ou aux animaux, améliorent les propriétés de la microflore autochtone de l'hôte* ».

Cependant, la définition la plus largement acceptée du terme est celle de la consultation mixte d'experts (FAO/OMS, 2001) qui redéfinit les probiotiques comme « *des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte* ». Ce groupe a reconnu que les probiotiques doivent être capables d'exercer des prestations de santé sur l'hôte grâce à la croissance et / ou l'activité dans le corps humain (Leahy *et al.*, 2005).

#### **I.2.2.2. Les types de microorganismes.**

Les principaux microorganismes probiotiques connus à ce jour sont des bactéries (lactobacilles, bifidobactéries, propionibactéries, *Escherichia coli* et entérocoques), et des levures (*Saccharomyces boulardii*), présentes ou non dans la microflore intestinale résidente (tableau 9). Les genres *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium* qui appartiennent au groupe des bactéries lactiques sont principalement étudiés et utilisés (Vorland *et al.*, 1998; Kopp-Hoolihan, 2001 ; Ait-Belgnaoui, 2006).

##### ***I.2.2.2.1. Les bactéries lactiques.***

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, en bâtonnets ou en coques, hétéro- chimio-organotrophes avec un métabolisme aérobie facultatif. Elles sont asporulées, Gram (+), généralement immobiles, catalase et oxydase (-), et ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles. Ces bactéries ont en commun la

capacité de fermenter les sucres en acide lactique (Dellaglio *et al.*, 1994 ; Sanders, 2001 ; Fooks et Gibson, 2002).

Certaines sont dites «*homofermentaires* » car elles produisent majoritairement de l'acide lactique alors que d'autres sont dites «*hétérofermentaires* » et produisent de l'acide lactique en même temps que d'autres composés (acétate, éthanol et CO<sub>2</sub>) (Sillanpaa, 2001; Fooks et Gibson, 2002 ; Klaenhammer *et al.*, 2002).

Les bactéries lactiques sont représentées par plusieurs genres d'importance différente «*Lactobacillus, Pediococcus, Leuconostoc, Streptococcus, Bacillus, Clostridium, Propionibacterium, Bifidobacterium* » (De Roissart et Luquet, 1994 ; Leveau et Bouix ,1993) mais les principales classes probiotiques sont :

- *Le genre Lactobacillus.*

Il s'agit en général de bâtonnets non flagellés, non sporulés, catalase (-), Gram (+). Elles sont anaérobies facultatives, avec un métabolisme homo ou hétéro-fermentaire, un pourcentage de bases G+C variant de 32 à 55% et une faible variabilité dans la composition des peptidoglycanes (Ait-Belgnaoui, 2006 ; Corrieu, 2008 ; Izquierdo, 2009).

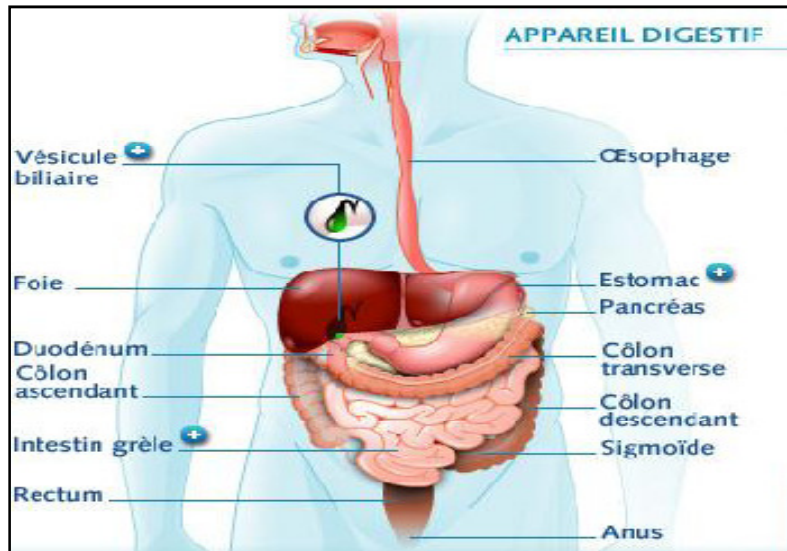
Parmi les 56 espèces de lactobacilles répertoriées, 21 ont été trouvées chez l'homme. Par ailleurs, Les principaux lactobacilles ayant des effets bénéfiques sur la santé humaine sont *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus johnsonii* La1, *Lactobacillus casei* Shirota, *Lactobacillus acidophilus* NCFM, *Lactobacillus plantarum* 299v et *Lactobacillus casei* DN-114 001. De nombreuses autres souches ont montré des effets intéressants in vitro qui n'ont pas toujours été validés par des études cliniques (Gill, 1998 ; Izquierdo, 2009).

- *Le genre Streptococcus.*

Les cellules de streptocoques sont des coques ou coccobacilles chimio-organotrophes, généralement groupées en paires et surtout en chaînes, de longueur variable (Corrieu et Luquet, 2008). L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), par son caractère non pathogène et ses propriétés probiotiques et technologiques (Guiraud et Rodec, 2004 ; Iyer, 2010).

- *Le genre Bifidobacterium.*

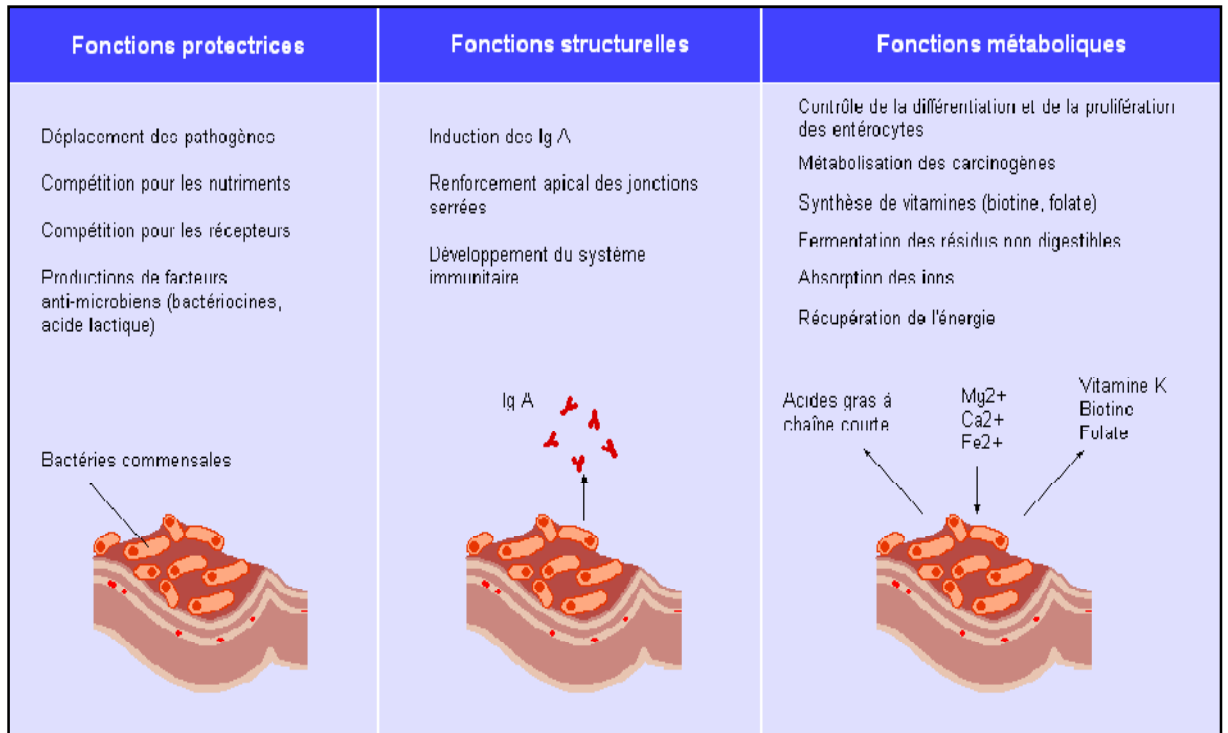
Les bifidobactéries sont des bâtonnets aux formes variées (bifide ou ramifié) dont la plus caractéristique est une forme en Y. Ce sont des Gram(+), immobiles, non sporulées,



**Figure 12:** Schéma montrant les compartiments de l'appareil digestif de l'homme (Ouwehand et Vesterlund, 2003).

**Tableau 8:** Les facteurs influençant la microflore intestinale (Holzapfel et al., 1998).

Groupe de facteurs	Type de facteurs
<b>Facteurs médiés par l'hôte</b>	-pH, sécrétions (immunoglobulines, bile, sels, enzymes)-Motilité (péristaltisme) -Physiologie (variable selon les compartiments) -Cellules détachées, mucines, exsudats de tissus.
<b>Facteurs microbiens</b>	-Adhésion et Motilité-Flexibilités nutritionnelles-Spores, capsules, enzymes, composants antimicrobiens-Temps de génération.
<b>Interactions microbiennes</b>	• Synergie -Coopération métabolique -Excrétion de vitamines et facteurs de croissances-Changement du <i>potentiel redox</i> , pH, tension d'O <sub>2</sub> .
	• Antagonisme/ Stimulation -Acides gras courte chaîne, amines -Changement du <i>potentiel redox</i> , pH et tension d'O <sub>2</sub> - Composants antimicrobiens, sidérophores -Besoins nutritionnels, etc...
<b>Régimes alimentaires</b>	-Composition, fibres non digestibles, médicaments, etc...



**Figure 13:** Les Fonctions de la flore intestinale sur la muqueuse intestinale (O'Hara et Shanahan, 2006).

**Tableau 9: principales souches probiotiques (Shah, 2007).**

Bactéries lactiques			Bactéries non Lactiques	Levures
<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Autres bactéries		
1. <i>acidophilus</i>	1. <i>adolescentis</i>	1. <i>Enterococcus</i>	1. <i>Bacillus sp</i> 2. <i>Escherichia coli</i> (souche Nestlé) 3. <i>Propionobacterium</i> <i>Freudenreichii</i>	1. <i>Saccharomyces</i> <i>Boulardii</i>
2. <i>amylovirus</i>	2. <i>bifidum</i>	<i>faecalis</i>		
3. <i>brevis</i>	3. <i>breve</i>	2. <i>Enterococcus</i>		
4. <i>casei</i>	4. <i>infantis</i>	<i>faecium</i>		
5. <i>cellobius</i>	5. <i>animalis</i> subsp	3. <i>Lactococcus</i>		
6. <i>Crispatus</i>	<i>lactis</i>	<i>lactis</i>		
7. <i>curvatus</i>	6. <i>laterosporus</i>	4. <i>Leuconostoc</i>		
8. <i>delbrueckii</i>	7. <i>longum</i>	<i>mesenteroides</i>		
9. <i>farciminis</i>	8. <i>thermophilum</i>	5. <i>Pediococcus</i>		
10. <i>fermentum</i>		<i>acidilactici</i>		
11. <i>gasseri</i>		6. <i>Sporolactobacillus</i>		
12. <i>gallinarum</i>		<i>inulunis</i>		
13. <i>helveticus</i>		7. <i>Streptococcus</i>		
14. <i>johnsonii</i>		<i>diacetylactis</i>		
15. <i>paracasei</i>		8. <i>Streptococcus</i>		
16. <i>plantarum</i>		<i>intermedius</i>		
17. <i>reutrei</i>		9. <i>Streptococcus</i>		
18. <i>rhamnosus</i>		<i>Thermophilus</i>		

non productrices de gaz, anaérobies strictes (sauf quelques espèces), catalase(-) (excepté *B. indicum* et *B. asteroides*), hétérofermentaires et saccharolytiques, ayant un pourcentage de bases G+C compris entre 55 et 67%, et dont la composition de leurs peptidoglycanes est très variable.

Leur température de croissance varie respectivement de 36 à 38°C et de 41 à 43°C et à des valeurs de pH comprises entre 6,5 à 7. Plus de 30 espèces sont maintenant connues, dont 10 ont été isolées chez l'humain. Les espèces les plus utilisées comme probiotiques sont *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 et *Bifidobacterium longum* (Dong *et al.*, 2000).

#### **I.2.2.2.2. Levures (*Saccharomyces boulardii*).**

La production d'aliments ou de boissons fermentés n'a, jusqu'alors, jamais fait appel à *S. boulardii*. Or, il s'avère d'une part, que cette levure peut servir, d'après le brevet déposé, à la production de tels aliments et d'autre part, qu'elle possède des propriétés probiotiques intéressantes.

En effet, ce microorganisme est employé, depuis fort longtemps, comme médicament probiotique à effet antidiarrhéique (spécialité Ultra-Levure). De plus, il a été mis en évidence que *S. boulardii* est un médicament efficace contre certaines maladies humaines et notamment pour la colite pseudo-membraneuse et l'amibiase (Ouwehand *et al.*, 2002).

#### **I.2.2.3. Les critères de sélection des probiotiques.**

Afin d'être conforme à la définition des probiotiques, les microorganismes doivent survivre, être actifs et persister temporairement dans le tractus digestif, mais ils doivent aussi procurer des effets positifs chez l'hôte. Or, toutes ces propriétés sont propres à chaque souche et ne peuvent être extrapolées d'une souche à une autre au sein de la même espèce (AFSSA, 2003). Les microorganismes potentiellement probiotiques doivent donc être sélectionnés selon les critères de sécurité, fonctionnels et technologiques (Mattila-Sandholm *et al.*, 1999 ; Saarela *et al.*, 2000).

##### **I.2.2.3.1. Critères de sécurité.**

La souche candidate au statut de probiotique doit être :

- destinée pour l'usage humain et d'origine humaine (isolée du tractus intestinal d'un homme sain) ou alimentaire (utilisée dans les produits fermentés).
- déposée dans une collection de cultures reconnue internationalement
- caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques

- historiquement non pathogène et doit avoir le statut « GRAS » (Generally Recognised As Safe).
- dépourvue de déconjugaison excessive des sels biliaires au risque d'induire des lyses cellulaires
- dépourvue de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques
- incapable de dégradation excessive du mucus

#### **I.2.2.3.2. Critères fonctionnels.**

La souche candidate au statut probiotique doit posséder les caractères suivants :

- tolérance à l'acidité et aux enzymes gastriques
- tolérance à la bile et aux enzymes intestinales
- adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus gastrointestinal
- immuno-stimulation
- production de substances antimicrobiennes (acides, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, bactériocines,...) et antagonisme vis-à-vis des pathogènes
- effets sur la santé documentés

#### **I.2.2.3.3. Critères technologiques.**

- stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini.
- conservation des propriétés probiotiques après production.

#### **I.2.2.4. La dose recommandée.**

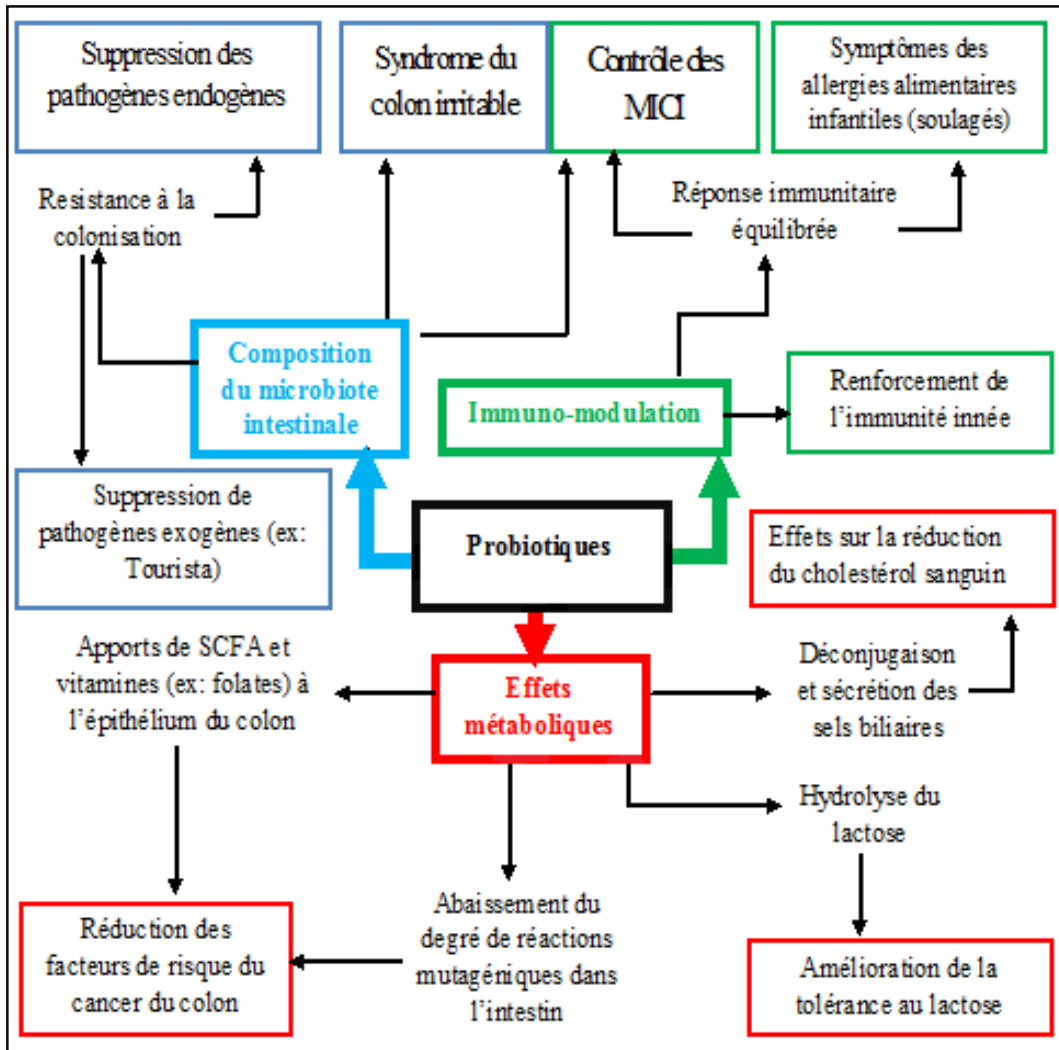
La dose conseillée de consommation de probiotiques est de 10<sup>9</sup> à 10<sup>10</sup> bactéries/jour afin d'avoir en général 10<sup>8</sup> à 10<sup>9</sup> bactéries vivantes accédant au duodénum et capables d'exercer leurs effets (Sanders et Huisin't Veld, 1999 ; Goldin *et al.*, 1992).

#### **I.2.2.5. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé.**

Plusieurs effets bénéfiques sur la santé associés à la consommation des probiotiques ont été documentés et rapportés dans la littérature (fig. 14) (Ouwehand *et al.*, 2002; Tamboli *et al.*, 2003; Bernardeau *et al.*, 2006; Doron et Gorbach, 2006; Ljungh et Wadstrom, 2006; Da Cruz *et al.*, 2010).

Les effets bénéfiques potentiels cités sont nombreux et variés selon les souches, tout en notant qu'il n'y a pas une souche probiotique en mesure de fournir tous ces avantages réunis (Gill *et al.*, 2000; Shah, 2007) (tableau 10, fig. 14)

Les bifidobactéries, les lactobacilles, ainsi que certains entérocoques, streptocoques et bactéroïdes, sont les plus distinguées par leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, tels que l'amélioration de la maturation et de l'intégrité de l'intestin et la modulation de la fonction immunitaire (Gershwin et Schiffrin, 2002; Schiffrin et Blum, 2002 ; Rastall, 2004).



**Figure 14:** Présentation des effets bénéfiques des probiotiques sur la santé

(Saarela *et al.*, 2000).

**Tableau 10: Effets bénéfiques sur la santé humaine de quelques souches probiotiques commerciales (Prioult, 2003)**

Souche	Producteur	Produit	Effet observé chez l'humain
<u><i>Lactobacillus rhamnosus GG</i></u>	Valio dairy (finlande)	Yaourts à boire Yaourts Capsules	Prévention et traitement des allergies Stimulation de la production d'IL-10 Diminution de l'incidence des diarrhées Diminution des diarrhées à rotavirus
<u><i>Lactobacillus Johnsonii</i></u> <u><i>La1(Li1)</i></u>	Nestlé (suisse)	Yaourts à boire Yaourts	Inhibition du développement de helicobactere pylori Stimulation de l'activité phagocytaire
<u><i>Lactobacillus Casei shirota</i></u>	Yakult (japon)	Yaourts à boire Laits fermentés	Augmentation des l'activité des cellules NK Diminution des diarrhées à rotavirus
<u><i>Lactobacillus Acidophilus</i></u> <u><i>NCFM</i></u>	Rhodia (USA)	Yaourts, Laits fermentés Formules infantiles Capsules	Diminution des diarrhées infantiles Facilite la digestion du lactose
<u><i>Lactobacillus Plantarum</i></u> <u><i>299y</i></u>	Proviva (suede)	Jus de fruits	Prevention des maladies cardiovasculaires
<u><i>Lactobacillus Casei DN-114001</i></u>	Danone (France)	Yaourts à boire	Stimulation de l'action d'IgA Diminution de l'incidence des diarrhées
<u><i>Bifidobacterium lactis Bb12</i></u>	Cht-hansen (USA)	Formules infantiles	Stimulation de l'action d'IgA et de l'activité phagocytaire Diminution de l'eczema atopique Stimulation de la croissance des bébés Modulation de la composition de la flore Prévention des diarrhées à rotavirus
<u><i>VSL3(melange de 7 souches) :</i></u> <i>L casei, L. plantarum, L acodophilus, L bulgaricus, B. longum, B. breve, B. infantis, S thermophilus</i>	CSL (Italie)	Capsules	Prévention de la pouchite et de ses rechutes

### **I.2.3. Les prébiotiques.**

#### **I.2.3.1. Définition.**

Un prébiotique est : «un ingrédient alimentaire non digestible qui produit un effet bénéfique chez l'hôte en stimulant de manière sélective la croissance et/ou l'activité d'une ou plusieurs espèce(s) bactérienne(s) dans le côlon » (Roberfroid, 1998).

Comparés aux probiotiques qui introduisent des bactéries exogènes, les prébiotiques modulent la composition de l'écosystème naturel, en privilégiant les microorganismes exerçant un effet positif (bifidobactéries et lactobacilles) (Roberfroid, 2001). Les effets bénéfiques des prébiotiques chez l'homme sont reportés au tableau 11.

#### **I.2.3.2. Principaux prébiotiques.**

Parmi les nombreux candidats prébiotiques, les plus connus et étudiés sont les fructanes (fructo-oligosaccharides ou FOS, oligofructose et inuline) et d'autres oligosides de galactose et transgalactose (GOS et TOS). Le lactulose, Certains amidons résistants et des sucres alcools ainsi que d'autres glucides comme (xylooligosaccharides, isomaltooligosaccharides, glucooligosaccharides, etc.) pourraient aussi avoir des propriétés prébiotiques (Tableau 10) (Schulze et Zunft, 1991; AFSSA, 2003)

##### **I.2.3.2.1. L'inuline et les fructo-oligosaccharides.**

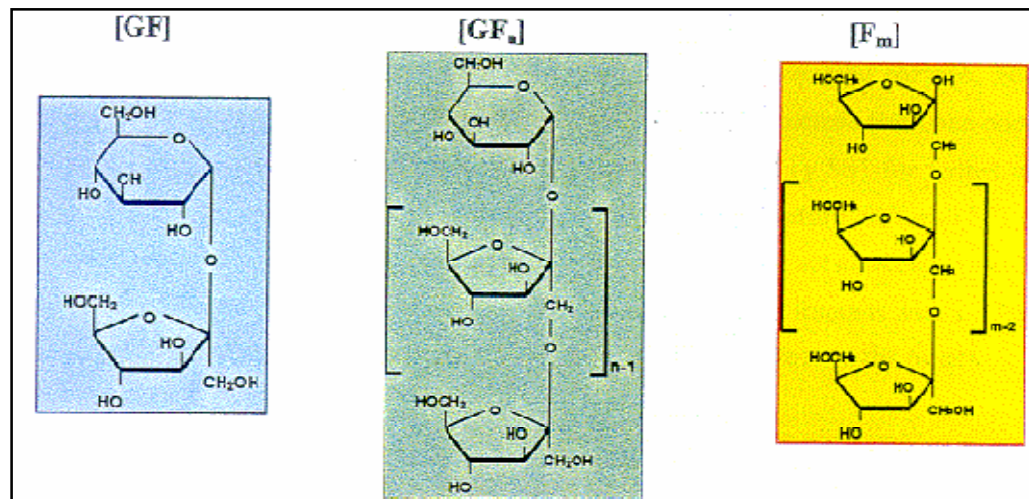
Jusqu'à présent, l'inuline et l'oligofructose (fig. 15) sont de loin les prébiotiques les plus étudiés, tant du point de vue nutritionnel que technologique (Roberfroid, 1997).

L'inuline est un mélange d'oligomères et de polymères de  $\beta$  (2-1) fructose, avec (DP= 2 à 60), et dont sa structure peut être représentée par la formule GF<sub>n</sub> « G : unité glycosyl, F : unité fructosyl, n : nombre des unités fructosyl liées » (De Leenheer et *al.*, 1994; Tournié, 2006). Il y a souvent une molécule de glucose liée en  $\alpha$  (1-2) à l'extrémité de chacune de ces chaînes de fructose, mais l'inuline contient aussi des chaînes où elle est absente (Coussement et *al.*, 2001)

Les racines de chicorée *Cichorium inrybus* (>70% inuline), sont celles les plus utilisées pour sa production industrielle, qui comporte une extraction à l'eau chaude, suivie du raffinage par des échangeurs d'ions, puis de l'évaporation et du séchage par atomisation (De Leenheer, 1996; Pool-Zobel, 2005; Roberfroid, 2005). Ce prébiotique

**Tableau 11 : Exemples de composés prébiotiques commercialisés** (Grizard et Barthomeuf, 1999 ; Franck, 2002)

Prebiotiques	Nom	Structure	Fournisseur
oligofructoses	Raftilose®	Fru-Frun + Glc-Frun	Orafti (Belgique)
fructooligosaccharides	Actilight®	Glc-Frun	Beghin Meiji Industries (France)
galactooligosaccharides	Oligomate®	Glc-Galn	Yakult (Japon)
lactulose	MLS-50®	Gal-Fru	Morinaga (Japon)
oligosaccharides de soja	Soya-Oligo	Galn-Glc-Fru	Calpis (Japon)
isomaltooligosaccharides	IMO 900	Glc	Showa Sangyo (Japon)
glucooligosaccharides	Bioecolia®	Glc	Solabia (France)
mannooligosaccharides	Bio-MOS®	Mann	Alltech Biotechnology (USA)
xylooligosaccharides	Xylo-oligo	Xyl	Suntory (Japon)



**Figure 15: Structure du sucrose (GF), de l'inuline (GF<sub>n</sub>), de l'oligofructose (F<sub>m</sub>)**  
(Bryan, 2000)

est fabriquée depuis une décennie par Orafti et Cosucra (Belgique) et plus récemment aussi par Sensus (Pays-Bas), et il est disponible sous forme de poudre blanche, inodore, et légèrement (10%) ou pas du tout sucrée. (Ziar, 2007)

Les fructooligosaccharides (FOS) ou oligofructoses (OF) sont des oligosaccharides de fructose reliés par des liaisons  $\beta$  (2-1) avec un (DP=2 à 10), sont issus de la dégradation de l'inuline ou présents tels quels dans les végétaux (Hoebregs, 1997; Femia *et al.*, 2002).

Ils peuvent être obtenus par l'hydrolyse enzymatique partielle de l'inuline de chicorée, éventuellement suivie d'un séchage par atomisation, pour donner l'oligofructose en GF<sub>n</sub> et F<sub>m</sub> avec (n =2 à 7) (Bornet, 1994 cité par Ziar 2007 ; Coussement et al., 2001 ; Guarner, 2005), ou bien synthétisés à partir de saccharose en recourant à une fructosyl-transférase sous forme (GF<sub>n</sub>) avec (n=2 à 4) (Bornet, 1994 cité par Ziar 2007 ; Niness, 1999 ; Guarner, 2005)

L'oligofructose est beaucoup plus hydrosoluble que l'inuline (près de 80% dans l'eau à température ambiante), et à l'état pur-il a une saveur sucrée d'environ 35% par rapport au saccharose. Il se présente sous forme de poudre ou de sirop incolore visqueux (75% de matière sèche) (Ziar, 2007).

L'inuline et les fructo-oligosaccharides se trouvent en quantité appréciable chez une grande variété de plantes y compris les céréales, les légumes et les fruits: blé, asperge, oignon, ail, poireau, artichaut et banane (Van Loo et al., 1995).

En plus de leur rôle prébiotique, ces substances sont capables de moduler potentiellement les paramètres immunitaires au niveau du tissu lymphoïde associé au tube digestif, et peuvent être utilisés, soit pour leurs avantages nutritionnels, soit pour leurs propriétés technologiques (gélifiants, liants, principaux ingrédients des préparations allégées) (Coussement, 1996 ; Walter, 1999 ; Watzl *et al.*, 2005). Or, les fructanes issus d'inuline ont une action anti-cancérogène bien définie surtout au niveau colorectal (tableau 12) (Pool-Zobel *et al.*, 2002; Pool-Zobel, 2005).

#### **I.2.3.2.2. Les galacto-oligosaccharides (GOS).**

Les galacto-oligosaccharides (GOS), également appelés oligosaccharides trans-galactosylés, sont fabriqués à partir de lactose à l'aide d'une  $\beta$ -galactosidase. Ils

**Tableau 12: Effets positifs des prébiotiques sur la santé** (Bornet *et al.*, 2002 ; Franck, 2002 ; AFSSA, 2003)

<b>Evidences scientifiques fortes</b>	
<b>Effets</b>	<b>Mécanismes impliqués</b>
faible valeur calorique	-non digestibilité et fermentation colique complète en lactate, acides gras à chaîne courte (acétate, propionate et butyrate) et gaz (CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> )
modulation de la flore intestinale	-fermentation sélective par la flore positive endogène au détriment de la flore pathogène
amélioration de la motilité intestinale et soulagement de la constipation	-augmentation de la pression osmotique -production de butyrate fournissant de l'énergie aux colonocytes -production de gaz -accroissement de la biomasse bactérienne
<b>Evidences scientifiques Prometteuses</b>	
<b>Effets</b>	<b>Mécanismes impliqués</b>
stimulation de l'absorption des minéraux et réduction des risques d'ostéoporose	-acidification du milieu améliorant la solubilisation du calcium et du magnésium
effet hypolipidémique, effet hypoglycémique et prévention du diabète	-production d'acétate et de propionate modulant la lipogenèse hépatique-production de propionate modulant la gluconéogenèse hépatique-libération d'hormones intestinales (incrétines)
diminution des diarrhées	-fermentation sélective par la flore positive endogène au détriment de la flore pathogène-production d'acides gras à chaîne courte stimulant l'absorption d'eau par le côlon
diminution du risque du cancer du côlon	-modulation du système immunitaire via la flore endogène -production de butyrate régulant la prolifération des cellules altérées-modulation de la flore positive exhibant une faible activité enzymatique carcinogénique
prévention des infections intestinales	-fermentation sélective par la flore endogène positive -production d'acides gras à chaîne courte induisant un environnement acide-modulation du système immunitaire via la flore endogène

contiennent un mélange d'oligosaccharides, principalement avec 3 à 6 unités monomériques, de structure chimique G-Galn dont les unités galactosyls sont essentiellement liées par des liaisons  $\beta(1-6)$  et  $\beta(1-4)$  (Crittenden et Playne, 1996).

Les GOS présentent une solubilité élevée, une saveur modérément sucrée (30% du pouvoir sucrant du saccharose), une faible viscosité et une meilleure résistance à l'hydrolyse acide. Ils ne sont ni hydrolysés, ni absorbés dans l'intestin grêle mais sont fermentés rapidement dans le côlon proximal; en particulier par les bifidobactéries (Bouhnik et *al.*, 1997).

Ils sont produits sous forme poudreuse ou en sirops, par les sociétés Yafuh Honsha, Nissin Sugar et Snow Brand Milk au Japon et Borculo Domo higrédients au Pays-Bas. Il faut noter que les GOS sont également présents en faible quantité dans le lait de femme (Kunz et *al.*, 2000).

#### **I.2.3.2.3. Les oligosaceharides de soja.**

Contrairement aux autres oligosaccharides non digestibles, les oligosaccharides de soja; le raffinose et le stachyose, sont obtenus directement de la matière première sans étape enzymatique, et sont ensuite ajoutés concentrés pour obtenir un sirop visqueux (Crittenden et Playne, 1996). Non encore présents en Europe et aux Etas-Unis, ils sont, en revanche, produits au Japon par la société Calpis, et ils sont déjà incorporés dans des boissons et des édulcorants de table (Tuohy et *al.*, 2003).

Dans le gros intestin, le raffinose et le stachyose semblent agir comme facteurs bifidogènes, lorsqu'ils sont ingérés par des volontaires humains à une dose journalière de 10g (Hayakawa et *al.*, 1990 ; Bouhnik et *al.*, 2004). Le raffinose a également permis de réduire le taux de cholestérol sanguin chez les rats (Tortuero et *al.*, 1997).

#### **I.2.3.2.4. Lactulose.**

Le lactulose (4-O- $\beta$ -D-galactosyl-D-fructose) est un disaccharide synthétique dérivé du lactose par isomérisation, produit notamment par Solvay (Pays-Bas) et par Morinaga (Japon). Les deux sucres qui le composent sont liés entre eux par une liaison  $\beta$  glycosidique, le rendant ainsi résistant à l'action des enzymes digestives de l'homme.

Il est très soluble dans l'eau, ayant un goût sucré, plus que celui du lactose mais moins que celui du fructose, il est essentiellement utilisé comme produit pharmaceutique,

son utilisation dans les produits alimentaires pourrait être autorisée à l'avenir (Franck, 2002). A l'instar de sa qualité laxative, il n'est pas digéré dans l'intestin grêle de l'homme mais il est fermenté rapidement par la microflore du côlon (Crittenden, 1999).

Selon Ballongue et *al.* (1997), l'administration du lactulose à une dose de 20 g/j pendant 4 semaines chez l'homme a montré un accroissement significatif du nombre de bifidobactéries et de lactobacilles, alors que les populations de clostridies et de coliformes étaient diminuées.

#### **I.2.3.2.5. Autres prébiotiques.**

De nombreux autres glucides pourraient revendiquer l'appellation prébiotique :

- certains oligosaccharides au moins partiellement hydrolysés et absorbés dans l'appareil gastro-intestinal supérieur (xylo-oligosaccharides, isomalto-oligosaccharides, gluco-oligosaccharides, féruloyl-oligosaccharides) (Tuohy et *al.*, 2005; Yuan et *al.*, 2005).
- Certains amidons résistants et des sucres alcools (Topping et *al.*, 2003; Nugent, 2005).
- Le lactose qui échappe à la digestion dans l'intestin grêle de l'enfant (Schuize et Zunfi, 1991; Kien, 1996).

#### **I.2.3.3. Critères de sélection.**

Pour répondre à la définition des prébiotiques, les molécules doivent pouvoir atteindre intactes le côlon où elles pourront alors être fermentées sélectivement dans l'écosystème intestinal complexe. Les candidats prébiotiques doivent être sélectionnés selon des critères de sécurité, fonctionnels et technologiques (Franck, 2002 ; AFSSA, 2003).

##### **a) Critères de sécurité :**

- produits ou organismes à l'origine de l'ingrédient parfaitement caractérisés (isolé d'un produit végétal, animal ou microbien, ou d'un ingrédient produit par synthèse chimique ou microbienne).
- procédé d'obtention parfaitement décrit
- identification et caractérisation des molécules actives
- identification des microorganismes ciblés pour la fermentation

- pas de production excessive de gaz

**b) Critères fonctionnels:**

- non digestibilité et non assimilation dans la partie supérieure du système gastro-intestinal
- fermentescibilité dans le côlon de façon sélective par un nombre limité de bactéries potentiellement favorables
- 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.

**c) Critères technologiques:**

- pas de modification de l'ingrédient au cours des transformations et du stockage des préparations.

**I.2.4. Les synbiotiques.**

Le synbiotique a d'abord été défini par Gibson et Roberfroid en 1995 puis validé par l'AFSSA en 2003 : « Un composé synbiotique est un produit qui contient à la fois un (des) probiotique(s) et un (des) prébiotique(s) ». Par ailleurs, et d'une façon générale pour tous les synbiotiques, les mêmes considérations de caractérisation, sécurité d'emploi et démonstration d'effets bénéfiques que celles utilisées pour les probiotiques et les prébiotiques doivent être appliquées (AFSSA, 2003)

Un synbiotique n'est pas une symbiose entre deux organismes, mais une synergie entre un prébiotique et un probiotique. C'est pourquoi nous avons choisi d'écrire en français « synbiotique » plutôt que « symbiotique » (Tredez, 2008).

**Chapitre II**  
**MATERIELS**  
**ET**  
**METHODES**

## **Chapitre II : Matériels et méthodes.**

### **II.1. Nature et origine des souches.**

#### **II.1.1. Les bactéries lactiques.**

Le mélange de ferment lactique comportant *Streptococcus thermophilus* (à 99%) et *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* (à 1%) de référence CK-340 conditionné sous forme lyophilisée est fourni par CHR Hansen (Danemark).

#### **II.1.2. Les souches bénéfiques.**

Elles sont représentées par les souches suivantes :

- *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* : Bb12: il s'agit d'une souche de référence à statut probiotique reconnu mondialement provient de chez CHR Hansen (Danemark).
- *Lactobacillus rhamnosus* : LBRE-LSAS : c'est une souche (issue de la collection de notre laboratoire LMBAFS, université de Mostaganem).

### **II.2. Vérification de l'identité des souches.**

L'identité des souches a été vérifiée sur la base de caractères morphologiques et biochimiques : la catalase, du profil fermentaire et du Gram.

- L'étude morphologique est portée sur l'observation macroscopique qui consiste à décrire les colonies obtenues sur milieu solide après incubation (taille, pigmentation, contour, aspect,...) et après coloration de Gram, l'examen microscopique permet de déterminer la morphologie des cellules bactériennes (taille, forme et mode d'association).

- La recherche de la catalase

La technique consiste à prélever une partie de colonie et à l'émulsionner dans une goutte d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Une réaction positive est révélée par le dégagement de bulles gazeuses :



### **II.3. Préparation de la poudre de gousses et extraction des fibres de caroube.**

Les gousses mures de caroube sont récoltées en novembre- décembre 2012 dans la région de sebt beni chaib (commune de bordj bonaama de la wilaya de Tissemsilt. Elles ont la même couleur (brune foncée) et une taille et forme similaire.

Après nettoyage, les gousses sont fragmentées, débarrassées de leurs graines puis séchées à l'étuve à 103° pendant 24h. Ces fragments sont ensuite finement broyés pour donner des particules de 1mm de grandeur.

La poudre est soumise à une double extraction aqueuse (rapport eau /poudre: (4/1:P/V) (Biner et al., 2007; Wursch, 2012) à chaud (60°C/15mn et 110°C/30mn), suivie d'une filtration à travers la gaze et d'un lavage. Ce protocole est répété 3 fois, et le 3<sup>ème</sup> gâteau est séché puis affiné à une taille de particules comprise entre 0,2 et 0,6 mm (Wursch, 2012).

Le principe de cette méthode est d'exploiter la composition de pulpe de caroube riche en « sucres simples et fibres mais pauvre en protéines et en lipides » d'un côté, et « l'hydro-solubilité » de ces constituants d'un autre côté, afin d'obtenir un extrait riche en fibres.

L'eau chaude permet de solubiliser la majeure partie des sucres simples et tanins hydrolysables qui représentent la fraction dominante non fibre de la farine de pulpe, tandis que les fibres de caroube, caractérisés par leur forte insolubilité, restent en suspension pour être récupérées par filtration.

### **II.3.1. Analyse de l'extrait.**

#### **II.3.1.1. Dosage des fibres brutes (cellulose brute).**

Le dosage des fibres brutes est réalisé par la méthode de Henneberg et Stohmann (1860) cité par (Gaouar, 2011) appelée aussi la méthode Weende en utilisant un extracteur des fibres brutes *FIWE-VELP SCIENTIFICA* (fig. 16).

##### **II.3.1.1.1. Principe.**

Le principe de ce dosage consiste à traiter l'échantillon à analyser successivement avec de l'acide sulfurique et de la potasse. L'hydrolyse acide/ basique (à chaud) permet de solubiliser la quasi-totalité du contenu cellulaire à l'exception des fibres alimentaires et des sels minéraux.



**Figure 16:** appareil extracteur de fibres

#### **II.3.1.1.2. Mode opératoire**

- Préparer deux solutions : l'une d'acide sulfurique à 1,25 % et l'autre d'hydroxyde de potassium (KOH) à 1,25 % ;
- introduire dans un creuset 1g d'échantillon séché et broyé puis ajouter 150ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 1,25% ;
- après préchauffage et juste au début de l'ébullition, ajouter trois gouttes de N -octanol comme agent anti-mousse et compter exactement 30min ;
- vidanger l'acide sulfurique tout en lavant trois fois avec 30ml d'eau distillée chaude ;
- ensuite ajouter 150 ml de KOH à 1.25 % ; préchauffer, ajouter 3 gouttes de N-octanol et compter encore une fois 30 min;
- procéder à un deuxième lavage trois fois avec 30 ml d'eau distillée chaude ;
- effectuer un dernier lavage avec de l'eau distillée froide (30 ml) ;
- la dernière étape consiste à rincer les résidus contenus dans les creusets 3 fois avec 25 ml d'acétone ;
- introduire les creusets dans une étuve réglée à 105°C pendant une 1h jusqu'à l'obtention d'un poids constant (M2); ce poids représente les fibres brutes plus la teneur en cendres par rapport au poids initial ; c'est pour cela qu'il est nécessaire de poursuivre l'opération en plaçant les creusets dans un four à moufle à 550°C jusqu'à ce que la couleur des résidus devienne blanc grisâtre ;
- laisser les creusets refroidir dans un dessiccateur et peser (M3).

-La teneur en fibres brutes est calculée par la formule:

$$F \% = (M2 - M3) \times 100$$

### **II.3.2. Propriétés physicochimiques de l'extrait.**

#### **II.3.2.1. Mesure du pH.**

Le pH est déterminé potentiométriquement avec un pH-mètre en utilisant une solution de fibre à 10% (P/V) (Miguel et beloso, 1999).

#### **II.3.2.2. Détermination de la capacité de gonflement (Swelling Capacity = SC).**

200 mg de l'extrait de fibres est hydraté dans 10 ml d'eau distillée contenant 0,02% d'azide de sodium comme agent bactériostatique, dans un tube gradué (1,5cm de diamètre) (Cheickna et Zhang, 2011). Le tube est placé dans l'étuve à 25°C pendant 18h, après équilibrage le volume de lit est enregistré et exprimé en ml/g d'extrait (Robertson et al, 2000; Cheickna et Zhang, 2011) :

$$SC = \frac{\text{volume occupé par l'échantillon}}{\text{poids sec de l'échantillon original}} \text{ (ml eau / g extrait)}$$

#### **II. 3.2.3. Détermination de la capacité de rétention d'eau (Water Holding Capacity = WHC).**

On hydrate 1g d'extrait de caroube dans 30ml d'eau distillée contenant l'azide de sodium à 0,02% comme agent bactériostatique. L'hydratation est maintenue pendant 18 h, ensuite le surnageant est éliminé et le culot est récupéré pour être pesé (Cheickna et Zhang, 2011).

Par la suite, le culot est séché à 110°C, et re-pesé pour exprimer le WHC en g eau/ g extrait sec (Robertson et al, 2000; Cheickna et Zhang, 2011):

$$WRC = \frac{\text{poids frais de résidu(P1)} - \text{poids sec de résidu(P2)}}{\text{poids sec de résidu(P2)}} \text{ (g eau/g échantillon)}$$

#### **II.3.2.4. Détermination de la capacité de liaison d'eau (Water Binding Capacity = WBC).**

1g de l'extrait est hydraté dans un tube de centrifugeuse contenant 30 ml d'eau distillée avec 0,02% d'azide de sodium (agent bactériostatique) (Cheickna et Zhang, 2011). Après équilibrage à l'étuve (25°/18h), l'échantillon est centrifugé à 3000g/20min puis pesé après élimination du surnageant (P1) (Cheickna et Zhang, 2011).

Il est ensuite séché à 105°/24h et pesé une deuxième fois (P2) (Robertson et al, 2000; Cheickna et Zhang, 2011). La capacité de liaison d'eau est donnée par la formule suivante:

$$\text{WBC} = \frac{\text{poids frais de résidu(P1)} - \text{poids sec de résidu(P2)}}{\text{poids sec de résidu(P2)}} \quad (\text{g eau/g échantillon})$$

#### **II.3.2.5. Détermination de la capacité de rétention d'huile** (Oil Holding Capacity = OHC).

Un échantillon de poudre de pulpe de caroube de 250 mg est mélangé vigoureusement avec 25 ml d'huile d'olive commerciale, puis laisser à l'étuve à 25°/1h. (Miguel et belloso, 1999; Ruth et al., 2012).

Après centrifugation le résidu est pesé et l'OHC est exprimé en g huile/g échantillon (Miguel et belloso, 1999; Cheickna et Zhang, 2011 ; Ruth et al., 2012).

$$\text{OHC} = \frac{\text{poids de résidu centrifugé} - \text{poids sec de résidu}}{\text{poids sec de résidu}} \quad (\text{g huile/g échantillon})$$

#### **II.4. Préparation du lait et choix des concentrations utilisées.**

Le lait écrémé (0% matière grasse) reconstitué à raison de 10% (P/V), a été distribué à raison de 10ml dans des tubes à essai contenant préalablement des concentrations croissantes de fibres (0,5 ; 1 ; 1,5 et 2% : P/V) avant d'être pasteurisé dans un bain Marie à une température de 92°C pendant 5 min (Sodini et al., 2002). Le lait ne contenant pas de fibres constitue le témoin dans cette expérience.

Les concentrations de fibres sont choisies selon les travaux de Shin et al (2000) pour 0,5%, Sendra et al (2008) pour 1%, Fernandez-Lopez et al (2004) pour 1,5%, et de Ayse et al. (2004) pour la concentration de 2%.

#### **II.5. Les milieux de cultures utilisés et les conditions de croissance.**

Tous les milieux sont préparés avec les composants appropriés, pour être ensuite autoclavés à 121°C pendant 15 min.

- **Milieu MRS (De Man, Rogossa et Sharpe)** (De Man et al., 1960)

Glucose.....	20g
Peptone .....	10g
Extraits de viande de bœuf .....	8g
Acétate de sodium, 3H <sub>2</sub> O .....	5g
Extraits de levure .....	4g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	2g
Citrate d'ammonium .....	2g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O .....	0.2g
MnSO <sub>4</sub> , 4H <sub>2</sub> O .....	0.05g
H <sub>2</sub> O .....	1000ml
Tween 80 .....	1ml
pH .....	6.5±0.2

**II.5.1. Les ferments lactiques.**

La mise en culture des ferments lactiques a été faite dans le milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe, 1960) liquide. (Dave et shah, 1996).

Ce MRS bouillon acidifié à pH 5.2 et solidifié par l'ajout de 10g/l d'Agar-Agar a été utilisé pour dénombrer la souche *Lactobacillus bulgaricus* (Saxelin et al., 1999). Cependant, *Streptococcus thermophilus* est dénombrée sur milieu ST ajusté à pH= 6,8 et additionné d'une solution de pourpre de bromocrésol à 0,5% (V/V), et solidifié par 12g d'agar agar (Dave et shah, 1999).

**II.5.2. Les souches bénéfiques.**

Le MRS bouillon à pH 5.2 est utilisé pour cultiver *Lactobacillus rhamnosus*, alors que la culture des bifidobactéries, est faite dans le même milieu modifié par addition de 5g/l de lactose et 0.5g/l de chlorhydrate de cystéine, c'est le MRS-L (Sykes et Skinner, 1973)

La gélose MRS acidifiée à pH 5.2 et additionnée de 50mg/l de vancomycine est choisi pour le dénombrement de *Lactobacillus rhamnosus* (Saxelin et al., 1999).

Le dénombrement des bifidobactéries est effectué dans le milieu MRS lactosé cystéiné additionné d'Agar-Agar (à raison de 10g/l), 3g de chlorure de lithium, 2g de propionate de sodium et 5ml d'acide propionique qui est le MRS-LP (Vinderola et Reinheimer, 1999)

- **Dilution simple (DS)** (Nebra et Blanch, 1999)

Peptone .....	1g
NaCl .....	8.5g

L-cystéine HCl.....	0.05g
H <sub>2</sub> O .....	1000ml
pH .....	7.0±0.2

- **Milieu ST (*Streptococcus thermophilus* Agar)** (Dave et shah, 1996)

Tryptone.....	10g
Sucrose.....	5g
Extrait de le.vure.....	5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	2g
H <sub>2</sub> O.....	1000ml
pH.....	6,8±0,1

Les conditions de croissance, et la nature des milieux de cultures des différentes souches utilisées sont récapitulées dans le tableau 14 :

**Tableau 13 : Les différents types de milieux de culture et les conditions de croissance.**

Souches	Nature des milieux	Temps et température d'incubation
<i>Streptococcus thermophilus</i>	MRS bouillon pH 6,8 (Dave et shah, 1996).	37°C/24h en aérobiose
	ST gélosé pH 7.1 (Terzaghi et sandine, 1975).	37°C/72h en aérobiose
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	MRS bouillon pH 6,8 (De Man et al., 1960)	42°C/24h en anaérobiose
	MRS-ac gélosé pH 5.2 (Dave et Shah., 1996)	42°C/72h en anaérobiose
<i>Bifidobacterium animalis subsp lactis Bb12</i>	MRS-L bouillon pH 5,2(Sykes et Skinner, 1973)	37°C/24h en anaérobiose
	MRS-LP gélosé pH 6.8 (Vinderola et Reinheimer, 1999)	37°C/72h en anaérobiose
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	MRS bouillon pH 5.2 (De Man et al., 1960)	42°C/24h en anaérobiose
<b>LbRE-LSAS</b>	MRS-vancomycine pH 5.2 (Saxelin et al., 1999)	42°C/72h en anaérobiose

**II.6. La culture des deux ferments lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) en présence d'une souche bénéfique.**

De jeunes cultures de 24h de starters et de souches bénéfiques sont lavées et ajustées à une concentration cellulaire approximative de 10<sup>6</sup> à 10<sup>7</sup> UFC/ml. Ces cultures vont servir d'inoculum pour les échantillons de lait stérile à raison de 3% (V/V), dont le rapport entre le ferment mixte (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) et les souches bénéfiques est de (1-1).

Les tubes de lait stérile sontensemencés puis incubés à 37°C en aérobiose jusqu'à apparition de coagulation, et la fermentation est stoppée volontairement à pH 4,7 par refroidissement des échantillons. Les laits ainsi fermentés sont conservés à +4°C pendant 28 jours.

Chaque manipulation est conduite en triple et répétée 3 fois.

## **II.7. Détermination de la cinétique de croissance.**

Un prélèvement d'échantillon de lait de 1ml est effectué à des intervalles de 2 h à partir du démarrage (0 h) jusqu'à la coagulation du lait (pH 4,7). Le dénombrement des cellules est effectué après une série de dilutions au 1/10 dans la solution dilution simple (DS). L'agitation au vortex permet d'homogénéiser les échantillons prélevés. Le dénombrement des colonies est effectué sur un aliquot de 100µl que l'on étale sur boîte de pétri dans laquelle a été coulé le milieu approprié.

- Les vitesses spécifiques maximales de croissance ( $\mu_{\max}/\Delta t$ ) de chaque culture bactérienne sont calculées selon l'équation donnée par Desjardins et *al.* (1991).

$$\mu_{\max}/\Delta t = \ln X_2 - \ln X_1 / t_2 - t_1$$

Où  $X_1$  et  $X_2$  représentent les quantités de biomasse accumulées aux temps  $t_1$  et  $t_2$  de la croissance exponentielle, respectivement.

- Le temps de génération ( $T_g$ ) est calculé comme suit :

$$T_g = \ln 2 / \mu \quad (\text{Ln : logarithme népérien.})$$

## **II.8. Détermination de la cinétique d'acidification.**

La cinétique d'acidification du lait est suivie par la mesure du pH à des intervalles de 2 h à compter du démarrage (0 h) jusqu'à la fin de fermentation (pH 4,7). Les vitesses maximales d'acidification ( $\Delta \text{pH}_{\max}/\Delta t$ ) de chaque culture bactérienne sont calculées selon l'équation donnée par Desjardins et *al.* (1991) :

$$\Delta \text{pH}_{\max}/\Delta t = \text{pH}_1 - \text{pH}_2 / t_2 - t_1$$

Où  $pH_1$  et  $pH_2$  sont les valeurs de pH enregistrées aux temps  $t_1$  et  $t_2$  de la phase exponentielle, respectivement.

### **II.9. Détermination de la post-acidification du lait fermenté entreposé à 4°C.**

L'évolution de l'acidité post-fermentaire du yaourt au cours de sa conservation à 4°C a été déterminée par la mesure de son pH chaque semaine durant une période de 28 jours.

### **II.10. Détermination de la survie des souches bactériennes dans le lait fermenté entreposé à 4°C.**

La survie des souches bénéfiques et des ferments lactiques a été déterminée chaque semaine sur un échantillon de 1g de lait fermenté dilué au 1/10 avec une solution stérile de DS (0.1% de peptone : P/V) permettant le dénombrement des colonies obtenues après incubation sur milieu approprié.

Le taux de survie est calculé selon l'équation rapportée par Ustunol et Gandhi (2001) :

$$\text{Viabilité \%} = (\text{UFC à la } n^{\text{ième}} \text{ semaine d'entreposage} - \text{UFC initial}) \times 100$$

### **II.11. Analyse statistique des résultats.**

Chaque expérience a été indépendamment réalisée en trois exemplaires et chaque exemplaire répété trois fois dans un dispositif en randomisation totale et les résultats obtenus ont été soumis à l'analyse de variance (ANOVA) en utilisant le logiciel Statbox (V.6.40 copyright Grimmer logiciels 1997-2002 Paris).

La comparaison de moyennes a été réalisée par le test de Student-Newman-Keuls au seuil de 5% pour comparaison multiple. La différence est considérée significative à  $P < 0.05$ .

# **Chapitre III**

## **Résultats et**

### **Discussion**

## **CHAPITRE III:     **RESULTATS ET DISCUSSION.****

### **III.1. Identification des souches.**

Les résultats de l'observation morphologique macro et microscopique, ainsi que les tests biochimiques effectués sur les souches lactiques et bénéfiques ont permis de confirmer que ces espèces appartiennent bien à leurs genres spécifiques (fig. 17 et 18).

### **III.2. Le rendement d'extraction des fibres de caroube.**

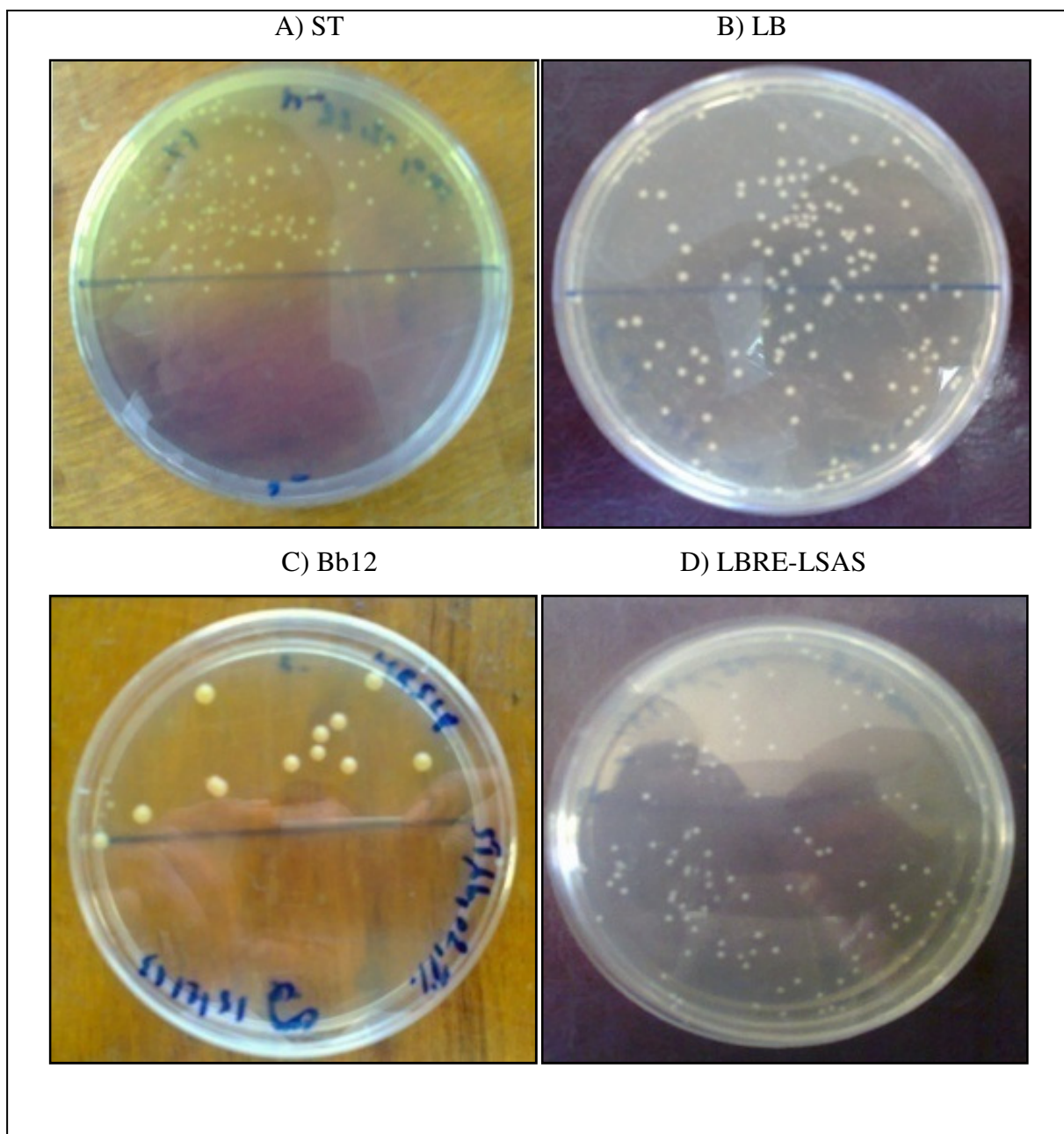
L'utilisation de 365g de poudre de pulpe de caroube a donnée 67 g d'extrait riche en fibres, de couleur sombre et d'une taille <1mm (fig. 19). Le rendement est de l'ordre de 18,35%.

#### **III.2.1. Teneurs en fibres brutes de la pulpe de caroube.**

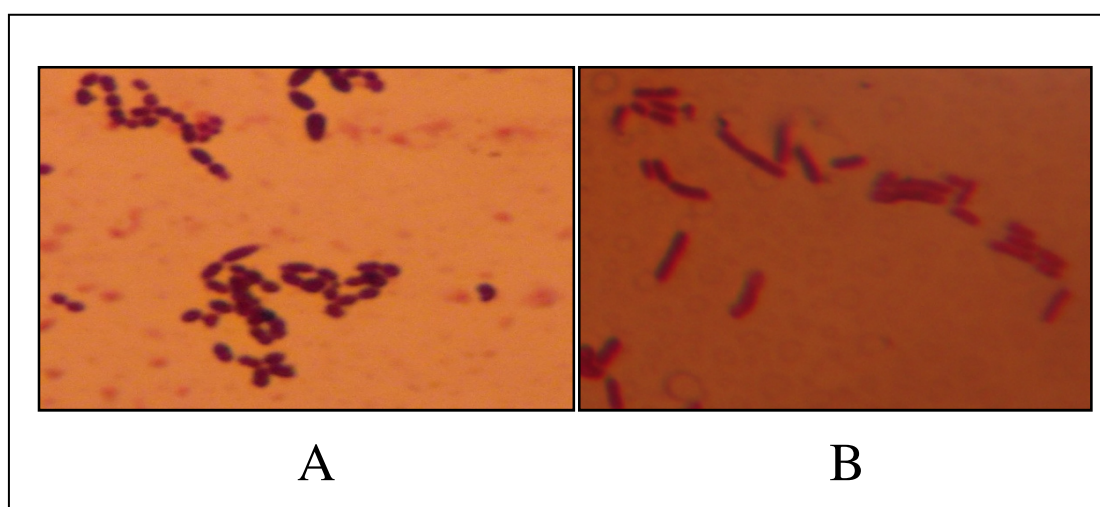
Le résultat de dosage des fibres brutes dans la pulpe de caroube obtenu par la méthode Weende est de l'ordre 22.76 % (P/V). Ce résultat est comparable avec celui rapporté par les travaux de Mis (2011), qui trouve un taux de 24.8% dans un produit commercial de fibres de caroube appelé « Carob fiber » et provenant de la société espagnole (Carob General Application, Valencia).

Selon Walter (1999), la méthode Weende sous évalue le taux réel des fibres en raison des conditions acido-basiques drastiques d'hydrolyse qui provoquent la dissolution des substances pectiques, gommés, mucilages, la majeure partie des hémicelluloses, et environ la moitié de la lignine. Les fibres brutes contiennent donc la totalité de la cellulose vraie, une fraction variable mais faible de la lignine ainsi que des résidus d'hémicelluloses (Rerat, 1956; Jarrige, 1970)

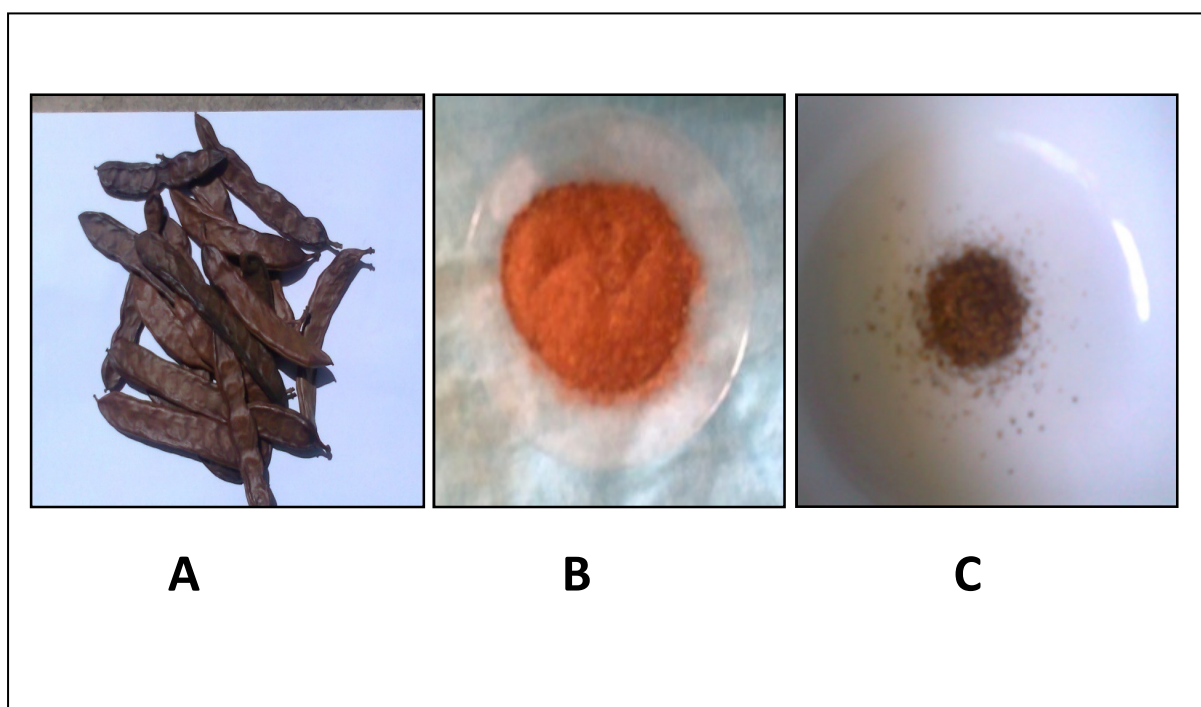
La méthode de Prosky et al. (1992) est celle qui a été choisie conventionnellement par l'organisation AOAC (1999) (Association Of Analytical Chemists) sous le code (AOAC 985.29), comme la méthode de référence pour doser les fibres alimentaires.



**Figure 17:** Colonies de *Streptococcus thermophilus* (A), *Lactobacillus delbreukii* subsp *bulgaricus* (B), *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* (C) et de *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS(D).



**Figure 18 :** Observation microscopique de *Streptococcus thermophilus* (A) et *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* (B) (coloration de gram) (Grossissement: x100)



**Figure 19:** Aspect des gousses de caroube (A) utilisées, du broyat de pulpe (B) et de l'extrait de fibres (C) de caroube obtenus.

Zunft et al. (2001) ont rapporté que ces fibres de caroube contiennent 50-65% de lignine et de polyphénols, 15-25% de cellulose, 15-25% d'hémicellulose et 0.5–2% de pectines. Cependant les tanins représentent 3 à 7%.

Selon Dongowski (2007), l'analyse faite sur l'extrait de fibres de caroube Caromax (Nutrinova GmbH, Frankfurt/M., Allemagne) préparé à partir de la pulpe de caroube par extraction aqueuse des gousses débarrassées de leurs graines; a donné la proportion 83.3% pour les fibres totales, dont 74.7% sous la forme insoluble et 8.6% sous forme soluble.

### **III.2.2. Les caractéristiques de l'extrait de fibres de caroube.**

#### **III.2.2.1. Le pH.**

Dans cette étude, le pH de l'extrait de fibres de caroube est égal à  $5,2 \pm 0,11$  ; alors que celui de la poudre de caroube est de l'ordre de 5.96. Cependant, si cette poudre est torréfiée, il va y avoir un abaissement de pH jusqu'à un taux de 4.81 (Yousfi et Alghzawi, 2000). Cette diminution de pH est attribuée à la caramélisation pendant la torréfaction où il ya la formation des sous produits et intermédiaires comme l'acide pyruvique (Lee et al., 1990).

Par ailleurs, Miguel et Belloso (1999) rapportent un pH égal à 3.86 pour l'extrait de fibres d'orange; tandis que Sendra et al. (2008) trouvent la valeur de 3.92 pour ces dernières et 3.98 pour l'extrait de fibres de citron.

Salunkhe et al. (1991), affirment que le pH augmente avec la maturation du fruit. En plus, Primo et Yufera (1979) relie le changement de pH avec la variété, la région et même le mode de culture.

#### **III.2.2.2. Les propriétés d'hydratation des fibres de caroube.**

Les propriétés d'hydratation des fibres déterminent, en partie, leur sort dans le tube digestif (ex.: induction de fermentation), et certains de leurs effets physiologiques

comme le gonflement fécal des fibres à fermentation minimale (Guillon et Champ, 2000)

Le gonflement et la capacité de rétention d'eau donnent une vue générale sur l'hydratation des fibres, et fournissent des informations utiles sur les aliments supplémentés en fibres. En outre, ces caractéristiques offrent une meilleure

compréhension du comportement des fibres dans les aliments, et pendant le transit intestinal (Guillon et Champ, 2000).

D'après Auffret *et al.* (1994), Le gonflement « SC » (swelling capacity) et le pouvoir de rétention d'eau « WHC » (water holding capacity) des fibres représentent le volume des fibres hydratées ou bien la quantité d'eau retenue par les fibres sous l'effet de la gravité, alors que la capacité de liaison « WBC » (water binding capacity) représente la quantité d'eau retenue par les fibres sous l'effet de la force centrifuge.

Le gonflement SC des fibres de caroube mesuré dans ce travail est de 3mL/g. Il est similaire à celui du riz 3.06 mL/g, mais il est largement inférieur à ceux de la pomme (9.6mL/g) (Cloutour, 1995) ou de citron 15.7 mL/g (Thibault *et al.*, 1988). Les capacités de rétention d'eau WHC des fibres de caroube et de riz sont très proches: 3.31 et 3.84 g/g; mais restent inférieures à celles rapportées pour les fibres de citron (11.2g/g (Thibault *et al.*, 1988) et de pomme (6.9 g/g) (Cloutour, 1995).

La capacité de rétention WBC de l'extrait de fibres de caroube préparé dans ce travail (4.19g/g) est similaire à celle rapportée pour les fibres extraites du riz (4.53 g/g). Les propriétés d'hydratation (SC, WHC et WBC) des fibres sont influencées, d'une part, par leur composition chimique; puisque les fibres insolubles, telles que les hémicelluloses et la lignine, ont une affinité pour l'eau et leur présence augmente les capacités d'hydratation, et d'autre part, par la granulométrie des particules (Holloway *et Greig*, 1984; Ruth *et al.*, 2012).

Dans les travaux contradictoires de Michel *et al.* (1988) et de Miguel *et Belloso*, (1999), la WHC a été mesurée en présence de fibres solubles et de pectines.

Le gonflement est directement lié à la présence de cellulose dans les fibres (Ruth *et al.*, 2012). En plus de cela, Les processus d'obtention des fibres comme le broyage, le séchage, le chauffage ou la cuisson peuvent modifier les propriétés d'hydratation de la matrice des fibres (Thibault *et al.*, 1992)

Les faibles valeurs de SC, WHC et WBC des fibres de caroube, peuvent être alors attribuées à leur contenu moyen en cellulose et en hémicellulose ; ainsi qu'à leur pauvreté en fibres solubles et en pectines.

La capacité de rétention d'huile ou OHC (oil holding capacity) des fibres de caroube mesurée dans cette expérience est de l'ordre de 1.52 g d'huile/g fibres. Ce résultat est analogue à celui trouvé pour les fibres de pulpe de mangue (1 à 1.5g/g) (Valencia et al., 2007), mais il est, de loin, très faible par rapport à ceux des fibres de riz (4.66 g/g) (Cheickna et Zhang, 2011), de peau de citron (5.09 g/g) (Chau et Huang, 2003) ou de peau de mangue (4g/g) (Larrauri et al., 1996).

Sachant que Ferguson et Fox (1978) proclament que les fibres ayant des valeurs élevées en OHC, sont très utiles comme agents épaississants ou émulsifiants pour les produits carnés, les fibres de caroube sont, par conséquent, appropriées pour les produits où les propriétés épaississantes et émulsification ne sont pas nécessaires (Valencia et al., 2007).

Amado (1994) rapporte que l'OHC dépend de la nature de la surface et de la densité ou l'épaisseur des particules, de sorte que les particules avec la plus grande surface présentent théoriquement une plus grande capacité d'absorption et de liaison des composants de nature huileuse.

Il a été aussi constaté que les échantillons riches en lignine ont une forte OHC et qu'il existe une relation directement proportionnelle entre cette OHC et la taille des particules qui forment les fibres, ainsi que leur contenu en lignine (Cheickna et Zhang, 2011).

### **III.3. Effets des différentes concentrations d'extrait de fibres de caroube sur la cinétique de croissance des souches et d'acidification du lait.**

#### **III.3.1. Effets des fibres de caroube sur la cinétique de croissance des souches.**

Les fibres brutes ont été testées à différentes concentrations (0.5, 1, 1.5 et 2% P/V) dans le lait en fermentation par les starters du yaourt ou ferments lactiques associés à une souche bénéfique à la fois (soit *Lactobacillus rhamnosus* notée LBRE-LSAS, soit *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* notée Bb12), et la cinétique de croissance de chacune de ces souches a été suivie jusqu'à la coagulation à pH 4.7.

### **III.3.1.1. Croissance des souches impliquées dans la coculture ferments lactiques – *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS.**

#### **III.3.1.1.1. Croissance de *Streptococcus thermophilus* (ST) en présence de LBRE-LSAS et LB.**

La quantité de biomasse de la souche lactique *Streptococcus thermophilus* enregistrée en absence (témoin) d'extrait de fibres de caroube est légèrement supérieure (9.69 log UFC/mL) à celles mesurées en présence de 0.5 (9.47), 1 (9.14) et 2% (9.34 logUFC/mL) de fibres; mais est inférieure à celle avec 1.5% de fibres (10.75 logUFC/mL) (fig. 20).

Des vitesses spécifiques maximales de croissance de l'ordre de 1.41, 1.20, 1.12, 1.23 et 1.13 h<sup>-1</sup>, et des temps de génération de l'ordre 0.49, 0.57, 0.61, 0.56 et 0.61h ont été respectivement enregistrés en absence et en présence de 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres brutes de pulpe de caroube (tableau 14).

Seule la concentration en fibres de 1.5% permet de stimuler la croissance de cette souche par une augmentation de 10.93% de sa biomasse; soit un gain en croissance de 1.06 log UFC/mL par rapport au témoin.

Par contre, par rapport au témoin, cette souche est plutôt retardée de 0.22, 0.55 et 0.35 log UFC/mL, soit de 2.27, 5.67 et 3.61%, dans sa croissance en présence de 0.5, 1 et 2% de fibres brutes de pulpe de caroube, respectivement.

Dans les quatre cas de figures de présence des fibres, les vitesses spécifiques maximales de croissance sont diminuées d'un taux qui s'étale de 14.89 à 20.56% (P<0.05).

#### **III.3.1.1.2. Croissance de *Lactobacillus delbreukii subsp bulgaricus* (LB) en coculture avec ST et LBRE-LSAS.**

La quantité de biomasse de *Lactobacillus Bulgaricus* accumulée au cours de la fermentation du lait en présence de différentes concentrations de fibres brutes de caroube est plus élevée (comprise entre 8.07 et 9.20 log UFC/mL) que celle enregistrée en absence de fibres dans le témoin (7,38 log UFC/mL) (fig. 20).

La même tendance est notée avec la vitesse spécifique maximale de croissance qui varie de 1.00 à 1.55h<sup>-1</sup> dans les échantillons à fibres, et qui est égale à 0.72h<sup>-1</sup> dans le témoin (tableau 14).

Ainsi, la croissance *Lactobacillus Bulgaricus* semble être directement proportionnelle aux concentrations croissantes de l'extrait de fibres additionnées au lait; on remarque une augmentation de 0.69, 1.00, 1.15, 1.82 log UFC/mL, soit une amélioration significative (P<0.05) de 9.34, 13.55, 15.58, et 24.66%, respectivement. Successivement, la vitesse maximale de croissance est aussi favorisée de 38.88, 72.22, 76.38% et allant jusqu'au dédoublement par rapport au témoin (P<0.05).

### **III.3.1.1. Croissance de *Lactobacillus rhamnosus* (LBRE-LSAS) en présence des starters du yaourt (ST et LB).**

La biomasse produite par la souche bénéfique *Lactobacillus Rhamnosus* LBRE-LSAS en présence de fibres de caroube varie de 9.47 à 10.40 log UFC/mL (fig. 20) avec des vitesses spécifiques maximales de croissance et des temps de génération respectifs variables de 1.24 à 1.77 h<sup>-1</sup> et de 0.39 à 0.55 h.

En revanche, le témoin (lait sans fibres de caroube) affiche une biomasse de l'ordre de 9.29 log UFC/mL, une vitesse spécifique de croissance maximale de 1.19 h<sup>-1</sup> et un temps de génération de 0.58h (tableau 14).

Ces observations laissent apparaître que les fibres brutes de pulpe de caroube ne perturbent pas la croissance des starters du yaourt et d'une bactérie non originaire du lait, mais du tube digestif humain, *Lactobacillus Rhamnosus* LBRE-LSAS.

Cette dernière est plutôt bien stimulée, étant donné que selon la concentration de fibres de caroube utilisée, le taux d'augmentation de sa biomasse et de sa vitesse de croissance varie de 1.93 à 11.94% et de 4.20 à 48.73%, respectivement (tableau 14).

### **III.3.1.2. Croissance des souches impliquées dans la coculture ferments lactiques-*Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12.**

#### **III.3.1.2.1. Croissance de *Streptococcus thermophilus* (ST) en présence de Bb12 et LB.**

Dans cette combinaison, la biomasse des Streptocoques en absence de fibres brutes de pulpe de caroube (témoin) atteint 9.34 log UFC/mL à la coagulation du lait. Dans ces conditions, ces germes se sont développés avec une vitesse spécifique maximale de croissance de 0.86 h<sup>-1</sup>, et un temps de génération égal à 0.86 h.

Cependant, la présence de ces fibres dans le lait en fermentation permet aux streptocoques d'accumuler une biomasse pas toujours plus élevée que celle du témoin. En effet, cette biomasse varie selon la concentration en fibres ajoutées de 8.6 à 9.91 log UFC/mL (fig.21), et a été générée à une vitesse maximale de croissance et un temps de génération variables de 0.42 à 1.11 h<sup>-1</sup> et de 1.65 à 0.62 h, respectivement.

Lorsque les fibres de caroube sont présentes au taux de 0.5% dans le lait, il y a une diminution de la biomasse des streptocoques de 7.92%, calculée en fin de fermentation, par rapport au témoin sans fibres.

La forte diminution de biomasse enregistrée au cours des deux premières heures de fermentation avec 1% de fibres, suivie par une forte reprise de la croissance de cette souche après cela exprime une certaine latence de son adaptation à la concentration de 1% de fibres (fig. 21).

Aux taux de 1.5% de fibres et dans la coculture avec *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 et *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* ST, ne montre aucune difficulté de croissance dans le lait écrémé ; elle est plutôt stimulée et présente une vitesse spécifique de croissance augmentée de 29.06% par rapport au témoin sans fibres (tableau 14).

### **III.3.1.2.2. Croissance de *Lactobacillus delbreukii* subsp *bulgaricus* (LB) en coculture avec Bb12 et ST.**

La souche *Lactobacillus bulgaricus* croit pour atteindre une biomasse de 8.73 log UFC/mL pour le témoin, contre 9.60, 9.24, 8.50 et 8.20 log UFC/mL pour les laits avec 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres, respectivement (fig. 21).

Dans cet ordre, la vitesse maximale de croissance est 1.05 h<sup>-1</sup> pour le témoin, et comprise entre 0.68 et 1.58 h<sup>-1</sup> pour les échantillons avec fibres; tandis que le temps de génération est estimé à 0.66 h pour le lait sans fibre, et entre 0.43 et 1.01h pour les laits avec fibres (tableau 14).

L'effet des fibres de caroube sur ce ferment dans ces conditions de culture demeure dissemblable. En effet, aux concentrations en fibres de 1.5 et 2%, la biomasse et la vitesse spécifique de croissance s'éloignent négativement du témoin de 2.63 et 6.07% et de 20 et 35.23% (P<0.05), respectivement.

Cependant, ces mêmes fibres, utilisées à des concentrations de 0.5 et 1% stimulent le développement de cette souche en augmentant sa biomasse de 9.96 et 5.84%, et sa vitesse spécifique de croissance de 50.47 et 29.52 % ( $P < 0.05$ ).

### **III.3.1.2.3. Croissance de *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* (Bb12) en coculture avec ST et LB.**

L'addition de 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube au lait affecte la croissance de la souche bénéfique *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 qui affiche une biomasse de 9.38, 9.21, 9.84 et 10.15 log UFC/ml (fig. 21) correspondant à des vitesses spécifiques de croissance maximales de 1.25, 1.15, 1.40 et 1.58  $h^{-1}$  pour des temps de génération 0.55, 0.60, 0.49 et 0.43h, respectivement.

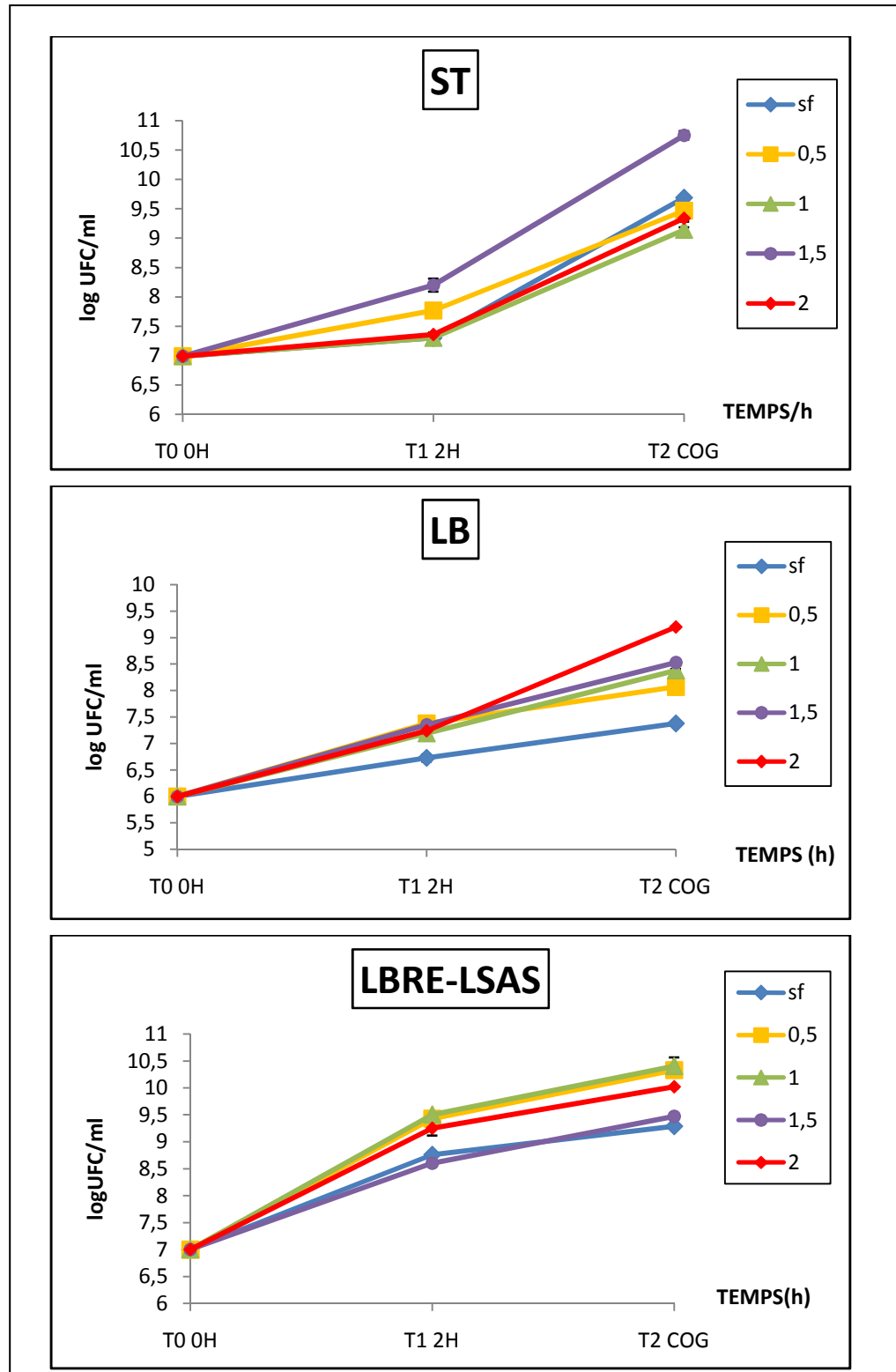
En revanche, le témoin affiche 9.34 log UFC/ml comme biomasse avec la vitesse spécifique de croissance maximale de 1.22  $h^{-1}$  et le temps de génération de 0.56 h (tableau 14).

Cette souche à statut probiotique reconnu, présente un meilleur développement pour les concentrations de fibres de caroube ajoutées de 0.5, 1.5, et surtout 2% en comparaison avec le témoin.

Le taux d'amélioration observé à ces concentrations en fibres est de 0.42, 5.08 et 7.98%, lié à la biomasse accumulée et qui est de l'ordre de 0.04, 0.50 à 0.81 log UFC/mL. Cela donne des temps de génération réduits de 0.01, 0.07 et 0.13h, et des vitesses maximales de croissance supérieures de 2.45 ( $P > 0.05$ ), 14.75 et 29.50% ( $P < 0.05$ ).

Pour le taux de 1% de fibres, on remarque une perte en biomasse de 0.13 log UFC/mL, c'est-à-dire une diminution de 1.39% par rapport au témoin. Pour cette proportion de fibres, la vitesse de croissance est ralenti de 5.73% pour avoir un temps de génération prolongé de 7.14%.

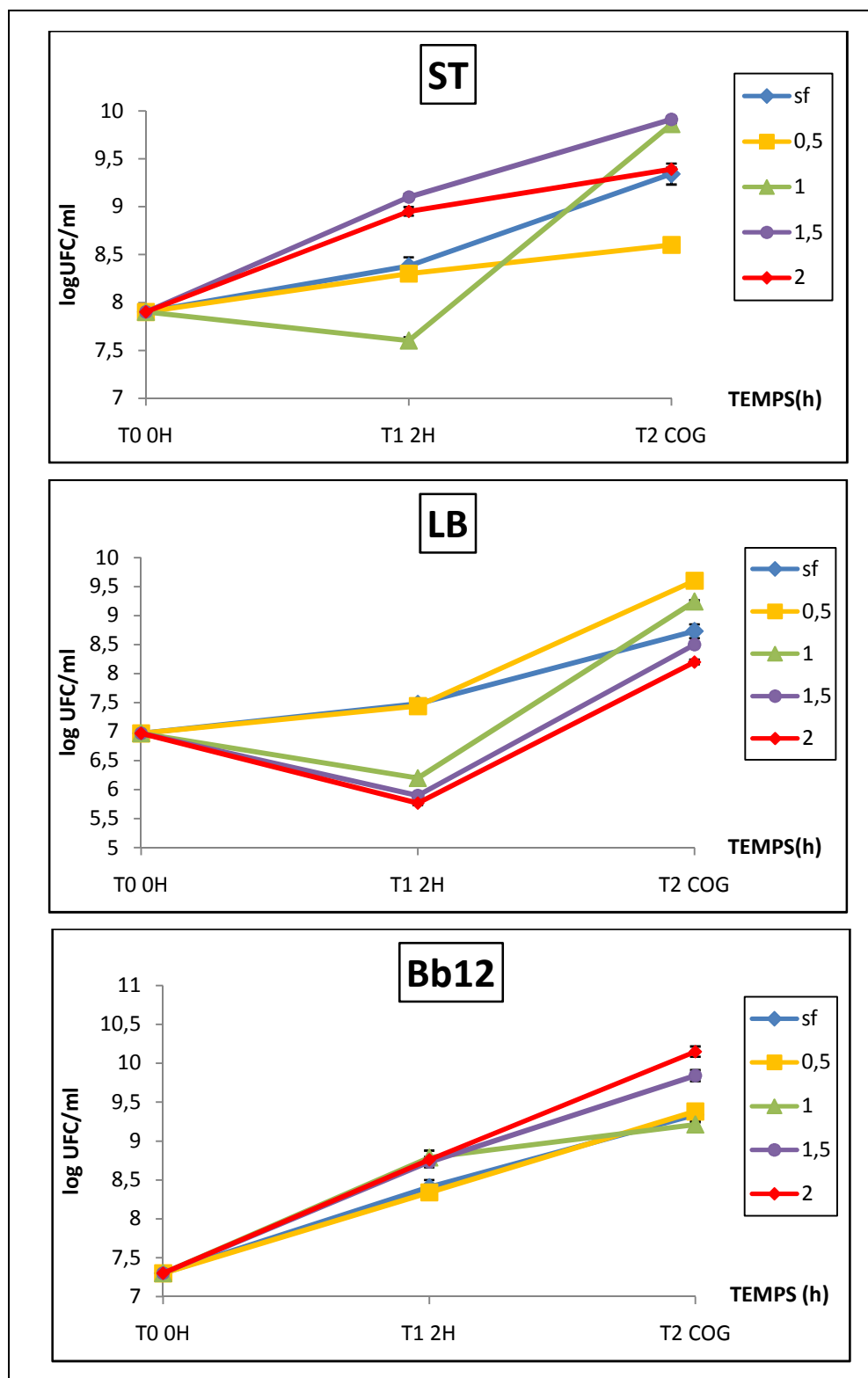
Pour la première combinaison (celle incluant la souche LBRE-LSAS), on voit généralement une amélioration de la croissance en présence de fibres de caroube pour les 3 souches, bien que la stimulation diffère d'une bactérie à une autre selon les concentrations ajoutées.



**Figure 20:** Cinétique de croissance des souches starters (*Streptococcus thermophilus* ST et *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* LB) et de la souche bénéfique *lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS en culture mixte (starters + LBRE-LSAS) sur milieu lait. Culture sans fibres (sf) (témoin) (♦), cultures additionnées de fibres (P/V) à 0.5% (■), 1% (▲), 1.5% (●) et 2% (◆). Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$ SEM répétées 3 fois (three times in triplicate) (n = 9). T0= 0h ; T1 = 2h ; T2 = temps de coagulation (pH 4,7).

**Tableau 14 :** Vitesses spécifiques maximales de croissance ( $\mu$  max en  $h^{-1}$ ); temps de génération (Tg en h) et temps de coagulation (Tc en h) des cultures associées de starters (mélange de ferments lactiques CK340) et de souches bénéfiques (*Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS et *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12) en absence (témoin) et en présence de différentes concentrations de fibres brutes de pulpe de caroube.

Type de culture		Lait sans fibres (Témoin)	Lait avec fibres (Echantillon)			
			0,5%	1%	1,5%	2%
		<b><math>\mu</math> max en <math>h^{-1}</math></b>				
CK340+ LBRE- LSAS	ST	1,41	1,20	1,12	1,23	1,13
	LB	0,72	1,00	1,24	1,27	1,55
	LBRE-LSAS	1,19	1,61	1,77	1,24	1,46
		<b><math>\mu</math> max en <math>h^{-1}</math></b>				
CK340 + Bb12	ST	0,86	0,42	1,18	1,11	0,82
	LB	1,05	1,58	1,36	0,84	0,68
	Bb12	1,22	1,25	1,15	1,40	1,58
		<b>Tg en h</b>				
CK340 + LBRE- LSAS	ST	0,49	0,57	0,61	0,56	0,61
	LB	0,96	0,69	0,55	0,54	0,44
	LBRE-LSAS	0,58	0,43	0,39	0,55	0,47
		<b>Tg en h</b>				
CK340 + Bb12	ST	0,80	1,65	0,58	0,62	0,84
	LB	0,66	0,43	0,50	0,82	1,01
	Bb12	0,56	0,55	0,60	0,49	0,43
		<b>Tc en h</b>				
CK340+ LBRE-LSAS		4h 25mn	4h 45mn	4h 25mn	4h35mn	4h45mn
CK340 + Bb12		3h 50mn	3h 50mn	3h 50mn	4h10mn	4h10mn



**Figure 21:** Cinétique de croissance des starters (*Streptococcus thermophilus* ST et *Lactobacillus bulgaricus* LB) et de la souche bénéfique *Bifidobacterium animalis subsp lactis* Bb12 en culture mixte (starters + Bb12) sur milieu lait. Cultures témoin (◆), cultures additionnées de fibres de caroube (P/V) : 0,5% (■), 1% (▲), 1,5% (●) et 2% (◆). Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$ SEM répétées 3 fois (three times in triplicate) (n = 9). T0 = 0h ; T1 = 2h ; T2 = temps de coagulation (pH 4,7).

L'effet prébiotique des fibres de caroube est très clair sur *L. rhamnosus* avec une biomasse moyenne accumulée de 10.05 log UFC/mL entre les 4 concentrations testées; mais moins évident sur les streptocoques et les lactobacilles dont la biomasse est de l'ordre de 9.67 et 8.54 log UFC, par rapport aux témoins respectifs 9.29, 9.69 et 7.38 log UFC/mL.

Sur le plan de la biomasse accumulée, la 2<sup>ème</sup> combinaison (celle incluant la Bb12) donnent les moyennes d'essais avec fibres : 9.64, 9.44, 8.88 log UFC/mL pour *B. lactis* Bb12, les streptocoques et les lactobacilles respectivement; par rapport à leurs témoins respectifs de 9.34, 9.34 et 8.73 log UFC.

Les streptocoques dans la première combinaison sont les seules bactéries affectées négativement par l'addition de fibres malgré leur plus forte biomasse obtenue dans les deux combinaisons, soit 10.75 log UFC en présence de 1.5% de fibres.

Dans le deuxième cas de culture, ces bactéries ne sont également pas perturbées par la présence de fibres de caroube, mais ne sont que légèrement stimulées par ces substances puisqu'elles n'affichent que 9.91 log UFC/mL avec 1.5% de fibres dans le lait.

La comparaison des résultats de cette étude à ceux d'autres auteurs fait apparaître que les biomasses streptococciques enregistrées sont légèrement plus élevées que celles rapportées (de 9.05 à 9.14 log UFC/MI) par Oliveira et al. (2009) en présence d'inuline, dont la quantité de biomasse streptococcique en culture mixte est comprise entre 9.05 à 9.14 log UFC/mL en présence d'inuline.

Les résultats de Varga et al. (2006) contredisent quelque peu ceux d'Oliveira et al. (2009) car ils ont observé que la présence d'inuline à 1-5% (P/V) n'a pas influencé de façon significative *S. thermophilus*.

Dans une publication plus récente, Oliveira et al. (2011) remarquent qu'il ya une amélioration substantielle de la croissance du ferment *S. thermophilus* St1342 en présence d'inuline. Le lactulose, selon ces scientifiques, n'a aucun effet sur cette souche.

Dans ce travail, les quantités de biomasse de *Streptococcus thermophilus* dans les deux combinaisons étaient plus élevées que celles de *Lactobacillus bulgaricus*, cette observation a également été rapportée par Lanciotti et al. (2004) et Boufadi (2007).

Ceci est vraisemblablement dû aux caractéristiques industrielles d'origine du mélange des souches utilisées dans ce travail et qui est numériquement en faveur des streptocoques qui sont responsables de l'acidification du lait; ce qui garantit aux utilisateurs un temps de coagulation le plus court possible.

Dans des études similaires, Oliveira et al. (2011) trouve que le lactulose stimule la croissance de *L. bulgaricus*, quand à l'inuline, l'amélioration est substantielle. Dans le même contexte, l'addition de fibres d'orange et de citron aux laits probiotiques améliore la croissance des lactobacilles et diminue le temps de fermentation (Sendra et al., 2008)

Quand à *L. rhamnosus*, elle se développe mieux et avec une vitesse plus grande en présence de fibres de caroube avec la particularité d'une plus grande efficacité dans cette stimulation des plus faibles concentrations en ces substances.

Cet effet promoteur de la croissance d'une souche d'origine digestive comme *L. rhamnosus* par les fibres brutes de caroube est à considérer d'une manière critique eut égard les résultats rapportés par Oliveira et al. (2011) sur le faible effet de l'inuline sur le développement de *L. rhamnosus* en coculture avec *S. thermophilus*; qui affiche le plus long temps de génération.

Jyoti et al. (2004) avaient également constaté que l'inuline n'arrivait pas à booster la croissance de *L. rhamnosus* en monoculture ou avec un cocktail de souches lactiques. Dans leur commentaire, ces auteurs ont attribué ce résultat, d'une part, à un déficit en citrate nécessaire pour activer la citrate perméase de ce probiotique suite à sa métabolisation, et d'autre part, à l'effet de compétition inter-souches pour les substrats.

La souche bifide est stimulée proportionnellement au taux de fibres ajoutées au laitensemencé aux starters. Néanmoins, cette stimulation reste relativement moins intense sur le plan de la biomasse accumulée, mais plus forte sur le plan de l'acidification du lait, que celle de *L. rhamnosus*.

Villaluenga et Gomez (2007) rapportent que parmi six souches bifides testées, *B. animalis* subsp *lactis* affiche la meilleure vitesse de croissance et le plus faible temps de

génération en présence d'oligosaccharides de raffinose. Ces auteurs avaient suggéré que ces souches ont des caractéristiques techniques intéressantes, en particulier en ce qui concerne la tolérance à l'oxygène et à l'acide, les rendant adaptées à une utilisation industrielle dans les produits laitiers fermentés par rapport aux autres espèces de bifidobactéries.

Les facteurs primordiaux influant l'effet prébiotique des fibres de caroube sur la croissance bactérienne sont la température d'incubation, la relation ferment-ferment et/ou ferments-probiotiques, les caractéristiques de la souche, la nature et la dose de prébiotiques et finalement la dépendance prébiotique- bactérie (Dave et Shah, 1997; Gopal et al., 2001; Mortazavian et al., 2006; Donkor et al., 2007).

La température d'incubation utilisée (42°C) favorise la croissance des ferments et conduit à des temps de fermentations plus courts, au détriment des probiotiques qui affichent des nombres très faible à 44°C par rapport à leur température optimale (37°C) à laquelle le temps de coagulation serait plus long (Kneifel et al., 1993; Gomes et Malcata, 1999; Mortazavian et al., 2006).

Cela s'explique par le fait que les ferments, ayant une activité aminopeptidase et dipeptidyl-aminopeptidase plus élevée que les probiotiques, disposent d'une quantité d'acides aminés plus grande, leur conférant une croissance et des activités accrues à des températures d'incubation plus élevées qui ont comme conséquence une durée de fermentation réduite (Varnam et Sutherland, 1994; Mortazavian et al., 2006)

En raison de leur faible activité protéolytique, les bactéries bénéfiques poussent lentement, elles ont besoin de peptides et d'acides aminés libres pour une croissance optimale, et en particulier les cultures qui ne contiennent pas de souche protéolytique comme *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* (Klaver et al., 1993; Shihata et Shah, 2000).

Cette symbiose entre les ferments du yaourt a des retombées sur le développement des souches probiotiques. Selon Ishibashi et Shimamura (1993), les cultures starters améliorent les conditions de croissance des bifidobactéries par la production de substances favorables à la croissance des probiotiques ou par la réduction de la pression d'Oxygène.

En outre, les travaux de Lim et al. (1995) et de Samona et al. (1996) avaient montré que les bifidobactéries sont cultivées en association avec les ferments lactiques afin que leur croissance soit améliorée et que le temps de coagulation du lait soit réduit.

Durant la même période, Tamime et al. (1995) avaient également constaté qu'une coculture entre *Streptococcus thermophilus* et des bifidobactéries permettait à ces dernières de tolérer les effets toxiques de l'oxygène, tout en améliorant leur taux de croissance.

Par ailleurs, la coculture des bifidobactéries avec les starters du yaourt est profitable pour les souches bifides qui sont stimulées grâce à l'activité protéolytique de *delbrueckii ssp. Bulgaricus* qui met à leur disposition les acides aminés promoteurs de leur croissance (Dutta et al, 1973; Shankar et Davies, 1976; Singh et al, 1980; Dave et Shah, 1997).

Shankar et Davies (1976) ont rapporté que *B. bifidum* pousse mieux en présence de *L. bulgaricus* en raison de leur relation symbiotique. Ceci est réaffirmé plus tard par Singh et al. (1980) et Misra et Kulia (1995), qui trouvent que *L. bulgaricus* améliore aussi la croissance des bifidobactéries par son activité protéolytique qui induit une augmentation de l'utilisation de certains acides aminés comme la valine, glycine et l'histidine.

Dans le présent travail, il apparaît une relation inversement proportionnelle entre *S. thermophilus* et *L. rhamnosus* d'une part, et entre *L. bulgaricus* et *B. animalis* subsp *lactis* d'autre part.

Les travaux de Varnam et Sutherland (1994) et Shah *et al.* (1994) montrent que les températures élevées déclenchent un antagonisme des *L. bulgaricus* contre les probiotiques, en dominant le milieu par la production de grandes quantités d'acide, de peroxyde d'hydrogène et de bactériocines et aboutir à la suppression des probiotiques. Ces auteurs citent l'exemple de *L. acidophilus* qui est inhibée par le peroxyde d'hydrogène produit par *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*.

Par ailleurs, Dave et Shah (1997) ont rapporté que *S. thermophilus* exerçait un effet antagoniste sur la croissance des bifidobactéries qui se développent mal en coculture avec ce levain lactique et ils ont attribué cela au manque d'activité protéolytique de ce ferment.

L'effet réciproque des probiotiques sur les starters du yaourt est aussi présent dans les résultats de Reinheiner et al. (2002), qui montrent que *Streptococcus thermophilus* est faiblement inhibée par les bactéries bénéfiques.

La nature du prébiotique joue un rôle primordial dans la croissance des probiotiques. Cela a été démontré par les résultats de Donkor et al. (2007) qui trouvent que la croissance des probiotiques pendant la fermentation est améliorée en présence de l'inuline et de Hi-maïs (High-amylose corn starch).

Ozer et al. (2005) ont utilisé avec succès le lactulose et l'inuline en tant que promoteurs de croissance pour *B. bifidum*.

L'effet prébiotique des fibres de caroube dépend de leur nature chimique, la complexité de leur composition et de leurs caractéristiques physiques.

Les principaux constituants des fibres de caroube (cellulose, hémicellulose et lignine) sont classés comme des composés lentement et partiellement fermentescibles. En plus, leur faible pouvoir fermentescible est corrélé avec leur caractère d'insolubilité dans l'eau (Tungland et Meyer, 2002).

Le degré de polymérisation (DP) des constituants des fibres est un facteur déterminant de l'effet prébiotique. Sur ce plan, Hopkins et al. (1998) ont rapporté que les GOS et les FOS ayant un DP faible étaient les meilleurs pour soutenir la croissance des bifidobactéries.

Selon Roberfroid et al. (1998), les molécules d'inuline avec un DP <10 sont fermentées aussi rapidement que la moitié des molécules avec DP > 10.

En revanche, les glucides à DP élevé sont des substrats faiblement bifidogènes (shin et al., 2000). Selon Bazzocco et al. (2008), plus le degré de polymérisation d'un polysaccharide est faible, plus son effet prébiotique est élevé, probablement en raison d'une fermentescibilité facilitée. Cet effet est la conséquence des systèmes de transport de substrat plus efficace pour les dimères et les oligomères (shin et al., 2000)

Par ailleurs, selon Schieber et al. (2001) et Emaga et al. (2008), l'effet stimulant des fibres dépend de leur contenu en pectines. La richesse des FOS en pectines les rend

très susceptibles à la fermentation.

L'ajout des prébiotiques pourrait fournir des éléments nutritifs supplémentaires (Makras et al., 2005) ou modifier un impact négatif sur l'environnement (Desai et al., 2004).

La quantité de fibres présente dans le milieu de fermentation affecte aussi la croissance d'une façon très variable selon les combinaisons, voire même selon les souches.

Dans la présente expérience, les taux élevés de fibres (1.5 et 2%), améliorent significativement la croissance de *B. animalis* subsp *lactis* Bb12, celle des deux ferments (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) lorsqu'ils sont dans la première combinaison de souches, et des streptocoques de la 2<sup>ème</sup> combinaison (maximum pour 1.5%). Ces taux élevés de fibres inhibent la croissance de *L. rhamnosus* et des lactobacilles de la 2<sup>ème</sup> combinaison qui affichent les meilleurs résultats pour les concentrations faibles 0.5 et 1%.

Ces observations laissent apparaître que la même dose agit différemment sur les souches ou sur la même souche dans des combinaisons différentes. Ce constat a aussi été fait par Shin et al. (2000) selon lesquels, un effet bifidogène ne peut être obtenu qu'avec une concentration de 5% d'inuline, de 3 et 5% de GOS ou de moins de 1% de FOS.

Les propriétés de la souche constituent également un facteur d'efficacité des fibres dans leur action prébiotique. Gopal et al. (2001) ont montré que les deux souches probiotiques d'origine alimentaire, *B. animalis* subsp *lactis* et *Lactobacillus rhamnosus*, peuvent utiliser les galacto-oligosaccharides de produits laitiers (lait en poudre commercial) pour soutenir leur croissance et leur activité in vitro.

La plupart des bifidobactéries d'origine humaine peuvent facilement utiliser les GOS, seules quelques souches d'autres origines et genres, y compris les lactobacilles, possèdent cette capacité (Hopkins et al, 1998; Ishikawa et al, 1995;. Tanaka et al, 1983;. Yanahira et al, 1995).

La croissance des espèces du genre *Bifidobacterium* semble être liée à la vitesse de diminution de la teneur en oxygène et du potentiel redox dans le milieu de culture, bien que la sensibilité à l'oxygène varie considérablement entre les souches (De Vries et Stouthamer, 1989; Klaver et al., 1993).

### **III.3.2. Effets des différentes concentrations d'extrait de fibres de caroube sur la cinétique d'acidification du lait.**

Toutes les fermentations sont stoppées volontairement à un pH voisin de 4,7 par refroidissement rapide du lait fermenté.

#### **III.3.2.1. Cas de la coculture ferments lactiques – *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS.**

En absence de fibres brutes de caroube (témoin), la vitesse spécifique maximale d'acidification est de l'ordre de  $0.40 \text{ h}^{-1}$ , avec un temps de fermentation de l'ordre de 4h25.

La synthèse d'acides organiques par les trois souches cocultivées est négativement affectée par la présence de fibres de caroube. En effet, la vitesse d'acidification du lait diminue significativement ( $P < 0.05$ ) de 15, 7.5, 17.5, et 10% par rapport au témoin en présence de 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres pour des temps de fermentation 4h45, 4h25, 4h34 et 4h45, respectivement (tableau 15).

La présence de fibres de caroube (excepté à la concentration de 1%) avec cette combinaison de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* et *Lactobacillus rhamnosus* prolonge le temps de coagulation du lait d'environ 20 min pour les concentrations de 0.5 et 2%, et d'environ 10 min pour 1.5%, par rapport à l'essai réalisé sans fibre (témoin) (tableau 15).

L'évolution du pH des laits en absence ou en présence de fibres brutes de caroube est illustrée par la figure 22.

#### **III.3.2.2. Cas de la coculture ferments lactiques – *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12.**

Pour la culture associant les starters du yaourt, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, à la souche probiotique, *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis*, la vitesse d'acidification des laits contenant les fibres, est réduite de 5.76 ( $P > 0.05$ ), 15.38, 23.07 et 21.15% ( $P < 0.05$ ) en présence de 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube par rapport à celle ( $0.52 \text{ h}^{-1}$ ) enregistrée pour le témoin sans fibres (tableau 15). Le temps de coagulation du lait témoin (sans fibres de caroube ajoutées) est de 3h50min.

Ce ralentissement de l'acidification se répercute directement sur le temps de coagulation du lait qui se prolonge d'environ 20 min par rapport au témoin (sans fibres) lorsque les fibres de caroube sont additionnées à des taux de 1.5 et 2%. Par rapport au lait témoin (sans fibres), il n'y a pas de changement dans le temps de coagulation des laits avec 0.5 et 1% de fibres.

Le pH initial diminue légèrement au cours des deux premières heures de fermentation et cette diminution est quelque peu proportionnelle à la concentration de fibres de caroube dans le lait. Il faut rappeler que l'extrait de fibres est plutôt acide (5.20) et son acidité contribue quelque peu à l'acidité acquise par fermentation du lait auquel on ajoute ces fibres.

Indépendamment du processus fermentaire acidifiant le lait, l'addition de fibres au lait fait chuter son pH significativement ( $P < 0.05$ ) de 6.74 à 6.55 dans la culture des starters associant *L. rhamnosus*, et de 6.69 à 6.27 dans celle avec *B. animalis* subsp. *lactis* (fig.22).

Ce constat a aussi été fait par Desai et al. (2004) qui ont attribué une part de la diminution du pH initial du lait aux prébiotiques qu'ils y avaient ajoutées.

L'ajout de fibres de fruits au lait permet une réduction statistiquement significative ( $P < 0.05$ ) du pH initial à partir de 6,53 dans le lait témoin (sans fibres) à 6,42 dans les laits supplémentés en fibres de pommes et de banane et à 6,30 dans ceux avec fibres de fruits de la passion (Santo et al., 2012).

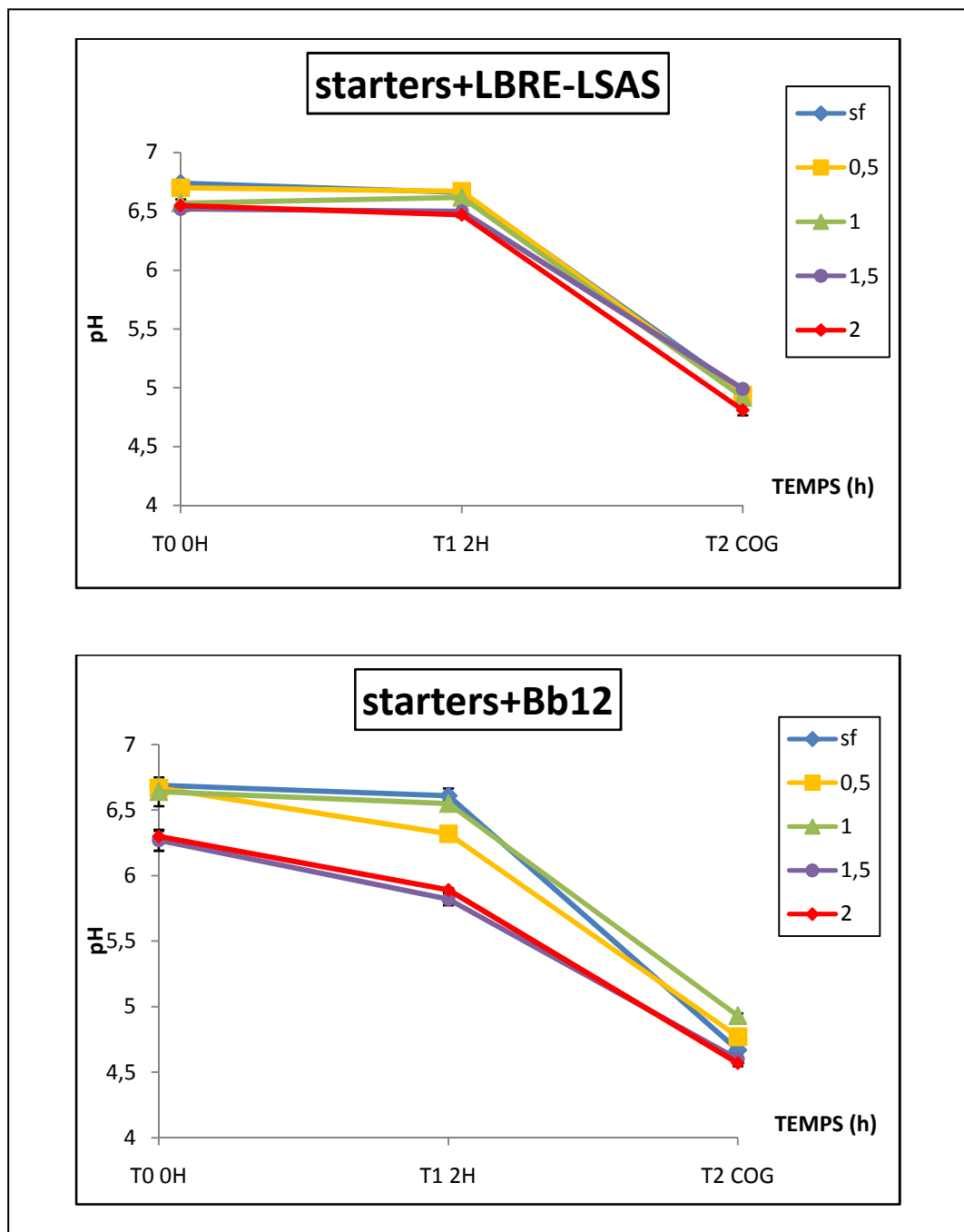
La production d'acides organiques est un pouvoir intrinsèque de la souche elle-même. Bruno et al. (2002) et Desai et al. (2004) ont préconisé que le niveau de métabolites primaires varie selon la souche.

Dans une étude de la même période, Slocum et al. (1998) (cités par El-Zahar et al., 2004), avaient constaté que *Lactobacillus delbruekii* ssp *bulgaricus* était plus protéolytique que *Streptococcus thermophilus*

Comme pour la croissance, l'interaction entre les cultures bactériennes peut moduler la production d'acides organiques. La combinaison entre une souche bifide et les starters peut donner un produit doux (Samona et al., 1996).

**Tableau 15 :** Taux de diminution du pH (=  $\Delta\text{pH}$  en%) entre le début de fermentation et le point de coagulation du lait; et vitesse d'acidification ( $V_A = \Delta\text{pH} / \Delta t$  en  $\text{h}^{-1}$ ) dans les différentes cocultures réalisées.

Type de culture	Témoïn (lait sans fibres de caroube)	Lait avec fibres de caroube			
		0,5%	1%	1,5%	2%
		<b><math>\Delta \text{pH}</math> en %</b>			
Starters + <i>L. rhamnosus</i> LBRE-LSAS	1,77	1,66	1,65	1,53	1,75
Starters + <i>B. animalis</i> subsp <i>lactis</i> Bb12	2,02	1,90	1,71	1,67	1,73
		<b>Vitesse d'acidification (<math>V_A</math> en <math>\text{h}^{-1}</math>)</b>			
Starters + <i>L. rhamnosus</i> LBRE-LSAS	0,40	0,34	0,37	0,33	0,36
Starters + <i>B. animalis</i> subsp <i>lactis</i> Bb12	0,52	0,49	0,44	0,40	0,41



**Figure 22:** Effets des fibres brutes de pulpe de caroube utilisées à 0.5 (■), 1 (▲), 1.5 (●) et 2% (◆) par rapport à un témoin sans fibres (◆) sur la cinétique d'acidification du lait en fermentation par les starters du yaourt en présence de *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS (Starters + LBRE-LSAS) ou de *Bifidobacterium animalis subsp lactis* Bb12 (Starters + Bb12) à 42°C. Dans toutes ces cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$ SEM répétées 3 fois (three times in triplicate) (n = 9). T0 = 0h ; T1 = 2h ; T2 = temps de coagulation (pH 4,7).

La concentration d'acides organiques dépend du type de prébiotique. Les fibres de caroube pourraient constituer un meilleur milieu de croissance et, par conséquent permettre une stimulation de la croissance et une production accrue d'acides organiques.

Les résultats de Dankor et al. (2007) avaient montré que l'inuline générait plus d'acides que le Hi-maïs et interprété cela comme conséquence d'une croissance plus stimulée par l'inuline. La quantité d'acide lactique et acétique produite par *B. bifidum* est plus grande avec les FOS, suivi par les GOS et enfin en présence d'inuline (Shin et al., 2000).

D'après Desai et al. (2004), le pH final est indépendant des prébiotiques, puisqu'il est le résultat de la production de l'acide lactique par la croissance et le métabolisme des lactobacilles pendant la fermentation. Une légère augmentation du pH ( $P < 0.05$ ) a été observée dans les yaourts additionnés de fibres de pommes et de banane et co-fermenté par *B. animalis* subsp. *lactis* Bb12 par rapport aux témoins.

De même, Santo et al. (2010) ont rapporté que le pH de yaourts de fruit d'açaï fermenté par la souche *B. animalis subsp lactis* BL04 était significativement plus élevée ( $P < 0.05$ ) que leurs témoins sans fruit, ce qui laisse penser que la souche BL04 peut réduire sa production d'acides organiques en présence de certains produits de fruits.

Dans le cas de culture associant les starters et Le lactobacille LBRE-LSAS, les laits additionnés de 1.5 et 2% de fibres de caroube s'acidifient plus que ceux à 0.5 ou 1% de fibres; ce qui leur confère un pH final plus bas (4.81 par rapport à 4.97). La biomasse lactobacille est également plus élevée.

De telles observations sont en accord avec celles faites par Desai et al. (2004), qui avaient rapporté une meilleure activité métabolique chez plusieurs espèces de lactobacilles en présence de prébiotiques sélectionnés.

L'activité de synthèse d'acides organiques par fermentation bactérienne est directement dépendante du niveau de croissance de ces bactéries (Rasic et Kurmann, 1983; Dankor et al, 2007).

Dans le cas de la culture des starters en association avec *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12, les pH les plus bas sont également enregistrés dans les laits additionnés des plus fortes concentrations de fibres (4.57 par rapport à 4.67). Ce niveau d'acidité plus élevé obtenu dans cette coculture laisse penser que les fibres stimulent mieux cette espèce bifide qui voit sa croissance améliorée et de ce fait, son pouvoir de synthèse d'acides organiques boosté.

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Hopkins et al. (1998) qui préconisent que le pouvoir d'acidification de la plupart des bifidobactéries testées dans leur étude est améliorée par les GOS, en raison d'une croissance plus élevée procurée par ces prebiotiques.

De même, Bruno et al. (2002) et Desai et al. (2004) ont rapporté que l'utilisation de prébiotiques et le métabolisme bactérien qui en découle, représenté par la production des métabolites primaires comme l'acide lactique, varient selon la souche.

La voie fermentaire des bifidobactéries aboutit à 3 moles d'acide acétique et 2 moles d'acide lactique à partir de 2 moles de glucose dans un milieu synthétique idéal (Shah, 1997). Dave et Shah (1997) ont conclu qu'une forte population de bifidobactéries est à l'origine de l'augmentation de la concentration d'acide acétique dans le yaourt.

Paradoxalement, les travaux d'Akalin et al. (2004) ont montré le contraire; c'est-à-dire qu'une forte biomasse de *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 n'aboutit pas forcément à une concentration maximale d'acide acétique.

De même, Bruno et al. (2002) a également constaté que la plus forte biomasse était celle de *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 avec le Hi-maïs; mais le niveau maximal d'acides acétique et lactique était obtenu par *Bifidobacterium pseudolongum* et *Bifidobacterium infantis* cultivés en présence de lactulose.

L'analyse des observations et conclusions de tous ces auteurs sur la faible dépendance de la production d'acide par une bactérie donnée vis-à-vis de la croissance de cette même bactérie, à laquelle s'ajoute le caractère intrinsèque de ce pouvoir acidifiant des souches, pourrait expliquer en partie ou laisser admettre le fait que, dans ce travail, c'est la culture des starters associant *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 qui est la plus acidifiée; et ceci malgré une biomasse accumulée (croissance) plus

faible que celle affichée par *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS qui acidifie moins le lait.

En général, le temps de coagulation en présence de fibres de caroube, est égal ou plus long que les témoins mais aboutit à des pH finaux plus bas; ce qui traduit un métabolisme plus actif mais lent, ou d'une phase de latence prolongée.

Nos résultats ne vont pas dans le même sens que ceux d'Oliveira et al. (2012) qui trouvent qu'en présence d'inuline, le temps de coagulation du lait en présence de *Streptococcus thermophilus* et *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* est de 49.2% moins long qu'en absence de ce prébiotique. Néanmoins, il faudrait noter que dans ce travail, nous avons utilisé des fibres de caroube brutes.

Le temps de coagulation dépend aussi du type de coculture car, il est plus court dans la mixture avec la souche bifide Bb12 que dans celle d'avec le lactobacille LBRE-LSAS. Une telle observation a également été faite par Oliveira et al. (2009) qui trouvent que le temps de coagulation du lait est non seulement modulé par les prébiotiques comme l'inuline, mais aussi par le type de coculture impliquée dans la fermentation.

#### **III.4. Effets des fibres de caroube sur la viabilité post-fermentaire des ferments lactiques et des souches bénéfiques et, sur la post-acidification du lait fermenté et entreposé à +4°C pendant 28 jours.**

##### **III.4.1.Effets des fibres de caroube sur la viabilité des starters (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) et des souches bénéfiques (*L. rhamnosus* LBRE-LSAS et *B. animalis* subsp. *lactis*) dans les différents yaourts au cours de l'entreposage à 4°C.**

###### **III.4.1.1. Viabilité de *Streptococcus thermophilus* au cours de l'entreposage du yaourt à 4°C.**

###### **III.4.1.1.1. Viabilité de *Streptococcus thermophilus* dans le yaourt contenant *L. bulgaricus* LB et *L. rhamnosus* LBRE-LSAS.**

En coculture avec l'autre souche starter (*L. bulgaricus*) et la souche bénéfique *L. rhamnosus* LBRE-LSAS, en absence de fibres de caroube (témoin) et après 7 jours d'entreposage à 4°C, la perte en biomasse de la souche *Streptococcus thermophilus* était

de l'ordre de 0.31 unité logarithmique/g de yaourt (soit 3.19% de perte). La viabilité représentait alors 96.80% (fig. 23).

En présence de fibres de caroube, la viabilité de cette souche se trouve le plus altérée au taux de fibres de 1% où l'on enregistre -9.19% de pertes. Dans les yaourts à 1.5 et 2% de fibres, il y a, en revanche, un gain en viabilité de 0.65 log UFC/g (soit +6.04%) et de 1.95 logUFC/g (soit +20.87%) pour cette souche par rapport au témoin.

Après deux semaines d'entreposage à 4°C, des pertes de viabilité de *S. thermophilus* sont enregistrées dans tous les yaourts (4.54, 1.79, 9.95 et 7.53% dans le témoin, et les yaourts à 0.5, 1 et 1.5% de fibres, respectivement) à l'exception de celui contenant 2% de fibres de caroube où l'on note 1.07% de cellules en plus par rapport au témoin.

Lorsque les trois semaines d'entreposage au froid sont atteintes, les pertes en biomasse streptococcique s'amplifient dans les yaourts contenant la souche bénéfique LBRE-LSAS et représentent 1.67 (soit -17.23), 1.54 (-16.26), 1.23 (-13.45), 2.96 (-22.53) et 1.23 log UFC/g yaourt (soit -4.71%), respectivement dans le témoin (sans fibres) et dans les yaourts contenant 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube.

Au terme des quatre semaines d'entreposage à 4°C, les pertes en viabilité de *S. thermophilus* augmentent sensiblement et touchent tous les yaourts à des degrés différents : 17.23, 16.26, 13.45, 27.53 et 4.71 % de pertes dans les yaourts témoin, et dans ceux à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube, respectivement.

Ces chiffres traduisent que, quelque soit le taux de fibres ajoutées au lait en fermentation, plus de 70% des cellules de *S. thermophilus* restent vivantes dans les yaourts entreposés pendant quatre semaines au froid.

#### **III.4.1.1.2. Viabilité de *Streptococcus thermophilus* ST dans le yaourt contenant *L. bulgaricus* LB et *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12.**

Dans le yaourt avec *L. bulgaricus* (LB) et *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 conservé une semaine à 4°C, *S. thermophilus* affiche des gains de viabilité exprimés par une croissance appréciable en termes d'augmentation de sa biomasse de

l'ordre de 18.62, 34.65, 11.76, 16.14 et 5.43% dans le yaourt témoin (sans fibres) et dans ceux à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres brutes de caroube, respectivement (fig. 24).

Ainsi, pendant cette première semaine d'entreposage des yaourts au froid, les fibres de caroube stimulent la croissance de *S. thermophilus* quelque soit le taux auquel elles sont ajoutées au lait.

Pendant la première semaine d'entreposage à 4°C, *S. thermophilus* semble mieux cohabiter avec *B. animalis* subsp. *lactis* Bb12 qu'avec *L. rhamnosus* LBRE-LSAS en absence ou en présence de fibres de caroube.

Après deux semaines au froid, cette souche continue d'être stimulée dans sa croissance, mais d'une intensité moindre, en absence (témoin) (+3.21%) ou en présence de 0.5 (+ 9.65%) et de 1.5% (+ 2.62%) de fibres brutes de caroube. Elle perd 11.86 et 6.60% de sa viabilité dans les yaourts contenant 1 et 2% de fibres, respectivement (fig. 24); alors que, pour la même durée de conservation, cette perte a été enregistrée dans tous les yaourts, excepté celui à 2% de fibres, contenant la souche LBRE-LSAS.

Au bout de 21 jours au froid, *S. thermophilus* affiche des pertes de viabilité notables quand elle est avec la souche bifide Bb12 et sa biomasse diminue de 4.92% dans le yaourt témoin (sans fibres), 13.48, 26.26, 26.13 et de 19.48%, respectivement dans les yaourts contenant 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube (fig. 24).

Ce déclin du nombre de streptocoques vivants dans le yaourt se poursuit pendant la quatrième semaine de conservation frigorifique. Les pertes en biomasse se chiffrent à 11.67% dans le yaourt témoin (sans fibres) et à 18.13, 32.96, 28.65 et 24.81%, respectivement, dans les yaourts à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube (fig.24).

#### **III.4.1.2. Viabilité de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB) au cours de l'entreposage du yaourt à 4°C.**

##### **III.4.1.2.1. Viabilité de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB) dans le yaourt contenant *S. thermophilus* (ST) et *L. rhamnosus* LBRE-LSAS.**

L'évolution de la biomasse de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB) en présence de l'autre souche starter (*S. thermophilus*) et de la souche bénéfique *L. rhamnosus* LBRE-LSAS est illustrée par la figure 23.

Pendant la première semaine d'entreposage à 4°C, le lactobacille LB est stimulé dans sa croissance dans tous les yaourts: +25.33% dans le témoin (sans fibres), +18.33, +13.48 et +2.82% dans ceux à 0.5, 1.5 et 2% de fibres, respectivement; sauf dans celui à 1% de fibres de caroube où l'on a enregistré -9.30% de perte de biomasse.

Après deux semaines d'entreposage au froid, la biomasse LB augmente de +16.39 et +4.45% dans le yaourt témoin (sans fibres) et dans celui à 1.5% de fibres de caroube, respectivement. Elle diminue dans ceux à 0.5 (-2.98%), 1 (-12.64%) et 2% de fibres de caroube (-4.23%).

L'inhibition de la croissance se généralise pour *Lactobacillus bulgaricus* LB au cours de la troisième semaine de conservation au froid en cohabitation avec la souche bénéfique *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS et l'autre souche starter, *S. thermophilus*. En effet, les pertes de biomasse lactobacille enregistrées s'élèvent à -0.17 logUFC/g yaourt (soit - 2.30%), -1.39 (-17.22), -2.13 (-25.41), -2.03 (-27.75) et à -2.60 log UFC/g (soit -28.26%), respectivement dans les yaourts témoin (sans fibres), et dans ceux à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube (fig.23).

Après 28 jours d'entreposage au froid, la biomasse continue d'être perdue au même rythme : -1.88 log UFC/g (soit - 25.47%), -1.69b (-20.94), -2.37 (-28.28), -2.05 (-24.03) et -2.52 log UFC/g (soit -27.39%), respectivement dans les yaourts témoin (sans fibres) et dans ceux à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres (fig.23).

#### **III.4.1.2.2. Viabilité de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* LB dans le yaourt contenant *Streptococcus thermophilus* ST et *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12.**

La viabilité de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* LB est touchée dès la première semaine d'entreposage à 4°C du yaourt contenant *Streptococcus thermophilus* LB et *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12. En effet, cette perte de viabilité a concerné le yaourt témoin (-0.47 log UFC/g, soit -5.38%), et les yaourts à 0.5 (-0.11 soit -1.14%) et à 1% (-0.94 log UFC/g, soit -10.17%) de fibres brutes de caroube (fig.24).

En revanche, il y a gain en biomasse dans les yaourts à 1.5 (+1.45 log UFC/g, soit +17.05%) et à 2% (+1.56 log UFC/g, soit +19.02%) au cours de cette première semaine.

Au 14<sup>ème</sup> jour de conservation au froid, ceux sont toujours les mêmes yaourts qui affichent une perte de biomasse: -0.91 (soit -10.42) dans le yaourt témoin et, -0.75 (soit -7.81) et -1.29 log UFC/g (soit -13.96%) dans les yaourts à 0.5 et 1% de fibres de caroube; et un gain de biomasse : +0.32 (soit +3.75) et +0.39 log UFC/g (soit + 4.75%) dans ceux à 1.5 et 2% de fibres (fig.24).

Après 21 jours à 4°C, tous les yaourts affichent des pertes de biomasse de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* LB: -0.81 log UFC/g (soit -9.27%) dans le yaourt témoin (sans fibres) et, -3.07 (-31.97), 2.69 (-29.11), -1.42 (-16.70) et -1.65 log UFC/g (soit 20.12%) dans les yaourts à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube.

Le comportement de la souche *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* LB vis-à-vis des fibres de caroube en cohabitation avec *S. thermophilus* ST et *B. animalis* subsp *lactis* Bb12 est similaire à celui observé lorsqu'elle cohabite avec *S. thermophilus* ST et *L. rhamnosus* LBRE-LSAS.

La prolongation de l'entreposage des yaourts à 4°C s'accompagne d'une augmentation des pertes de biomasse de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* LB et la présence des fibres de caroube ne modifie pas cette tendance: -2.23 log UFC/g (soit -25.54%) pour le témoin sans fibres et, -3.11 (-32.39), -2.86 (-30.95), -1.65 (-18.82) et -1.65 log UFC/g (soit 20.12%), respectivement dans les yaourts à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube (fig.24).

#### **III.4.1.3. Viabilité de *Lactobacillus rhamnosus* (LBRE-LSAS) au cours de l'entreposage du yaourt à 4°C.**

La souche bénéfique, *Lactobacillus rhamnosus* (LBRE-LSAS) perd beaucoup de sa viabilité au cours de la conservation du yaourt à 4°C dans la plupart des yaourts excepté celui à 2% de fibres de caroube où il y a un léger gain en biomasse (+0.14 log UFC/g soit + 1.39%), et ce dès la première semaine, où l'on enregistre par ailleurs -1.4 (soit -15.06), -0.66 ( -6.38), -2.80 (-26.92) et -0.31 log UFC/g (soit -3.27%), respectivement dans le yaourt témoin (sans fibres) et dans ceux à 0.5, 1 et 1.5% de fibres de caroube (fig.23).

Après le 14<sup>ème</sup> jour au froid, ces pertes s'accroissent: témoin : -2.22 log UFC/g (soit -23.89%), yaourts avec 0.5 (-1.97 log UFC/g soit -19.07%), 1 (-3.80 soit -36.53), 1.5 (-0.83 soit -8.76) et avec 2% (-0.59 log UFC/g soit - 5.28%) de fibres de caroube (fig.23).

Les fibres ne modifient en rien cette tendance à la baisse de la viabilité de cette souche lactobacille LBRE-LSAS en cohabitation avec les starters dans le yaourt après trois semaines à 4°C. Les pertes se chiffrent à -2.09 log UFC/g (soit 32.18%) dans le témoin (sans fibres) et, à 3.43 (-33.20), -4.40 (-42.30), -2.22 (-23.44) et -2.38 log UFC/g (soit 23.75%), respectivement dans les yaourts à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube.

En fin d'entreposage au froid (quatrième semaine), nous avons enregistré les plus fortes pertes de viabilité de *Lactobacillus rhamnosus* (LBRE-LSAS) dans les différents yaourts: témoin : -2.67 log UFC/g (soit -28.74%) et, -4.69 (-45.40), -5.63 (-54.13), -3.74 (-39.49) et -4.55 log UFC/g (soit -45.40%), respectivement dans les yaourts à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres brutes de caroube (fig.23).

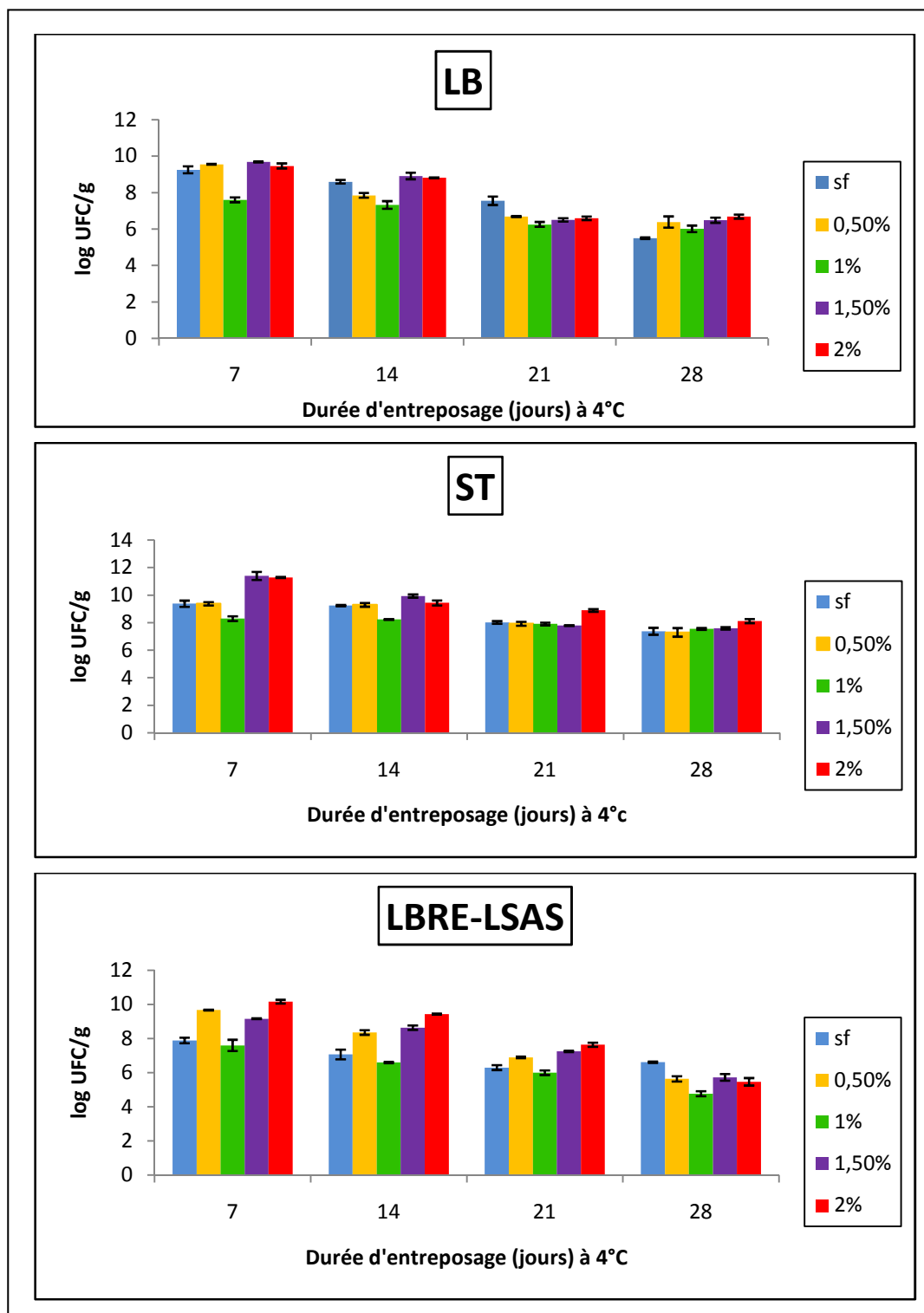
Ainsi, la sensibilité de *Lactobacillus rhamnosus* (LBRE-LSAS) est plus grande que celle des starters dans le yaourt entreposé au froid.

#### **III.4.1.4. Viabilité de *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 au cours de l'entreposage du yaourt à 4°C.**

Après la première semaine d'entreposage, *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 en cohabitation avec les starters dans le yaourt affiche des pertes de biomasse partout : -0.75 log UFC/g (soit -7.99%), -0.90 (-9.77%) et -1.07 log UFC/g (10.54%), respectivement dans les yaourts à 0.5, 1 et 2% de fibres de caroube; sauf dans le yaourt témoin (sans fibres : + 1.27 log UFC/g soit 13.59% d'augmentation) et dans celui à 1.5% de fibres (+0.15 log UFC/g soit 1.52% de pertes) (fig.24).

Au 14<sup>ème</sup> jour, il n'y a que dans le yaourt témoin (absence de fibres) où la souche *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 affiche une croissance exprimée par + 0.52 log UFC/g (soit 5.56% d'augmentation).

Les yaourts contenant les différentes concentrations de fibres de caroube affichent



**Figure 23 :** Cinétique de viabilité post-fermentaire au cours de l'entreposage à +4°C de *Streptococcus thermophilus* (ST), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB) et de *Lactobacillus rhamnosus* (LBRE-LSAS) dans le lait fermenté à 42°C par le mélange des 3 souches en absence (témoin) (■) ou en présence de 0.5 (■), 1 (■), 1.5 (■) et 2% (■) de fibres brutes de caroube. Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m)  $\pm$ SEM de 3 déterminations répétées 3 fois (three times in triplicate) (n = 9).

tous des pertes de viabilité de cette souche : -1.39 log UFC/g (soit -14.81%), -1.33 (-14.44), -1.00 (-10.16) et -1.64 log UFC/g (soit 6 16.15%), respectivement dans les yaourts à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube (fig.24).

Cette tendance à la baisse de la viabilité de la souche bifide se poursuit à la troisième semaine de conservation frigorifique des yaourts et a lieu même dans le témoin (en absence de fibres): 0.54 log UFC/g (soit -5.78%) dans le yaourt témoin (sans fibres) et, -2.04 (-21.74), -2.94 (-31.92), -1.67 (-16.97) et -3.08 log UFC/g (-53%), respectivement dans les yaourts à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube (fig.24).

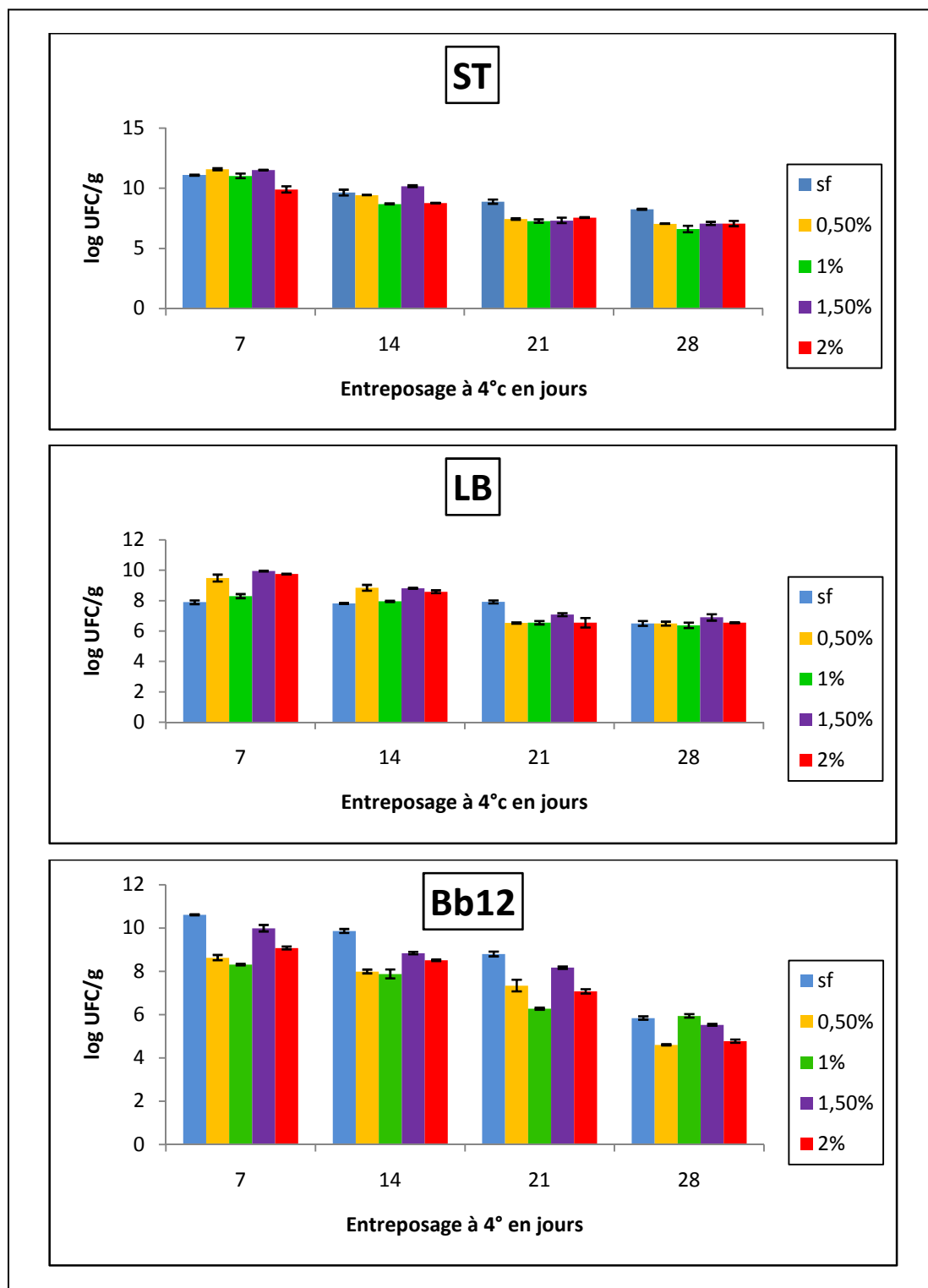
*Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 ne survie pas dans le yaourt conservé 4 semaines à 4°C car, avec ou sans fibres de caroube, les pertes de viabilité sont énormes. Dans le yaourt témoin (sans fibres), les pertes de biomasse bifide s'élèvent à -3.50 log UFC/g, soit 37.47% de diminution. C'est une souche qui craint énormément l'acidité.

Les yaourts avec fibres ne sont pas épargnés par ces pertes : -4.78 log UFC/g (soit - 50.95%), -3.27 (-35.50), -4.31 (-43.80) et -5.38 log UFC/g (soit -53%), respectivement dans les yaourts contenant 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube (fig.24).

Les résultats obtenus dans ce travail montrent que la survie de *Streptococcus thermophilus* était plus élevée que celle de *Lactobacillus bulgaricus* dans tous les yaourts entreposés à 4°C, et sont en accord avec ceux rapportés dans la publication de Lanciotti et al. (2004).

En outre, il apparaît que la viabilité de *Streptococcus thermophilus* est supérieure à celle des souches bénéfiques, *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS et *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12. Cette observation a été déjà faite d'autres auteurs (Kim et al., 1993; Medina et Jordano,1994; Lim et al.,1995; Dave et Shah (1997).

Les pertes de biomasse streptococcique au cours de la conservation frigorifique sont similaires à celles mentionnées dans les résultats (10 -15% de pertes avec ou sans FOS) d'Akalin et al., (2004), qui sont venus confirmer ce qui a été rapporté antérieurement à ce sujet par Medina et Jordano (1994), Dave et Shah (1997), Rybka et Fleet (1997) et Vinderola et al. (2000) dans des yaourts contenant des bifidobactéries.



**Figure 24:** Cinétique de viabilité post-fermentaire au cours de l'entreposage à +4°C de *S. thermophilus* ST, *L. bulgaricus* LB et *B. animalis* subsp. *lactis* Bb12 dans le lait fermenté à 42°C par le mélange des 3 souches en absence (témoin) (■) ou en présence de (P/V) : 0,5% (■), 1% (■), 1,5% (■) et 2% (■). Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations répétées 3 fois (three times in triplicate)  $\pm$ SEM (n = 9).

Santo et al. (2012) avaient observé que dans les yaourts écrémés co-fermentés par *B. animalis* Subsp. *lactis* (Bb12), en présence de la poudre de zeste de fruit de la passion « grenadille », la biomasse de *S. thermophilus* augmente significativement au cours des premiers 14 jours d'entreposage au froid.

Vinderola et al. (2002) ont rapporté des pertes de biomasse streptococcique significativement ( $P < 0.05$ ) plus élevées et très importantes dans des yaourts co-fermentés par *B. animalis* subsp. *lactis* (Bb12) et additionnés par les fibres de pomme et de banane que dans les yaourts témoin (sans fibres) après 28 jours d'entreposage à 4°C.

Selon Acalin et al. (2004), *Streptococcus thermophilus* maintient une bonne viabilité dans les yaourts additionnés ou non de souches bénéfiques (*Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* ou *Bifidobacterium longum*) et/ou de fructo-oligosaccharides (FOS).

La présence de fibres de caroube pourrait, dans une certaine mesure, préserver la viabilité des lactobacilles dans les deux cultures mixtes réalisées. Une des observations majeures de Desai et al. (2004), c'était la stimulation des lactobacilles par les prébiotiques dans les produits renfermant des probiotiques et conservés au froid.

La présente étude a montré que pendant l'entreposage, la survie de *Lactobacillus bulgaricus* était plus affectée que celle de *Streptococcus thermophilus*. Cette observation a également été auparavant rapportée par de nombreux auteurs (Kim et al., 1993 ; Medina et Jardono, 1994 ; Lim et al., 1995 ; Dave et Shah, 1997 et Akalin et al., 2004).

La diminution de la viabilité de *Lb. bulgaricus* remarquée dans cette expérience est commune à quelques types de laits fermentés par des cultures mixtes avec les bifidobactéries (Rybka et Fllet., 1997).

De faibles quantités de biomasse de cette bactérie au cours du stockage au froid de laits fermentés ont également été signalées par Marafon et al. (2011), qui avaient utilisé la même coculture starter CY340 que celle utilisée dans ce travail.

La quantité de biomasse de *Lb bulgaricus* enregistrée dans ce travail (aux alentours de 6 log UFC/g) est similaire à celle (6 log UFC/g) rapportée par Donkor et al.

(2006) pour la souche *Lb bulgaricus* LB1466 en fin d'entreposage au froid. En revanche, elle est inférieure à celle de Medina et Jordano (1994) qui avaient montré que la biomasse de *Lb. bulgaricus* dépassait les 7 log UFC/g dans le lait fermenté contenant des bifidobactéries pendant 25 jours d'entreposage à 4°C.

Les niveaux de pertes de biomasse de *Lactobacillus bulgaricus* notés dans ce travail sont comparables à ceux des résultats publiés par Akalin et al. (2004).

Les avantages des fibres de caroube sur la viabilité des lactobacilles ont été rapportés par Desai et al. (2004) qui ont observé une meilleure viabilité de ces ferments lactiques en présence de prébiotiques dont, l'inuline et le raffinose se sont révélés plus efficaces que le lactulose.

Pendant qu'Ozer et al. (2005) préconisent que pas la viabilité de *Lactobacillus spp.* n'est pas favorisée par le lactulose; Sendra et al. (2008) rapportent, quant à eux, que l'addition de fibres d'agrumes (orange ou citron) aux laits probiotiques induit une légère amélioration du taux de survie de ces bactéries.

Santo et al. (2012) ont eux aussi constaté que l'ajout de fibres de fruits à 1% (pomme ou banane) dans les yaourts co-fermentés par le *B. animalis subsp. lactis* HN019, stimule la croissance de *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* par rapport au témoin après 4 semaines de conservation frigorifique. L'effet de symbiose entre les fibres de fruits et *B. animalis* HN019 aurait pu être responsable de la viabilité accrue de *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*.

Les prébiotiques révélant la plus grande efficacité sur les lactobacilles sont les FOS ( fructo-oligosaccharides) (Rastall et Martin, 2002). Ces nombreux résultats laissent penser que le comportement des lactobacilles dépend de la nature des prebiotiques (Desai et al., 2004).

Par ailleurs, la viabilité est une caractéristique intrinsèque et spécifique à la souche (Sendra et al., 2008; Shene et Bravo, 2007).

La viabilité des lactobacilles est affectée notamment par l'acide et les substances antimicrobiennes produites lors de la fermentation, la teneur en oxygène dans le produit et par la perméation du matériau d'emballage envers ce dernier (Shah, 2000).

Pour *L. rhamnosus*, contrairement aux ferments, sa survie post-fementaire au froid ne dure même pas les deux semaines malgré le niveau de biomasse meilleur en présence de fibres de caroube observé à ce moment là.

Selon Desai et al. (2004), parmi 7 souches expérimentales de lactobacilles, *L. rhamnosus* a présenté la viabilité la plus faible en présence de prébiotiques. Ces auteurs ont supposé qu'il existe une corrélation entre la viabilité et le pH, et ils ont eux aussi mis en avant que la survie de ces microorganismes est une spécificité de la souche.

Oliveira et al. (2011) trouvent que la viabilité de *L. rhamnosus*, dans un cocktail de ferments de yaourt avec d'autres probiotiques comme *L. acidophilus* LAC4 et *B. animalis subsp. Lactis*, et en présence d'inuline, est significativement en dessous de la limite (7,0 log UFC / mL) recommandé pour assurer des effets thérapeutiques.

Dans ce travail, la souche bifide Bb12 testée se comporte d'une manière identique que *L. rhamnosus* LBRE-LSAS, et donc résiste très mal aux conditions post-fermentaires au cours de l'entreposage au froid.

Les résultats obtenus sont analogues à ceux de Shin et al. (2000) qui rapportent que 39 à 67 % de la viabilité est maintenue après 28 jours à 4 °C.

Nos résultats sont beaucoup plus meilleurs que les résultats de Lankaputhra et al. (1996) qui trouvent des pertes de l'ordre de 82% pour *B. infantis* après 24 jours à 4°C dans le lait écrémé (12%) à pH 4.3; ou ceux de Medina et Jordano (1994) qui ont observé une diminution de 93% de la population bifide à la date d'expiration du lait fermenté entreposé à 7°C.

L'instabilité des bifidobacteries dans le yaourt a d'abord été signalée par Klaver et al. (1993) et Modler et Villa-Gracia (1993); et confirmée par Dave et Shah (1997) qui ont aussi signalé un abaissement rapide de la quantité de biomasse des *Bifidobacterium ssp* après la fabrication du yaourt avec les bactéries lactiques commerciales.

Les fibres de caroube présentent un mauvais facteur de préservation de la viabilité des bifidobacteries. Le type de prébiotique ajouté a un intérêt crucial sur la viabilité des probiotiques.

La plus forte augmentation des bifidobactéries a été obtenue par l'addition des XOS (xylo-oligosaccharides) et du lactulose (Rastall et Maitin, 2002).

Ozer et al. (2005) ont utilisé avec succès le lactulose et l'inuline en tant que promoteurs de croissance pour *B. bifidum* pour garder un taux supérieur à  $10^7$  au cours du stockage au froid. C'est lorsqu'elle est utilisée au taux de 5% (P/V) que l'inuline exerce un effet bénéfique significatif ( $P < 0.05$ ) sur la viabilité des bifidobactéries après 28 jours de stockage réfrigéré.

D'après Oliveira et al, (2011), L'inuline a un intérêt particulier pour *B. animalis*, dont la stimulation est accrue de 7,5 à 9,1 log UFC / mL, soit après 1 jour ou 7 jours de stockage à 4°C. Ce résultat confirme l'effet positif des prébiotiques comme l'inuline sur la viabilité déjà signalée (Donkor et al, 2007; Oliveira et al, 2009; 2011)

Varga et al. (2006) et Villaluenga et al. (2006) ont observé que le raffinose a des effets bénéfiques sur la survie de *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 dans le lait fermenté entreposé pendant 21 jours à 4°C.

Donkor et al. (2007) ont rapporté, s'il est vrai que l'inuline stimule la croissance des probiotiques pendant la fermentation, cela ne veut pas dire que ce prébiotique améliore leur viabilité post-fermentaire en augmentant leur croissance. L'inuline peut contribuer au maintien d'une viabilité permettant le minimum requis par la réglementation.

Le produit commercial « Hi-maïs » n'était pas aussi efficace dans le maintien de la viabilité des probiotiques, et il a abouti à une baisse significative de leur niveau à la fin du stockage, atteignant des chiffres similaires aux celles des témoins sans prébiotiques (Donkor et al., 2007)

Les fibres de citron inhibent la viabilité de *B. bifidum* sur MRS. Or, ce même prébiotique améliore (mais non significativement) la viabilité de ce probiotique dans le lait fermenté (Sendra et al., 2008)

En outre, Martin et Chou (1992) et Dave et Shah. (1997) ont observé que la viabilité de *Bifidobacterium spp.* variait considérablement selon les espèces et les souches.

Le choix des souches et des prébiotiques demeure alors très important pour leur survie dans le produit et le tractus gastro-intestinal (Desai et al., 2004)

Aux raisons intrinsèques des souches, les synergies ou les antagonismes entre les cultures selon le type de prébiotique, Sendra et al. (2008) confirment que l'entreposage frigorifique diminue significativement le nombre de cellules viables de bactéries probiotiques.

Dave et Shah, (1997) et Shah (2000) attribuent la différence dans la viabilité des souches probiotiques à l'apparition d'un certain nombre de facteurs inhibiteurs comme l'acidité, le pH et l'oxygène.

*L. bulgaricus* est une souche plus acidifiante que *Streptococcus thermophilus* et son activité de synthèse post-fermentaire d'acide lactique pourrait affecter la viabilité des souches probiotiques (Shah et al., 1995).

Cela montre que l'acidité finale dans le produit a un impact majeur sur la viabilité microbienne au cours de la durée de vie du produit (Martensson et al., 2002), et cette relation entre l'environnement acide et l'effet sur la viabilité cellulaire a été amplement rapportée auparavant (Lankaputhra et al., 1996; Laroia et Martin, 1991; Vinderola et al, 2000).

La perte de viabilité des probiotiques dans les produits laitiers fermentés est due aux préjudices causés par les acides (Shah, 2000b; Shah et Jelen, 1990; Talwalker et Kailasapathy, 2004).

Dans leurs publications, Sakei et al. (1987) et Shah et al. (1995) ont conclu que le facteur le plus important dans la mortalité bifidobactérienne était le pH faible du yaourt. A ces basses valeurs de pH, les acides lactique et acétique produits sont des agents antimicrobiens puissants, et peuvent avoir un rôle dans la modulation de la survie des bifidobactéries (Akalin et al., 2004)

Vinderola et al. (2000) ont rapporté que les valeurs de pH de 4,5 ou moins, conditionne la viabilité des probiotiques du yaourt stockées à 5°C. Lankaputhra et al. (1996a) ont le même avis mais avec un pH inférieur ou éga à 4,3.

Le soutien prébiotique de l'activité métabolique des ferments pendant les premières semaines de conservation, se traduit par une production de métabolites primaires «acide lactique et acétique» plus prononcée, abaissant le pH pour altérer les probiotiques qui sont les plus sensibles envers cet agent qui devient limitant pour leur croissance d'un part, et aggrave d'autre part leur mortalité au cours des semaines postérieures. Le résultat, une biomasse au dessous de la dose minimale thérapeutique

effective (< 6 log UFC) (Vasiljevic and Shah, 2008), provoquée par une létalité très grande.

Cette explication est aussi avancée par Donkor et al. (2007) concernant l'inuline qui, néanmoins atténue l'effet néfaste de ces acides.

Puisque le taux minimal de probiotique requis pour avoir un effet bénéfique sur l'organisme est 6 log UFC/mL, la durée de vie de notre yaourt est 21 jours pour les deux bactéries bénéfiques. Sa DLC (date limite de consommation) se limiterait à une semaine car le plafond de la biomasse probiotique se situe à cette durée d'entreposage au froid.

#### **III.4.2. Effets des fibres de caroube sur la post-acidification du yaourt contenant les deux ferments lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) en présence d'une souche bénéfique, *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS ou *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12.**

La post-acidification des yaourts témoins (sans fibres de caroube) contenant les starters (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) et la souche bénéfique, *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LASAS, est caractérisée par la diminution du pH initial (celui à la coagulation:4.70) à 4.67, 4.08, 3.87 et 3.54, respectivement au 7<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup>, 21<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jour d'entreposage à 4°C (fig. 25).

En présence de 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube et après 28 jours d'entreposage à 4°C, ce pH final des yaourts est moins acide que celui du témoin, et il est, respectivement, égal à 3.77, 3.97, 3.72 et 4.15 (fig.25).

D'une manière générale, il apparaît que les fibres de caroube atténuent quelque peu la post-acidification des yaourts contenant les starters et la souche bénéfique *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS au cours de l'entreposage au froid.

La diminution du pH des yaourts à 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres est, respectivement, de l'ordre de 1.17, 0.95, 1.27 et 0.66 unités pH au 28<sup>ème</sup> jour d'entreposage. Dans le yaourt témoin (sans fibres), le pH diminue de 1.43 unités; ce qui montre que l'absence de fibres conduit à une acidité plus prononcée avec un pH final plus acide.

Dans les yaourts témoins (sans fibres de caroube) associant les starters (*Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) à la deuxième souche bénéfique, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12, l'activité post-acidifiante des souches génère des pH plus acides enregistrés lors de la conservation frigorifique, soit 4.63, 4.20, 3.30 et 3.38, respectivement au 7<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup>, 21<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jour d'entreposage (fig. 25).

Les pH finaux enregistrés au 28<sup>ème</sup> jour d'entreposage à 4°C des yaourts additionnés de 0.5, 1, 1.5 et 2% de fibres de caroube sont respectivement égaux à 3.66, 3.75, 3.96 et 4.00. On remarque, ici aussi, une relation linéaire directe entre le taux de fibres ajoutées et le pH final des yaourts après les 28 jours d'entreposage au froid. Les fibres de caroube atténuent, là aussi, l'activité post-acidifiante des souches.

De même que dans l'autre combinaison, la diminution de pH au cours de l'entreposage réfrigéré pour les échantillons additionnés de fibres, est moindre par rapport au témoin; on note 1.11, 1.18, 0.64 et 0.57 unités pH contre 1.29 unités pH respectivement.

La post-acidification est un phénomène se produisant souvent dans les yaourts, caractérisée par la production excessive d'eau oxygénée et d'acide lactique par *L. bulgaricus* (Lourens-Hattingh et Viljoen., 2001).

Souza (1991) signale que l'acidité des yaourts commerciaux est très variable, allant d'un pH de 3.7 à 4.6. Néanmoins, pour éviter le manque ou l'excès d'acidité du goût, les valeurs optimales doivent être dans la gamme de pH 4,0 à 4,4.

On pense que les valeurs très basses de pH avec ou sans fibres, sont la conséquence d'un métabolisme acidifiant très fort de la souche *L. bulgaricus*. En plus, les pH finaux en présence de *B. animalis* sont plus bas qu'en présence de *L. rhamnosus*, ceci suggère que le premier probiotique est doué d'un pouvoir acidifiant plus grand.

Sodini et al. (2002) ont observé que le pH final d'une culture associant des souches probiotiques aux starters du yaourt dans le lait fermenté est acide en présence de *L. bulgaricus* (4.12 à 4.15) comparativement à l'absence de cette bactérie

protéolytique (4.24 à 4.25).

Selon Shah et al. (1995), les yaourts australiens commerciaux contenant *L. acidophilus* et *B. bifidum* ont un pH compris entre 4.07 à 4.36 en fin de fermentation et entre 3.8 à 4.26 après 33 jours d'entreposage.

Les cocultures *S. thermophilus* + *L. rhamnosus* et *S. thermophilus* + *B. animalis lactis* en présence de lactulose ont l'effet le plus important sur l'acidité due à l'acide lactique (3,4 à 4,1% et de 3,3 à 3,8%) dans un lait fermenté entreposé à 4°C pendant 35 jours (Bongaerts et al, 2005; Jyoti et al, 2004).

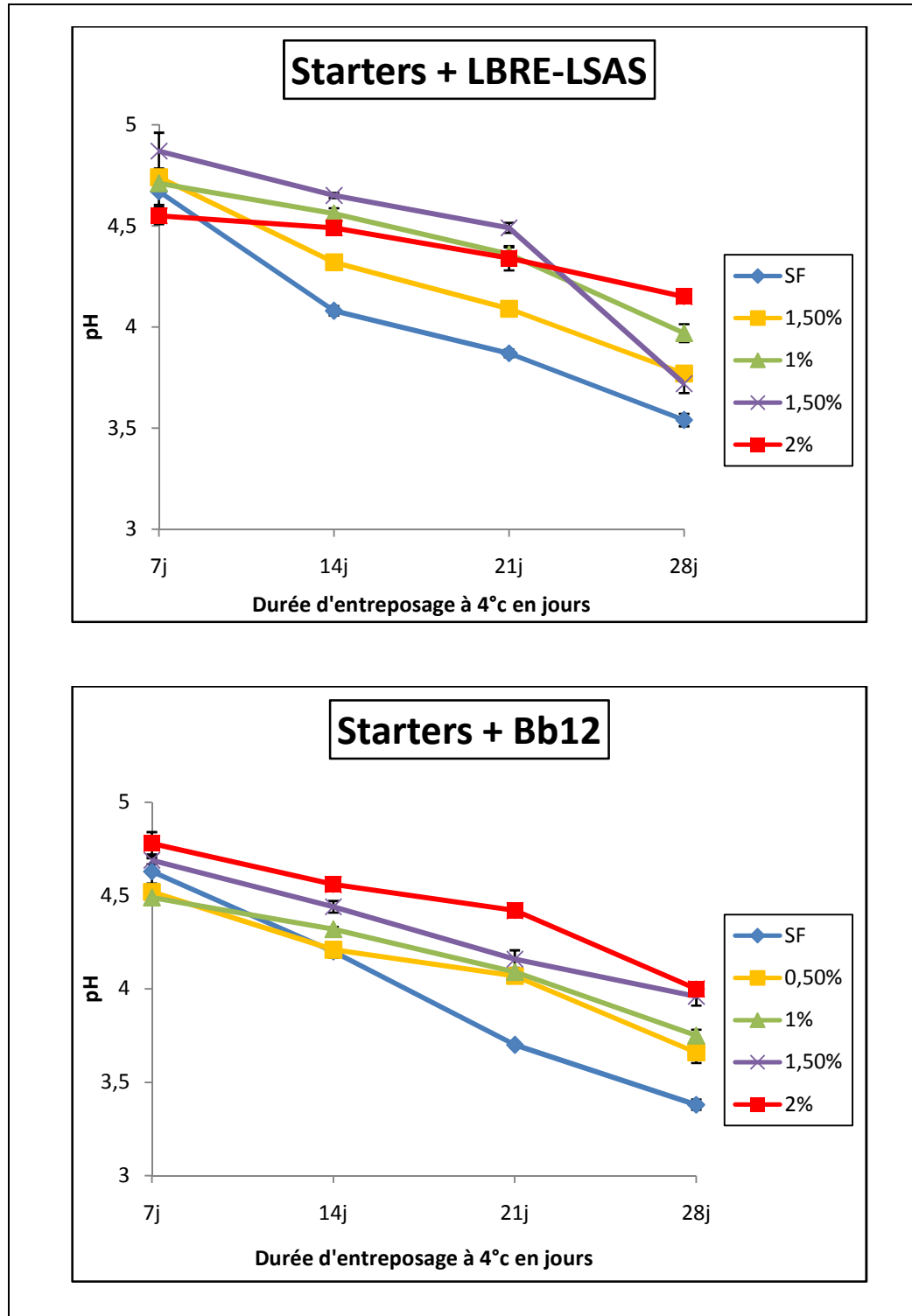
Pour leur part, Oliveira et al. (2011) préconisent que le lactulose se comporte comme une source de carbone supplémentaire lentement métabolisable, consommée partiellement par ce type de cocultures.

Lorsque les fibres de caroube se trouvent dans le lait, les pH ultimes sont plus élevés et le produit est plus doux, il garde alors une meilleur fermeté et une texture plus tenace et évite le phénomène de synérèse; probablement à cause d'un effet sur la régulation de l'acidité par ces prebiotiques.

Santo et al. (2010) remarquent une légère augmentation du pH ( $P < 0.05$ ) dans les yaourts additionnés de fibres de pommes et de banane et co-fermenté par *B. animalis subsp. lactis BL04* par rapport aux témoins.

De même, Santo et al. (2010) a rapporté que le pH de yaourts d'açaï fermenté par la souche *B. animalis BL04* était significativement plus élevée ( $P < 0.05$ ) que leurs témoins sans fruit, ce qui indique que la souche BL04 en présence de certains produits de fruits peut réduire sa production d'acide organique.

Contrairement à ca, d'après Desai et al. (2004), le pH final est indépendant des prebiotiques, puisqu'il est le résultat de la production de l'acide lactique par la croissance et le métabolisme des lactobacilles pendant la fermentation.



**Figure 25:** Post-acidification au cours de l'entreposage à 4°C des laits fermentés à 42°C par les starters, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, avec une souche bénéfique, *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS ou *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 en absence (témoin) (◆) ou en présence de (P/V) : 0,5 (■), 1 (▲), 1,5 (●) et 2% (■) de fibres brutes de caroube. Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de  $10^7$  UFC/mL et utilisé à 3%. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations  $\pm$ SEM répétées 3 fois (three times in triplicate) (n = 9).

# *Conclusion*

## Conclusion

Le but de la présente étude a été de vérifier s'il était possible de réunir au sein d'un même aliment, le yaourt, des souches d'intérêt digestif, comme *Lactobacillus rhamnosus* et *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis*, en cohabitation avec les starters, et des substances, comme les fibres de caroube, capables de promouvoir le développement et la survie de ces souches (effet prébiotique) au sein de cet aliment vecteur dans l'espoir de les voir en nombre suffisant pour prétendre à coloniser le tube digestif de l'hôte qui les recevra. Il s'agissait de vérifier également si ces souches pouvaient rester viables à un niveau universellement requis ( $10^7$ UFC/g) dans l'aliment vecteur conservé au froid pendant 4 semaines.

Pour ce faire, les fibres brutes extraites (de pH 5.2) ont été additionnées à des taux de 0.5, 1, 1.5 et 2% (P/V) au laitensemencé par les starters (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*) et par une souche bénéfique (*Lactobacillus rhamnosus* ou *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis*) à la fois. Les fermentations ont été volontairement stoppées par refroidissement des tubes quand le pH du lait avait atteint 4.70. C'est le pH auquel la coagulation du lait est visible à l'œil nu.

Le premier aspect des observations faites à l'issue de ce travail concerne la croissance bactérienne. Les fibres de caroube ajoutées au lait exercent, effectivement, une stimulation de la croissance des souches *L. rhamnosus* et *B. lactis* qui affichent des biomasses pouvant aller jusqu'à 10.40 et 10.15 log UFC/g, respectivement, contre 9.29 et 9.34 log UFC/g dans les yaourts témoins (sans fibres). Sous l'effet des fibres de caroube, ces bactéries (*L. rhamnosus* et *B. lactis*) ont vu leur vitesse spécifique de croissance boostée de 48.73 et 29.50%, respectivement.

Les souches starters du yaourt (*S. thermophilus* et *L. bulgaricus*) ont, elles aussi, bénéficié de cet effet stimulant des fibres de caroube dans les deux cocultures où il y a une augmentation de la biomasse atteignant jusqu'à 10.93% pour les streptocoques et 24.66% pour les lactobacilles.

Le deuxième aspect vérifié, c'est l'effet des fibres de caroube sur le pouvoir d'acidification des souches. Selon nos résultats, étant donné que l'extrait de fibres a un pH de 5.2, son addition à la culture contribue à faire chuter le pH initial du lait ; et ceci se répercute bien entendu sur le pH final du yaourt. Les fibres de caroube provoquent un

prolongement du temps de coagulation du lait en raison de la latence plus longue dans la synthèse d'acides organiques qu'elles induisent chez les souches acidifiantes.

Le troisième aspect de ce qui a été mis en relief dans ce travail, représente l'aptitude des fibres de caroube à préserver la viabilité des bactéries impliquées dans la fermentation du lait pendant 28 jours d'entreposage à 4°C. Ce sont les souches starters qui arrivent à garder la meilleure viabilité, en particulier au cours des deux premières semaines d'entreposage au froid, au sein des différents yaourts contenant des fibres. Les souches bénéfiques, *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS et *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 ne résistent pas bien à l'environnement acide du yaourt additionné de fibres de caroube et entreposé à 4°C pendant 4 semaines ; elles affichent des taux de pertes de biomasse respectives égales à 42.30 et 16.97 à 31.92%. Malgré ces pertes, la viabilité préservée au 21<sup>ème</sup> jour d'entreposage au froid des yaourts permet à ces souches de se maintenir vivantes au niveau minimal (6 logUFC/g) recommandé par les organismes spécialisés.

Le quatrième aspect des présents résultats touche l'effet des fibres de caroube sur l'activité métabolique acidifiante des ferments secondée par la présence d'une souche bénéfique. Le fait que des souches comme *L. rhamnosus* et surtout *B.animalis* subsp *lactis* soient hypersensibles à l'acidité développée par l'activité fermentaire et amplifiée par celle de l'extrait de fibres de caroube, laisse penser que les fortes pertes de viabilité enregistrées sont principalement dues à l'environnement acide du yaourt.

L'ensemble des résultats enregistrés nous amènent à penser que les fibres de caroube ont un effet prébiotique-like appréciable soit sur les ferments lactiques ou les bactéries bénéfiques, voire même un intérêt technologique à retombées positives sur les propriétés physiques et sensorielles du yaourt au cours de sa fabrication ou durant sa conservation au froid.

Les perspectives de ce travail seraient d'utiliser des fibres de caroube de pH neutre dans la fabrication d'un yaourt permettant une meilleure viabilité des souches d'intérêt ; et surtout tester l'effet de ces fibres sur la viabilité de ces souches dans des conditions in vivo.

# **Références bibliographiques**

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **AACC, Rapport, (2001):** The Definition of Dietary Fibre. (Report of the Dietary Fibre Definition Committee to the Board of Directors of the American Association of Cereal Chemists). *Cereal Foods World* 46(3):112-126.
- **AFSSA « Agence Française De Sécurité Sanitaire Des Aliments » (2002):** Martine Champ : Les fibres alimentaires : définitions, méthodes de dosage, allégations nutritionnelles. Rapport du comité d'experts spécialisé Nutrition humaine.
- **AFSSA « Agence Française De Sécurité Sanitaire Des Aliments » (2003):** Alimentation infantile et modification de la flore intestinale.
- **Ait-Belgnaoui Afifa, (2006).** Influence d'un traitement probiotique (*Lactobacillus farciminis*) sur les altérations de la sensibilité viscérale liées au stress : rôle de la barrière épithéliale colique.
- **Akalin A. S., Fenderya S. et Akbulut N. (2004):** Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 39: 613–621 613.
- **Alles M.S., Hartemink R., Meyboom S et al. (1999):** Effect of Transgalactooligosaccharides on the composition of the human intestinal microflora and on putative risk markers for colon cancer- *American Journal of Clinical Nutrition* May; **69** (5): 980-991
- **Alonso-Coello P., Guyatt G., Heels-Ansdell D., et al. (2005):** Laxatives for the treatment of hemorrhoids. *Cochrane Database Syst Rev*.
- **Alonso-Coello P., Mills E., Heels-Ansdell D., et al. (2006):** Fiber for the treatment of hemorrhoids complications: a systematic review and metaanalysis. *Am J Gastroenterol*; **101**: 181 –188.
- **Amado R., (1994):** Physico-Chemical Properties to Relate to Type of Dietary Fibre. In: Amado, R., J.L. Barry and W. Frolich, (Eds.), *Physico-chemical Properties of Dietary Fibre and Effect of Processing on Micronutrients Availability*, pp: 49-54.
- **Anderson J.W., Pasupuleti V.K. (2008):** Nutraceuticals and diabetes prevention and management. In: Pasupuleti VK, Anderson JW, eds. *Nutraceuticals, Glycemic Health and Type 2 Diabetes*. Ames, Iowa: Blackwell Publishing Professional; 2008:1–10
- **Anderson J.W., Baird P., Davis R.H., Jr., et al. (2009):** Health benefits of dietary fiber. *Nutr Rev* **67**: 188-205.

- **Anonyme. (1993):** Journal de pédiatrie et de puériculture - les Fibres, nutrition et prévention- n° 5- MEDEC.
- **Anonyme. (2002):** IOM “Institute of Medicine”. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Protein and Amino Acids (Macronutrients). The National Academy of Sciences. Washington, D.C. : pp.265-328. 339-421.
- **Anonyme. (2004):** CDC “Centers for Disease Control and Prevention”- National Center for Health Statistics (NCHS). National Health and Nutrition Examination Survey Data. Hyattsville, MD: U.S. Department of Health and Human Services.
- **Anonyme. (2007):** ANIA « Association Nationale des Industries Alimentaires » . (alimentation, nutrition): le point sur Les fibres alimentaires, Novembre.
- **Anonyme. (2008):** IFICF “International Food Information Council Foundation”. Fact Sheet, 11.21.08.
- **AOAC -Association of Official Analytical Chemists. (1999):** Official methods of analysis (16th ed). Washington, DC.
- **Aprikian O., Levrat-Verny M. A., Besson C., Busseroles J., Remesy C., et Demigne C. (2001):** Apple favourably affects cholesterol metabolism and anti-oxidative protection in cholesterolfed rats. *Food Chemistry*, 75, 445-452.
- **Ashraf W., Park F., Lof J., et al. (1995):** Effects of psyllium therapy on stool characteristics, colon transit and anorectal function in chronic idiopathic constipation. *Aliment Pharmacol Ther*; **9**: 639 – 647.
- **Ashwell M. (2002):** Concepts of Functional Foods. ILSI - International Life Sciences Institute, Brussels.
- **Auffret A., Ralet M.C., Guillon F., Barry J.L., et Thibault J.F. (1994):** Effect of grinding and experimental conditions on the measurement of hydration properties of dietary fibres. *Lebensmittel-Wissenschaft Technol.*, 27: 166-172.
- **Ayse S.A., Serap F., et Necati A. (2004):** Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage-*International Journal of Food Science and Technology*, 39, 613–621.
- **Backhed F., Ding H., Wang T., Hooper L.V., Koh G.Y., Nagy A., Semenkovich C.F., et Gordon J.I. (2004):** The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 15718–15723.
- **Backhed F., Ley R.E., Sonnenburg J.L., Peterson D.A., et Gordon J.I. (2005):** Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 307, 1915–1920.

- **Backhed F., Manchester J.K., Semenkovich C.F., et Gordon J.I. (2007).** Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci USA*.
- **Battle I. et al J. (1997).** Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetic and Crops Plant Research. Gatersleben/International Plant Resources Institute. Rome. Italy.
- **Ballongue, J., Schumann C., et Quignon P. (1997):** Effects of lactulose and lactitol on colonic microflora and enzymatic activity. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*,32 (Suppl. 222), 41-44.
- **Bazzocco S., Mattila I., et al. (2008):** Factors affecting the conversion of apple polyphenols to phenolic acids and fruit matrix to short-chain fatty acids by human faecal microbiota in vitro.
- **Berk Z. (1976):** Pectic substances, plant gums. In: Braverman's. Introduction to the biochemistry of foods, Ed. Elsevier Scientific Publishing Company,131-143.
- **Bernardeau M., Guguen M., et al. (2006):** Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. *FEMS Microbiol Rev*.
- **Betoret N., Puente L., Diaz M.J., Pagan M.J., Garcia M.J., Gras M.L., Martinez-monzo J., et Fito P. (2003):** Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation.*Journal of Food Engineering*.
- **Biner B., Gubbuk H., Karhan M., Aksu M., et Pekmezci M. (2007):** Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey, *Food Chemistry* N°100, pp.1453-1455.
- **Boerjan W., Ralph J., et Baucher M. (2003):** Lignin biosynthesis. *Annu Rev Plant Biol* **54**: 519- 546.
- **Borel P., Lairon D., Senft M., Garzino P., Lafont H. (1990):** Lack of effect of purified cellulose and hemicellulose on the digestion and the intestinal absorption of dietary lipids in the rat. *Ann Nutr Metab.* **33**(5):237-45.
- **Bornet B., Muller C., Paulus F., Branchard M. (2002):** High informative nature of Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) sequences amplified with tri- and tetra-nucleotide primers from cauliflower (*Brassica oleracea* var. *Botrytis* L.) DNA. *Genome*
- **Boudet A.M., Kajita S., Grima-Pettenati J., et Goffner D. (2003):** Lignins and lignocellulosics: a better control of synthesis for new and improved uses. *Trends Plant Sci* **8**: 576-581.

- **Boufadi Y. (2009):** Thème magister (ingrédients protéiques, cultures starters, probiotiques et EPS dans le lait fermenté). Hyg et Séc Agro-alim; Univ Mosta.
- **Bouhnik Y., Raskine L., Simoneau G., Vicaut E., Neut C., Flourié B., Brouns F., et Bornet F.R. (2004):** The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose-response relation study. *American Journal of Clinical Nutrition*.
- **Bouhnik Y., Flourié B., Riottot M., Bisetti N., Gailing M.F., Guibert A., Bornet F., et Rambaud J.C. (1996):** Effects of fructo-oligosaccharides ingestion on fecal bifidobacteria and selected metabolic indexes of colon carcinogenesis in healthy humans. *Nutrition and Cancer*.
- **Bouhnik Y., Flourie B., Riottot M., Bisetti N., Gailing M.F., Guibert A., Bornet F., Rambaud J.C. (1996):** Effects of fructo-oligosaccharides ingestion on fecal bifidobacteria and selected metabolic indexes of colon carcinogenesis in healthy humans. *Nutr Cancer*; 26: 21-29.
- **Bourlioux P., Berthold K., Francisco G., et Véronique B. (2003):** The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium “The Intelligent Intestine,” held in Paris.
- **Brownlee I.A. (2011):** The physiological roles of dietary fibre- Institute for Cell & Molecular Biosciences, Medical School, Newcastle University, Newcastle.
- **Bruno J.F., Laura E.P., Harvell D.C., et Annaliese H. (2002):** Nutrient enrichment can increase the severity of coral diseases.
- **Bryan C. Tunland B.C. (2007):** Inulin, A Comprehensive Scientific Review.
- **Cabrol C. septembre (2006):** Comité scientifique du pain Pain et nutrition-1<sup>re</sup> edi
- **Campbell J.M., Fahey G.C.J., et Wolf B.W. (1997):** Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J Nut.*127: 130-136.
- **Chaplin M. (2004):** Water Structure and Behavior. London South Bank University. London, Angleterre. <http://www.lsbu.ac.uk/water/>.
- **Chau C.F., et Huang Y.L. (2003):** Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. Cv. Liucheng. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- **Chawla R., et Patil G.R. (2010).** Soluble Dietary Fiber-comprehensive reviews in food and food safety-Vol. 9, -*Institute of Food Technologists*.

- **Cheickna D., Zhang H. 25 October (2011):** Physico-chemical Properties and Antioxidant Activities of Dietary Fiber Derived from Defatted Rice Bran-Advance Journal of Food Science and Technology 3(5): 339-347.
- **Cho S., Devries J.W., et Prosky L. (1997):** Dietary fiber analysis and applications; AOAC International: Gaithersburg.
- **Cloetens L., De Preter V., Swennen K., et al. (2008):** Dose-response effect of arabinoxyloligosaccharides on gastrointestinal motility and on colonic bacterial metabolism in healthy volunteers. *J Am Coll Nutr* 27: 512-518.
- **Cloutour F. (1995) :** Caractérisation des fibres alimentaires : influence sur leur fermentation in vitro par la flore digestive de l'homme. Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences et des Techniques, Université de Nantes, pp. 123.
- **Colin H.M. (2008):** Thèse de doctorat (de la pomme à la pomme transformée: impact du procédé sur deux composés d'intérêt nutritionnel-caractérisation physiques et sensorielle des produits transformés), Université d'Angers.
- **Collar C., Rosell C.M., Muguerza B., et Moulay L. (2009):** Bread making performance and keeping behavior of cocoa soluble fiber-enriched wheat breads. *Food Science and Technology International*. 15. 79-87.
- **Contor L. (2001):** "Functional Food Science in Europe." *Nutr Metab Cardiovasc Dis*
- **Corrieu G., et Luquet F. M. (2008):** Bactéries lactiques : de la génétique aux ferments. *Tec et Doc, Lavoisier, Paris*.
- **Cosgrove D.J. (2005):** Growth of the plant cell wall. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6: 850-861.
- **Coudray C., Rambeau M., Feillet-Coudray C., et al. (2005):** Dietary inulin intake and age can significantly affect intestinal absorption of calcium and magnesium in rats: a stable isotope approach. *Nutr J*; 4: 29.
- **Coussement P. (1996):** pre and synbiotics with inulin and oligofructose. *Food Tech Europe*, jan : 102-104
- **Coussement P., Anne F. (2001):** handbook of dietary fiber -Inulin and Oligofructose; *ORAFI Active Food Ingredients, Tienen, Belgium*
- **Crittenden R., Playne M.J. (1996):** Commercially available oligo-saccharides. *Bulletin of IDF*,313.
- **Crittenden R.G. (1999):** Prebiotics. In: *Probiotics: A Critical Review*. G.W. Tannock, ed. Horizon Scientific Press, W ymondham.

- **Crittenden R.G., Morris L.F., Harvey M.L., Tran L.T., Mitchell H.L., et Playne M.J. (2001):** Selection of Bifidobacterium strain to complement resistant starch in a symbiotic yoghurt. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 268–278.
- **Crowe T.C., Seligman S.A., et Copeland L. (2000):** Inhibition of enzymic digestion of amylose by free fatty acids in vitro contributes to resistant starch formation. *Journal of Nutrition*, 130 (8), 2006-2008.
- **Cuibai F. (2008).** L'influence de la lactoferrine, de probiotiques et du SM3 (extrait enrichi en sphingolipides) sur des fonctions immunitaires de la souris.
- **Cummings J.H., Branch W.J., Bjerrum L., Paerregaard A., Helms P., Burton R. (1982):** Colon cancer and large bowel function in Denmark and Finland. *Nutr Cancer*;4(1):61-6.
- **Cummings J.H., Englyst H.N. (1995):** Gastrointestinal effects of food carbohydrate. MRC Dunn Clinical Nutrition Centre, Cambridge, UK.
- **Cumming J.H. (1996):** Metabolic and physiological aspects of dietary fiber. Commission of the European Communities. Brussels, Belgium.
- **Cummings J.H., et Stephen A.M. (2007):** Review- Carbohydrate terminology and classification. *Eur J Clin Nutr*, 61, Suppl 1, S5-S18.
- **Da Cruz A.G., Adriano G.C., Jose de Assis F. F., et Susana M.I.S. (2010):** High pressure processing and pulsed electric fields: potential use in probiotic dairy foods processing. *Trends in Food Science and Technology*.
- **Daisuke C., Shigeyuki N., Shinsaku F., Juichi S., Tadashi S., Teruo N., Tomohiko F., Atsushi T., et Kazuo S. (2004):** The Fermentation of Different Dietary Fibers Is Associated with Fecal Clostridia Levels in Men -American Society for Nutritional Sciences.
- **Dave R.I., Shah N.P. (1996):** Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and bifidobacteria. *J. Dairy Sci.*,
- **Dave R.I., et Shah N.P. (1997):** Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *Int. Dairy J.* 7:537–545. *milk. J. Soc. Dairy Technol.* 31:209–212.
- **Dave R.I., et Shah, N.P. (1997):** Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7, 31–41- Elsevier Science Limited.

- **Dave R.I., et Shah N.P. (1998):** Ingredients supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *J. Dairy Sci* **81**:2804-2816.
- **Dave R.F., et Shah N.P.(1999):** Antimicrobial substance produced by *Lactobacillus helveticus* 2700. *Australian J. of Dairy Technol.*
- **Debry. (1990) :** réalisation d'une alimentation équilibrée au XXI siècle, du concept à la pratique.
- **De Cassia F.K., Amancio O.M., Ferreira N.M., et al. (2003):** Partially hydrolyzed guar gum increases intestinal absorption of iron in growing rats with iron deficiency anemia.*Nutrition*; **19**: 549 – 552.
- **Dellaglio F., de Roissart H., Torriani S., Curk M.C., et Janssens D. (1994):** Caractéristiques générales des bactéries lactiques.
- **De Leenheer L., Hoebregs H. (1994):** Progress in the elucidation of the composition of chicory inulin. *Starch* 46(5): 193–196.
- **De Leenheer L., Franck A. (1996):** Inulin, ORAFIT, Aandorenstraat 1, 3300 Tienen, Belgium.
- **De Man J.C., Rogosa M., et Sharpe M.E. (1960):** A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Applied Bacteriology.* **23**:130-135.
- **De Roissart H., et Luquet F.M., (1994):** Bactéries lactiques.
- **Desjardins M.L., Roy D., et Goulet J. (1991):**  $\beta$ -Galactosidase and proteolytic activities of bifidobacteria in milk: A preliminary study. *Milchwissenschaft*, **46**(1), 11–13.
- **Desai A.R., Powell I.B., et Shah N.P. (2004):** Survival and Activity of Probiotic Lactobacilli in Skim Milk Containing Prebiotics- *Food Microbiology and Safety*
- **Desmedt A., et Jacobs H. (2001):** Soluble fibre. In *Guide to functional food ingredients*. Surrey, England: Food RA Leatherhead Publishing.
- **De Vries W., et Stouthamer A.H. (1989):** Factors determining the degree of anaerobiosis of Bifidobacterium strains. *Archives of Microbiology*, **65**, 275–278.
- **Dial E.J., Lichtenberger L.M., (2002):** Effect of lactoferrin on *Helicobacter felis* induced gastritis. *80*(1):113-7.Department of Integrative Biology and Pharmacology, University of Texas Health Science Center, Houston Medical School-Biochem Cell Biol.
- **Diez M., Istasse L. (1996):** Chapitre 1 ( Fibres alimentaires chez le chien : I. Définition et composition chimique; *Ann. Méd. Vét.*, **140**, 385-391.

- **Dikeman C.L., et Fahey G.C. (2006):** Viscosity as related to dietary fiber: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 26. 649-63.
- **Diplock A.T., Aggett P.J., Ashwell M., et al. (1999):** Scientific Concepts of Functional Foods in Europe : Consensus document. *Brit J-Nutr*, 81 : S1-S27.
- **Dong L.F., Nedwell D.B., Colbeck I., et Finch J. (2004):** Nitrous oxide emission from some English and Welsh Rivers and estuaries. *Water Air Soil Pollut*.
- **Dongowski G. (2007):** Interactions between dietary fibre-rich preparations and glycoconjugated bile acids in vitro- German Institute of Human Nutrition Potsdam-Rehbruecke, Department of Food Chemistry and Preventive Nutrition,D-14558 Nuthetal, Germany-Food Chemistry 104 390–397 science direct.
- **Donkor O.N., Henriksson A., Vasiljevic T., et Shah N.P. (2006):** Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*,
- **Donkor O.N., Nilmini S.L.I., Stolic P., Vasiljevic T., Shah N.P. (2007):** Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage- *International Dairy Journal* 17 657–665.
- **Doron S., et Gorbach S.L. (2006):** probiotics their role in the treatment and prevention of disease.
- **Dutta S.M., Kuila R.K., et Rangnathan B. (1973):** Effect of different heat treatments on acid and flavour production by single strain starter cultures. *Milchwissenschaft*, 28,23 1-233.
- **Ebringerova A., Heinze T. (2000):** *Macromol.rapidcommun*,21(9),542-556.
- **Ebringerova A., Hromadkova Z., Malovikova A., Sasinkova V., Hirsh J., Sroкова I. (2000):** *J.Appl.plym.sci* , 78(6),1191-1199.
- **Edwards C.A., Parrett A.M. (1996):** Plant cell wall polysac- charides, gums and hydrocolloids: nutritional aspects.
- **El-zahar K., Chobert J.M., Dalgalarrrondo M., Sitohy M., et Haertlé T. (2004):** Proteolysis of ewe’s caseins and whey proteins during fermentation of yogurt and storage. Effect of the starters used. *J. of Food & Nutrition*. 28: 319-335.
- **Emaga T.H., Robert C., Ronkart S.N., Wathelet B. et Paquot M. (2008):** Dietary fiber components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plaintain varieties. *Bioresource Technology*.

- **Englyst H.N., et Cummings J. H. (1984):** Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 109, 937-942.
- **Escrig Jimerez A. et Muniz Sanchez F. J. (2000):** Dietary fibre from edible seaweeds: chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*, 20, 585-598.
- **Fabrice P. 13 Décembre (1999):** Thèse de doctorat (immunoprophylaxie des cancers colorectaux par des glucides indigestibles fermentables: études chez la souris *MIN*). UFR de médecine et techniques médicales, Université de Nantes.
- **FAO/ OMS. (2001):** World Health Organization. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria: 34.
- **Farnworth E.R. (2008):** Kefir: from folklore to regulatory approval. *J. Nutraceuticals Funct. Med. Foods*.
- **Femia AP., Luceri C., Dolara P., et al. (2002):** Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats *Carcinogenesis*; **23** (11): 1953-1960.
- **Ferguson R.R., et Fox K. (1978):** Dietary citrus fibres. *Transactions of the ASME Citrus Engineering Conference*, **24**, 23–26. Winterhaven, Fla.
- **Fernandez-Lopez J., Fernandez-Gines J.M., Aleson-Carbonell L., Sendra E., Sayas-Barbera E., et Alvarez Perez J.A. (2004):** Application of functional citrus by-products to meat products-Trends in Food Science & Technology 15 -176–185.
- **Fooks L.J., Gibson G.R. (2002):** Probiotics as modulators of the gut flora-Br J Nutr. 2002 Sep;88 Suppl 1:S39-49. Food Microbial Sciences Unit, School of Food Biosciences, The University of Reading, Whiteknights, RG6 6AP, UK.
- **Franck A. (2002):** Technological functionality of inulin and oligofructose
- **García-Ochao F., et Casas J.A. (1992):** Viscosity of locust bean (*Ceratonia siliqua*) gum solutions. *J. Sci. Food Agri.* 59: 97- 100.
- **Gaouar N. (2011):** Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés Algériennes, thèse magister, Tlemcen, Algérie.
- **Gershwin M.E., et Schiffrin E. (2002):** Probiotics and immunity. Introduction." *Clin Rev Allergy Immunol* 22(3): 205-6.

- **Gibson G.R., et Roberfroid M.B. (1995):** Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*125(6): 1401-12.
- **Gill H.S. (1998):** Stimulation of the Immune System by Lactic Cultures." International Dairy Journal 8(5-6): 535-544.
- **Gill H.S., Rutherford K.J., et al. (2000):** Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Br J Nutr*83(2): 167-76.
- **Goktepe I., Juneja V.K., et Ahmedna M. (2006):** Probiotics in food safety and human health. Boca Raton, FL: *Taylor and Francis group*.
- **Goldin B.R., Gorbach S.L., Saxelin M., Barakat S., Gualtieri L., et Salminen S. (1992):** Survival of *Lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract. *Dig. Dis. Sci*.
- **Goldin L.R., Nurnberger J.L. et Gershon E. S. (1986):** Clinical methods in psychiatric genetics. II. The high risk approach. *Acta Psychiatrica Scandinavica*.
- **Gomes A.M.P., et Malcata F.X. (1999):** *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science and Technology* **10** 39–157.
- **Gopal A., Shah N. P., et Roginski H. (1996):** Bile tolerance, taurocholate deconjugation and cholesterol removal by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Milchwissenschaft.*, 51 pp : 619-623.
- **Gregory J., Foster K., Tyler H., et Wiseman M. (1990):** The dietary and nutritional study of british adults. HMSO. London, England.
- **Grizard D., Barthelemy C. (1999):** Non-digestible oligosaccharides used as prebiotic agents: mode of production and beneficial effects on animal and human health. Sep-Dec;39(5-6):563-88.Laboratoire de pharmacognosie et de biotechnologies, UFR de pharmacie, Clermont-Ferrand, France.
- **Guillon F., et Champ M. (2000):** Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Research and Technology*, 33, 233–245.
- **Guiraud J. P., et Rosec J.P. (2004):** Pratique des normes en microbiologie alimentaire, *Dunod, Paris* : 238-245.
- **Guarner F., Khan A., Garisch J., Eliakim R., et Gangl A. (2008):** Recommendation

Pratique : Probiotique et prébiotiques. *Organisation mondiale de Gastroentérologie.*

- **Gurr J.R., Liu F., Lynn S., et Jan K.Y. (1998):** Calcium-dependent nitric oxide production is involved in arsenite-induced micronuclei. *Mutat. Res.*
- **Habibi Y. (2004):** thèse de doctorat (Contribution à l'étude morphologique, ultra-structurale et chimique de la figue de barbarie, les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modification chimique) université joseph fourier-grenoble 1.
- **Hao W., et Lee Y.K. (2004):** Microflora of the gastrointestinal tract: A Review, *in* Public Health Microbiology: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology).
- **Haralampu S.G. (2000):** Resistant starch - a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers*, 41 (3), 285-292.
- **Harris P.J., et Ferguson L.R. (1999):** Dietary fibres may protect or enhance carcinogenesis, *Mutat. Res./Gen. Tox. and Env. Mut.* July; **443** (1-2): 95-11
- **Hatfield R., et Vermerris W. (2001):** Lignin Formation in Plants. The Dilemma of Linkage Specificity.
- **Hayakawa T., Yamashita K., Kishi J., et Harigaya K. (1990):** Tissue inhibitor of metalloproteinases from human bone marrow stromal cell line KM102 has erythroid-potentiating activity, suggesting its possibly bifunctional role in the hematopoietic microenvironment. *FEBS Lett.*
- **Hebuterne X. (2002):** Gut changes attributed to ageing: effects on intestinal microflora. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* **6**(1):49-54. Review.
- **Henneberg W., Stohmann F. (1860):** Beiträge zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer I, Braunschweig.
- **Hill J.O., Peters J.C. (2002):** Biomarkers and functional foods for obesity and diabetes. *Br J Nutr* 88(2):213–8.
- **Hoebler C. :** Les différentes méthodes de dosage des fibres alimentaires, Laboratoire de Technologie des Aliments des Animaux INRA – NANTES.
- **Hoebregs H. (1997):** Fructans in foods and food products, ion-exchange chromatographic method: collaborative study. *J AOAC Int* 80:1029-1037.
- **Holloway W.D., et Greig R.I., (1984):** Water holding capacity of hemicelluloses from fruits, vegetables and wheat bran. *J. food Sci.*, 49: 1632-1633.
- **Holloway L., Moynihan S., Abrams S.A., et al (2007):** Effects of oligofructose-enriched inulin on intestinal absorption of calcium and magnesium and bone turnover markers in postmenopausal women. *Br J Nutr*; **97**: 365 – 372.

- **Holzappel W.H., Haberer P., Snel J., Schillinger U., et Huis in't Veld J.H.J. (1998):** Overview of gut flora and probiotics. *Intl. J. Food Microbiol.*
- **Hooper L.V., Gordon J.I. (2001):** Commensal Host-Bacterial Relationships in the Gut
- **Hopkins M.J., Cummings J.H., Mcfarlane G.T. (1998):** Inter-species differences in maximum specific growth rates and cell yields of bifidobacteria cultured on oligosaccharides and other simple carbohydrate sources. *J. Appl. Microb.* 85:381-386.
- **Hopkins M.J., et Macfarlane G.T. (2002):** Changes in predominant bacterial populations in human faeces with age and with *Clostridium difficile* infection. *J Med Microbiol.*
- **Horvath P.J. (1984):** The measurement of dietary fibre and the effects of fermentation (PhD thesis). Ithaca, NY: Cornell University.
- **Ishibashi N., et Shimamura S. (1993):** Bifidobacteria: Research and development in Japan. *Food Technol.* 47: 126, 129-130, 132-134.
- **Ishikawa F., Takayama H., Suguri T., Matsumoto K., Ito M., Chonana O., Deguchi Y., Kikuci H., et Watanuki M. (1995):** Effects of b-1,4-linked oligosaccharides on human fecal microflora. *Bifidus*, 9, 5–18.
- **Isolauri E., Kirjavainen P.V., Salminen S. (2002):** Probiotics—a role in the treatment of intestinal infection and inflammation?
- **Isolauri E., Rautava S., Kalliomäki M., et al. (2002):** Role of probiotics in food hypersensitivity. *Curr Opin Immunol Clin Allergol.*
- **Iyer R., et Tomar T. (2010):** Streptococcus thermophilus strains: Multifunctional lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 20 pp :133.
- **Iyer R., Tomar S.K., et Kapila S. (2010):** Probiotic properties of folate producing Streptococcus thermophilus strains. *Food Research International*, 43 pp:103–110.
- **Izquierdo E. (2009):** Les protéines bactériennes entant que biomarqueurs de l'activité probiotique. Thèse de Doctorat, Université de Strasbourg : 8-141.
- **Jang Y., Lee J.H., Kim O.Y., Park H.Y., et Lee S.Y. (2001):** Consumption of whole grain and legume powder reduces insulin demand, lipid peroxidation, and plasma homocysteine concentrations in patients with coronary artery disease: randomized controlled clinical trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 2065-2071.
- **Jarrige R. (1970):** Méthodes de prévision de la valeur alimentaire- Station de Recherches sur l'élevage des Ruminants, I.N.R.A., C.R.z.V. de Theix (63).

- **Jarrige R., Grenet E., Demarquilly C., Besle J.M. (1995):** Les constituants de l'appareil végétal des plantes fourragères. In : "Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion". Eds. Jarrige R *et al*, INRA, Paris. 25-81.
- **Jie Z., Bang-Yao L., Ming-Jie X., et al (2000):** Studies on the effects of polydextrose intake on physiologic functions in Chinese people. *Am J Clin Nutr*; **72**: 1503 – 1509.
- **Jones J.M. (2000b):** Update on defining dietary fiber. *Cereal Foods World* **45**, 219–220.
- **Joseleau J.P. (1980):** Les hémicelluloses. In : Les polymères végétaux. B. Monties. Ed. Gauthier-Villars, 87-121.
- **Jyoti B.D., Suresh A.K., Venkatesh K.V. (2004):** Effect of preculturing conditions on growth of *Lactobacillus rhamnosus* on medium containing glucose and citrate. *Microbiological Research* **159**, 35–42.
- **Kaaks R. (1994):** Dietary fibre and colon cancer. *Path Biol* **42**: 1091-1092.
- **Kathleen M., M.S. (1996):** Dietary Fiber (A Report by the American Council on Science and Health (ACSH)).
- **Katz L.A., Maher E., Horvath P.J. (1987):** Primary prevention of gastrointestinal diseases. *J Clin Gastroenterol*; **9**: 12-22.
- **Keenan M.J., Zhou J., Mccutcheon K.L., Raggio A.M., Bateman H.G., Todd E., Jones C.K., Tulley R.T., Melton S., Martin R.J., Hegsted M. (2006):** Effects of resistant starch, a non-digestible fermentable fiber, on reducing body fat. *Obesity* **14**:1523–34.
- **Key T.J., et Spencer E.A. (2007):** Carbohydrates and cancer: an overview of the epidemiological evidence. *Eur J Clin Nutr* **61 Suppl 1**: S112-121.
- **Kim E.R., Lee K.W., Park Y.H. et Kwak H.S. (1993):** The study of lactic acid bacteria in yoghurt during delivery and storage. *Korean Journal of Dairy Science*, **14**, 260–263.
- **Klaenhammer T., Altermann E., Arigoni F., Bolotin A. et Breidt F. (2002):** Discovering lactic acid bacteria by genomics, Antonie Van Leeuwenhoek, *Int. J. Gen. Mol. Microbiol.*, **82** pp: 29–58.
- **Klaver F.A.M., Kingma F., et Weerkamp A.H. (1993):** Growth and survival of bifidobacteria in milk. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, **47**, 151–164.
- **Kneifel W., Jaros D., et Erhard F. (1993):** Microflora and acidification properties of

yoghurt and yoghurt-related products fermented with commercially available starter cultures. *International Journal of Food Microbiology* **18** 179–189.

- **Kopp-Hoolihan L. (2001):** Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review." *J Am Diet Assoc* **101**(2): 229-38; quiz 239-41.
- **Kunz W.S., Kudin A., Vielhaber S., Elger C.E., Attardi G. et Villani G. (2000):** *J. Biol. Chem.*275, 27741-27745.
- **Kurasawa S., Haack V.S., et Marlett J.A. (2000):** Plant residue and bacteria as bases for increased stool weight accompanying consumption of higher dietary fiber diets. *J Am Coll Nutr* **19**: 426-433.
- **Kuzmanovic K. (2004):** *Process of Extracellular Digestion* . Sydney : University of Sydney, Australie.
- **Lairon D. (1996):** Dietary fibres: effects on lipid metabolism and mechanisms of action. *Eur J Clin Nutr*.
- **Lairon D. (2002):** *Fibres alimentaires, dyslipidemies et atherosclerose - LIVRE DES COMMUNICATIONS 4eme édition*,Unité 476 - INSERM - Nutrition humaine et lipides
- **Lambo A.M., Öste R., et Nyman M.E. (2005):** Dietary fiber in fermented oat and barley  $\beta$ -glucan rich concentrates. *Food Chemistry*. 89. 283-93.
- **Lanciotti R., Gianotti A., Patrignani F., Belletti N., Guerzoni E.M., et F. Gardini. (2004):** Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processed fruits.
- **Lankaputhra W.E., Shah N.P., Britz M.L. (1996):** Survival of bifidobacteria during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. *Milchwissenschaft* 51:65-70.
- **Lankaputhra W.E.V., et Shah N.P. (1996):** A simple method for selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt supplemented with *L. acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* *Milchwissenschaft*.
- **Laroia S., et Martin J.H. (1991):** Effect on pH on survival of Bifidobacterium bifidum and Lactobacillus acidophilus in frozen fermented dairy desserts. *Culture Dairy Production Journal*, 26, 13–21.
- **Larrauri J.A., Ruperez P., Saura Calixto F. (1996):** Antioxidant activity of wine pomace. *Am. J.Enol. Vitic.*
- **Launay B., Doublier J.L., et Cuvelier G. (1986):** Flow properties of aqueous solutions and dispersions of polysaccharides. Dans *Fonctional properties of*

*macromolécules*; Mitchell J. R. et Ledward D. A., Eds.; Elsevier applied science: Londres; pp 1-77.

- **Leahy S.C., Higgins D.G., Fitzgerald G.F., et Van Sinderen D. (2005):** Getting better with bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 98 pp: 1303-1315.
- **Leclère C.J., Champ M., Boillot J., Guille G.M., Lecannu G., Molis C., Bornet F., Krempf M., Delort-Laval J., Galmiche J.P. (1994):** role of viscous guar gum in lowering the glycemic response after a solid meal. *Amer J Clin Nutr*,59: 914-921.
- **Lee C.Y., Kagan V., Jawarski A.W., et Brown S.K. (1990):** Enzymatic browning in relation to phenolic compounds and poly-phenol oxidase activity among various peach cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 88, 99±101.
- **Leontowicz M., Gorinstein S., Bartnikowska E., Leontowicz H., Kulasek G. et Trakhtenberg S. (2001):** Sugar beet pulp and apple pomace dietary fibers improve lipid metabolism in rats fed cholesterol. *Food Chemistry*, 72, 73-78.
- **Leveau J.Y., Bouix M. (1993) :** Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel (Coll. Sciences et techniques agroalimentaires)
- **Lilly D.M., et Stillwell R.H. (1965):** Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science* 147: 747-8.
- **Lim K.S., Huh C.S., Baek Y.J., et Kim H.U. (1995):** A selective enumeration medium for bifidobacteria in fermented dairy products. *Journal of Dairy Science*, 78, 2108–2112.
- **Ljungh A., et Wadstrom T. (2006):** Lactic acid bacteria as probiotics. *Curr Issues Intest Microbiol* 7(2): 73-89.
- **Lourens H.A., et Vilijoen B.C. (2001):** Review: yogurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J.* 11:1-17.
- **Macfarlane G.T., et Cummings J.H. (1991):** The colonic flora, fermentation, and large bowel digestive function, p. 51-94. In S. F. Phillips, J. H. Pemberton, and R. G. Shorter (ed.), *The large intestine: physiology, pathophysiology, and disease*. Raven Press,Ltd., New York.
- **Makras L., Van Acker G., et De Vuyst L. (2005):** Lactobacillus casei subsp. casei 8700:2 degrades inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 6531–6537.
- **Marafon A.P., Sumi A., Alcântara M.R., Tamime A.Y., Oliveira M.N. (2011):** Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. *LWT –Food Sci. Technol.*

- **Margoles A., et Garcia L. (2003):** Characterisation of a bifidobacterium strain with acquired resistance to cholate: A preliminary study. *International Journal of Food Microbiology*, 80 pp : 191–198.
- **Mariadason J.M., Barkla D.H., Gibson P.R. (1997):** Effect of short-chain fatty acids on paracellular permeability in Caco-2 intestinal epithelium model. *Am J Physiol*; **272**: G705 – G712.
- **Marlett J.A., et Vollendorf N.W. (1994):** Dietary fiber content and composition of different forms of fruits. *Food Chemistry*, 51, 39-44.
- **Martensson O., Oste R., Holst O. (2002):** The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products- *Food Research International* 35,775–784
- **Martin J.H., et Chou K.M. (1992):** Selection of *Bifidobacterium* spp. for use as dietary adjuncts in cultured dairy foods. I. Tolerance to pH of yoghurt. *Cult. Dairy Prod. J.*, 27(4), 21, 23-26.
- **Martin A. (2001):** *Apports Nutritionnels Conseillés pour la Population Française*. Ed. Tec & Doc Lavoisier. Paris, 3ème édition., cité dans ( *Fibres alimentaires : où en trouver pour satisfaire nos besoins* , Pascale Modai (Médecin nutritionniste ,Médecin conseil de l’Observatoire du pain))
- **Massiot P., et Renard C.M.G.C. (1997):** Composition, physico-chemical properties and enzymatic degradation of fibres prepared from different tissues of apple. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 30, 800-806.
- **Mattila-Sandholm T., Matto J., et Saarela M. (1999):** Lactic acid bacteria with health claims-interactions and interference with gastrointestinal flora. *Int. Dairy J.*, 91: 25-35.
- **Matilla-Sandholm T., Myllärinen P., Crittenden R., Mogensen G., Fondén R., et Saarela M. (2002):** Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12 pp: 173-182..
- **May T., Mackie R.I., Fahey G.C., Cremin J.J.C. et Garleb, K. A. (1994):** Effect of fiber source on short-chain fatty acid production and on the growth and toxin production by *Clostridium difficile*. *Scand. J. Gastroenterol.* 29: 916–922.
- **McCleary B.V. (2003):** Dietary fibre analysis. *Proceedings of the Nutrition Society*,62,1

- **McCracken V.J., et Lorenz R.G. (2001):** The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cell Microbiol* **3**(1):1-11.
- **McDougall G.J., Morrison I.M., Stewart D., et Hillman J.R. (1996):** Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **70**, 133-150.
- **Medina L.M., et Jordano R. (1994):** Survival of constitutive microflora in commercially fermented milk containing bifidobacteria during refrigerated storage. *Journal of Food Protection*, **56**, 731–733.
- **Mee K. A., et Gee D.L. (1997):** Apple fiber and gum arabic lower total and low-density lipoprotein cholesterol levels in men with mild hypercholesterolemia. *Journal of the American Dietetic Association*, **97**, 422-424.
- **Michel F., Thibaut J.F., Barry J.L. et Baynost R. (1988):** Preparation and characterization of dietary fibre from sugar beet pulp. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **42**, 77–85
- **Midtvedt A.C., et Midtvedt T. (1992):** Production of short chain fatty acids by the intestinal microflora during the first 2 years of human life." *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **15**(4): 395-403.
- **Miguel G. N., et Belloso M.O. (1999):** Characterization of dietary fiber from orange juice extraction- Food Technology Department, UTPV-CeRTA, University of Lleida, Rovira Roure 177, 25198 Lleida, Spain.
- **Mikusova L., Sturdik E., Mosovska S., Brindzova L., Mikulajova A. (2009):** Development of new bakery products with high dietary fibre content and antioxidant activity for obesity prevention. In: Proceedings of 4th International Dietary Fibre Conference. Vienna, Austria: Intl. Assoc. for Cereal Science and Technology, 185 p.
- **Mirande C. (2009):** Thèse doctorat( Dégradation des fibres pariétales et système xylanolytique de *Bacteroides xylanisolvens* XB1AT et *Roseburia intestinalis* XB6B4, espèces bactériennes du microbiote intestinal humain), Unité de Microbiologie (UR 454),Centre de Recherche INRA de Clermont-Ferrand/Theix, 18 décembre
- **Mis A. (2011):** Interpretation of mechanical spectra of carob fibre and oat wholemeal-enriched wheat dough using non-linear regression models - Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, ul. Doswiadczalna 4, 20-290 Lublin, Poland
- **Modai P. (2009):** Médecin nutritionniste Médecin conseil de l'Observatoire du pain- : Guide pratique N° 8 Fibres alimentaires : où en trouver pour satisfaire nos besoins ?

- **Mortazavian A.M., Ehsani M.R., Mousavi S.M., Reinheimer J.A., Emamdjomeh Z., Sohrabvandi S., et Rezaei K. (2006):** Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic micro-organisms in freshly made yogurt- *Vol 59, No 1 International Journal of Dairy Technology*
- **Nagengast F. M., Van den Ban G., Ploemen J. P., Leenen R., Zock P. L., Katan M. B., Hectors M. P. C., De Hann A. F. J. et Van Tongeren J. H. M. (1993):** The effect of natural high-fibre diet on fecal and bile acids, faecal pH and whole-gut transit time in man: a controlled study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 47, 631-639.
- **Nebra Y., et Blanch A.R. (1999):** A new selective medium for *Bifidobacterium* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 5173– 5176.
- **Niness K.R. (1999):** Inulin and Oligofructose: What Are They? *J. Nutr.* **129**: 1402S– 1406S.
- **Nugent A.P. (2005):** Health properties of resistant starch
- **O'Hara A.M., et Shanahan F. (2006):** The gut flora as a forgotten organ
- **Okubo T., Ishihara N., Takahashi H., et al (1994):** Effects of partially hydrolyzed guar gum intake on human intestinal microflora and its metabolism. *Biosci Biotechnol Biochem*; **58**: 1364 – 1369.
- **Oliveira R.P.D., Perego P., Converti A., et De Oliveira M. (2009a):** Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with *Streptococcus thermophilus*. *J. Dairy Sci* **91**:0260-8774.
- **Oliveira R.P.D., Rodrigues F.A.C., Perego P., De Oliveira M.N., Converti A. (2011):** Use of lactulose as prebiotic and its influence on the growth, acidification profile and viable counts of different probiotics in fermented skim milk - *International Journal of Food Microbiology* 145 22–2.
- **Oliveira R.P.D., Perego P., De Oliveira M.N., Converti A. (2011):** Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk - *LWT - Food Science and Technology* 44 520e523.
- **Oliveira R.P.D., Perego P., de Oliveira M.N., Converti A. (2011):** Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness-*Journal of Food Engineering* 107 - 36–40.
- **Oliveira R.P.;D., Perego P., de Oliveira M.N., Converti A. (2012):** Effect of inulin on the growth and metabolism of a probiotic strain of *Lactobacillus rhamnosus* in co-culture with *Streptococcus thermophilus* - *Food Science and Technology* 47 -358e363

- **Ouwehand A.C., Salminen S., et al. (2002):** Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek* **82**(1-4): 279-89.
- **Ouwehand A.C., et Vesterlund S. (2003):** Health aspects of probiotics and drugs. Thèse doctorat. Université Laval. Québec., 6 pp :573-580.
- **Ozer D., Akin S., Ozer B. (2005):** Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in acidophilus–bifidus yogurt. *Food Sci. Technol. Int.* **11** (1), 19–24.
- **Parker R. (1974):** Probiotic: the other half of the antibiotic story." *Anim Nutr Health* **29**: 4-8.
- **Pasman W., Wils D., Saniez M.H., et al (2006):** Long term gastrointestinal tolerance of NUTRIOSE-FB in healthy men. *Eur J Clin Nutr*; **60**: 1024 – 1034.
- **Pereira M.A., Ludwig D.S. (2001):** Dietary fiber and body weight regulation: observations and mechanisms. *Pediatr Clin Nor Am* **48**:969–80.
- **Perrin P. (1996).** Thèse de doctorat (Modulation du phénotype de cellules cancéreuses coliques chez le rat par le butyrate de sodium: application à l'immunothérapie et à la prévention du cancer du côlon), UFR de médecine et techniques médicales, Université de Nantes ; le 27 juin.
- **Perrin P., Pierre F., Patry Y., Champ M., Berreur M., Pradal G., Bornet F., Meflah K., Menanteua J. (1996):** Only fibers promoting a stable butyrate-producing colonic ecosystem decrease the rate of aberrant crypt foci in rats.
- **Perrin S., Warchol M., Grill J. P., et Schneider F. (2001):** Fermentations of fructooligosaccharides and their components by *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697 on batch culture in semi-synthetic medium. *Journal of Applied Microbiology*,
- **Pool-Zobel B.L., Van Loo J., Rowland I.R., et Roberfroid M.B. (2002):** Experimental evidences on the potential of prebiotic fructans to reduce the risk of colon cancer. *Br J Nutr*
- **Pool-Zobel B.L., Selvaraju V., Sauer J., Kautenburger T., Kiefer J., Richter K.K., Soom M., Wolf S. (2005):** Butyrate may enhance toxicological defence in primary, adenoma and tumor human colon cells by favourably modulating expression of glutathione S-transferases genes, an approach in nutrigenomics. *Carcinogenesis*.
- **Pratt V.C., Tappenden K.A., McBurney M.I., et al (1996):** Short-chain fatty acid-supplemented total parenteral nutrition improves nonspecific immunity after intestinal resection in rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*; **20**: 264 – 271.

- **Primo Y.E. (1979):** QuõÃmica agrõÃcola. Alhambra, Madrid, Spain.
- **Prioult G. (2003):** Effet des probiotiques sur l'induction et le maintien de la tolérance orale à la  $\beta$ -lactoglobuline chez la souris et étude de leurs mécanismes d'action, *Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation*, Université Laval.
- **Prosky L., Asp N.G., Furda I., Debries J.W., Ssheizer T.F., Harland B.F. (1984):** J. Assoc. Off. Anal. Chem., 67, 1044—1052.
- **Prosky L., Asp N.G., Schweizer T.F., DeVries J.W., Furda I. (1992):** Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *Journal of AOAC International*.
- **Puhan Z. et Wielinga M. W., (1996):** Products derived from carob pods with particular emphasis on carob bean gum (CBG). Report Technical Committee of INEC (unpublished).
- **Quemener B., Thibault J.F., et Coussement P. (1994):** Determination of Inulin and Oligofructose in Food Products, and Integration in the AOAC Method for Measurement of Total Dietary Fibre - *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 27, 125-132.
- **Ralet M.C. (1992):** Traitement des parois végétales par cuisson-extrusion. Structure des polysaccharides solubilisés et conséquences sur les propriétés physico-chimiques. Thèse de doctorat, Université de Nantes, 112 p.
- **Rasic J.L., et Kurmann J.A. (1983):** Microbiological, nutritionalphysiological, medical and technological aspects and bibliography. In J. L. Rasic, & J. A. Kurmann (Eds.), *Bifidobacteria and their role* (pp. 42–50). Basel, Switzerland: Birkha` user-Verlag-Basel.
- **Rastall R., Maitin V. (2002):** Prebiotics and synbiotics: towards the next generation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 13, 490–496.
- **Rastall R.A. (2004):** Bacteria in the gut: Friends and foes and how to alter the balance. *J. of Nutr. Québec.* 134 pp : 2022-2026.
- **Renard C.M.G.C., et Thibault J.F. (1991):** Composition and physico-chemical properties of apple fibres from fresh fruit and industrial by-products. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 24, 523-527.
- **Renard C.M.G.C., et Thibault J.F. (1993):** Structure and properties of apple and sugar-beet pectins extracted by chelating agents. *Carbohydrate Research*, 244, 99-114.

- **Renard C.M.G.C., Crepeau M.J., et Thibault J.F. (1995):** Structure of the repeating units in the rhamnolacturonic backbone of apple, beet and citrus pectins. *Carbohydrate Research*, 275,155-165.
- **Renard C.M.G.C. (2005b):** Variability in cell wall preparations: quantification and comparison of common methods. *Carbohydrate Polymers*, 60, 515-522.
- **Rerat A. (1956):** Annales de zootechnie : Méthodes de dosage des glucides en vue du calcul de leur valeur énergétique (1) - Laboratoire de Biochimie de la Nutrition
- **Rimm E.B., Ascherio A., Giovannucci E., et al. (1996):** Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *J Am Med Ass*, 275 : 447-451.87.
- **Rinaudo M. (1980):** Structure et caractérisation des principaux constituants des fibres alimentaires. *Ann. Nutr. Aliment.*, , 34, 57-76.
- **Roberfroid M.B. (1997):** Health benefits of non-digestible oligosaccharides. *Adv Exp Med Biol*. 1997;427:211-9. Review.
- **Roberfroid M.B., Van Loo J., et Gibson G.R. (1998):** The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nut.*; 128: 11-19.
- **Roberfroid M.B. (2001):** Functional foods: concepts and strategy.*J Pharm Belg*. 2001 Mar-Apr;56(2):43-4. Review. French.
- **Roberfroid M.B. (2001):** Prebiotics: preferential substrates for specific germs? *Am J Clin Nutr*. Feb;73(2 Suppl):406S-409S. Review.
- **Roberfroid M.B. (2005):** Introducing inulin-type fructans-Université Catholique de Louvain, 7A rue du Rondia, B-1348, Louvain-La-Neuve, Belgium *British Journal of Nutrition*.
- **Roberfroid M.B. (2007):** Prebiotics: the concept revisited. *J Nutr* 137: 830S-837S.
- **Roberfroid M.B. (2007):** Inulin-type fructans: functional food ingredients. *J Nutr* 137: 2493S-2502S.
- **Robertson J.A., De Monredon F.D., Dyssele P., Guillon F., Amado R., et Thibault J.F. (2000):** Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 33, 72-79.
- **Rodionova N.A., Kaprelyants L.V., Serednitskii P.V., et Kilimnik A.Y. (1992):** Hemicelluloses of cereal grains and their enzyme catalysts. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 28 (5), 485-501.
- **Rouau X., et Thibault J.F. (1987):** *Les Fibres Alimentaires*. Paris: APRIA.

- **Ruth M., Paulina T., Miguel A.M., Jorge G.F., José A.P.Á., Manuel V.M. (2012):** Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate.
- **Rybka S., et Fleet G.H. (1997):** Populations of *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* species in Australian yogurts. *Food Australia*. **49** (10): 471-475.
- **Rybka S., et Fleet G.H. (1997):** Populations of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* species in Australian yoghurts. *Food Australia*, 49, 471– 475.
- **Saarela M., Lahteenmaki L., Crittenden R., Salminen S. et Mattila S.T. (2000):** Gut bacteria and health foods: the European perspective. *Int. J. Food Micr.*, 78 pp: 99-117.
- **Sakai K., Mishima C., Tachiki T., Kumagai H., et Tochikura T. (1987):** Mortality of bifidobacteria in boiled yoghurt. *Journal of Fermented Technique*, 65, 215–220.
- **Salunkhe D.K., Bolin H.R., et Reddy N.R. (1991):** Storage, Processing, and Nutritional Quality of Fruits and Vegetables. Vol. I. Fresh Fruits and Vegetables. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 147±162.
- **Samona A., Robinson R.K., et Marakis S. (1996):** Acid production by bifidobacteria and yoghurt bacteria during fermentation and storage of milk. *Food Microbiology*, **13**, 275–280.
- **Sanders M.E., Huisin't V.J.H.J. (1999):** Bringing a probiotic containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Antonie Leeuwenhoek*.
- **Sander M. (2001):** Lactic acid bacteria and human health. *Dairy and Food Cul. Tec. USA*, 73 pp:361-364.
- **Sanderson M.A., Skinner R.H., Barker D.J, Edwards G.R, Tracy B.F, Wedin D.A. (2004):** Plant species diversity and management of temperate forage and grazing land ecosystems-Crop Sci., 44 pp. 1132–1144.
- **Sanderson I.R. (2004):** Short chain fatty acid regulation of signaling genes expressed by the intestinal epithelium. *J Nutr*; **134**: 2450S – 2454S.
- **Santé Canada. (2010):** Politique proposée : Définition et valeur énergétique des fibres alimentaires-Bureau des sciences de la nutrition ,Direction des aliments, Direction générale des produits de santé et des aliments.

- **Santo A.P.E., Silva R.C., Soares F.A.S.M., Anjos D., Gioielli L.A., Oliveira M.N. (2010):** Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. *International Dairy Journal*.
- **Santo A.P.E., Nathalie S.C., Thaiane F.S., Soares F.A.S.M., Gioielli L.A., Perego P., Converti A., Oliveira M.N. (2012):** Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts - *International Journal of Food Microbiology* 154 135–144.
- **Santo .A.P.E., Perego P., Converti A., Oliveira M.N. (2012):** Influence of milk type and addition of passion fruit peel powder on fermentation kinetics, texture profile and bacterial viability in probiotic yoghurts-LWT - *Food Science and Technology* 47 393e399
- **Saxelin M., Grenov B., Svensson R., Fonden R., Reniero R., et Mattila S. (1999):** The technology of probiotics. *Trends Food Sci. Technol.* 10 :387-392.
- **Schieber A., Stintzing F.C., et Carle R. (2001):** By-products of plant food processing as a source of functional compounds - recent developments. *Trends in Food Science and Technology*.
- **Schiffrin E.J., et Blum S. (2002):** Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. *Eur J Clin Nutr* **56 Suppl 3**: S60-4.
- **Schulze J., Zunft H.J. (1991):** Lactose--a potential dietary fiber. The regulation of its microecologic effect in the intestinal tract. 3. Dietary fiber actions of lactose due to microbial activity, *Nahrung*.
- **Sendra E., Patricia F., Yolanda L., Juana F.L., Estrella S.B., Jose A.P.A. (2008):** Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria- *Food Microbiology* 25 (2008) 13–21.
- **Seyer M.E. (2005):** Les fibres alimentaires et le pain de blé entier -Université Laval, QUÉBEC , Octobre
- **Shah N.P., Lankaputhra W.E.V., Britz M.L., et Kyle W.S.A. (1994):** Survival of *L. acidophilus* and *B. bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. *International Dairy Journal* **5** 515–521.
- **Shah N.F., Lankaputhra W.E.V., Britz M.L., Kyle W.S.A. (1995):** survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage *Int,Dairy J.*
- **Shah N.P. (1997):** *Bifidobacteria*: characteristics and potential for application in fermented milk products. *Milchwissenschaft*.

- **Shah N.P., et Jelen P. (1990):** Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. *Journal of Food Science*, 55, 506–509.
- **Shah N.P. (2000):** Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. Symposium: Probiotic Bacteria, *J. Dairy Sci.* **83**:894–907.
- **Shah N.P. (2000b):** Some beneficial effects of probiotic bacteria. *Bioscience Microflora*, 19, 99–106.
- **Shah N.P. (2007):** Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal.*, 17(11) pp :60-65.
- **Shankar P., Davies F. (1976):** Associative bacterial growth in yogurt starters: initial observations on stimulatory factors. *J. Soc. Dairy Technol.* 30, 31–32.
- **Sharma A., Yadav B.S., Ritika B. (2008):** Resistant starch: physiological roles and food applications. *Food Rev Int* 24:193–234.
- **Shene C., Bravo S. (2007):** Whey fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* for exopolysaccharide production in continuous culture. *Enzyme and Microbial Technology*.
- **Shihata A., et Shah N.P. (2000):** Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. *Int Dairy Journal.* **10**:401-408.
- **Shin H.S., Lee J.H., Pestka J.J., et Ustunol Z. (2000):** Growth and Viability of Commercial *Bifidobacterium* spp in Skim Milk Containing Oligosaccharides and Inulin- Vol. 65, No. 5 - Institute of Food Technologists - JFS: Food Microbiology and Safety
- **Shin H.S., Lee J.H., Pestka J., Ustunol Z. (2000):** Viability of bifidobacteria in commercial dairy products during refrigerated storage. *J. Food Prot.* 63:327-331.
- **Siavoshian S., Segain J.P., Kornprobst M., Bonnet C., Cherbut C., Galmiche J.P., et Blottiere H.M. (2000):** Butyrate and trichostatin A effects on the proliferation/differentiation of human intestinal epithelial cells: induction of cyclin D3 and p21 expression. *Gut* **46**: 507-514.
- **Sillanpaa J. (2001):** Tissue-adherence in lactic acid bacteria: Identification and characterization of the collagen-binding S-Layer protein of *Lactobacillus crispatus*. Academic Dissertation in General Microbiology. Faculty of Science of the University of Helsinki. Finland.
- **Slavin J.L., Savarino V., Paredes-Diaz A., et Fotopoulos G. (2009):** A Review of the Role of Soluble Fiber in Health with Specific Reference to Wheat Dextrin -The *Journal of International Medical Research*, 37: 1 – 17.

- **Singh J., Khanna A., Chandar H. (1980):** Effect of incubation temperature and heat treatments of milk from milk of cow and buffalo on acid and flavour production by *St. termophilus* and *L. bulgaricus*. *J. Food Prot.* 43, 399–400.
- **Sodini I., Lucas A., Oliveira M.N., Remeuf F., et Corrieu G. (2002):** Effects of milk base and starter culture on acidification, texture, and probiotic cell counts in fermented milk processing. *J. Dairy Sci.* **85**:2479-2488.
- **Sonnenburg J.L., Xu J., et al. (2005):** Glycan foraging in vivo by an intestine-adapted bacterial symbiont. *Science* **307**(5717): 1955-9.
- **Souza G. (1991) :** Fatores de Qualidade do Iogurte. Coletanea do Instituto de Tecnologia de Alimentos (Campinas, Brazil).
- **Spanhaak S., Havenaar R., et Schaafsma G. (1998):** The effect of consumption of milk fermented by *Lacto-bacillus casei* strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *Europ. J. Clin. Nutr.*
- **Spiegle J.E., Rose R., Karabell P., Frankos V.H. et Schmitt D.F. (1994):** Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. *Food Technol.*, **1**, 85-94.
- **Spurling C.C., Suhl J.A., Boucher N., Nelson C.E., Rosenberg D.W., et Giardina C. (2008):** The short chain fatty acid butyrate induces promoter demethylation and reactivation of RARbeta in colon cancer cells. *Nutr Cancer* **60**: 692-702.
- **Stark A., Madar Z. (1994):** chapter 9: Dietary fiber. IN:Goldberg I. functional foods. Designer foods, pharmafoods, nutraceuticals. Chapman and Hall, New York, 183-201
- **Steinmetz K.A., Potter J.D. (1991):** Review: Vegetable, fruit and cancer. 2. Mechanisms. *Cancer Causes and Control* 2: 427-442.
- **Sykes G., Skinner F.A. (1973):** Techniques for the isolation and characterization of *Actinomyces* and *Bifidobacterium* species, report of a panel discussion. *Appl. Bacteriol. Symp.* Ser. No. 2. Academic Press, New York, pp. 327–333.
- **Tahiri M., Tressol J.C., Arnaud J. (2001):** Five-week intake of short-chain fructo-oligosaccharides increases intestinal absorption and status of magnesium in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*; **16**: 2152 – 2160.
- **Talwalkar A., et Kailasapathy K. (2004):** A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: Influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 117–124.
- **Tamboli C.P., Caucheteux C., et al. (2003):** Probiotics in inflammatory bowel disease: a critical review. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*

- **Tamime A.Y., Marshall V.M.E., Robinson R.K. (1995):** Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *J. Dairy Res.* 62:151-187.
- **Tamime A.Y., et Robinson R.K. (1999):** *Yoghurt Science and Technology.* Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC, pp 11–129.
- **Tanaka R., Takayama H., Mortomi M., Kuroshima T., Ueyama S., Matsumoto K., Kuroda A., et Mutai M. (1983):** Effects of administration of TOS and *Bifidobacterium breve* 4006 on the human fecal flora. *Bifidobacteria Microflora*, 2, 17–24.
- **Tapsell L.C. (2004):** Diet and metabolic syndrome: where does resistant starch fit in? *J Assoc Anal Chem Int* 87(3):756–60.
- **Terzaghi B.E., et Sandine W.E. (1975):** Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Appl. Microbiol.* **29**, 807-813.
- **Thibault J.F. (1979) :** Automatisation du dosage des substances pectiques par la méthode au méthahydroxydiphényl. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 12, 247-251.
- **Thibault J.F., Della V.G., et Ralet, M.C. (1988):** Produits riches en parois végétales à fraction hydrosoluble accrue, leur obtention, leur utilisation et compositions les contenant, Brevet français No 88-11601. 1988.
- **Thibault J.F., Lahaye M., et Guillon F. (1992):** Physicochemical properties of food plant cell walls. In T. F. Schweizer, & C. Edwards, *Dietary fibre, a component of food. Nutritional function in health and disease.* ILSI Europe (pp. 21±39). Berlin: Springer verlag.
- **Thebaudin J.Y., Lefebvre A.C., Harrington M.E. et Bourgeois C.M. (1997):** Dietary fibres: nutritional and technological interest. *Trends in Food Science and Technology.*
- **Topping K.V., Roller R., Brozo C., Lourdes W., Dionsiso M. (2003):** Policy and Practice implication of PISA 2000:Report of the PISA Task force to the International Reading Association Board of Directors .International Reading Association.
- **Tortuero F., Fernandez E., Ruperez P., et al. (1997):** Raffinose and lactic acid bacteria influence caecal fermentation and serum cholesterol in rats. *Nutr Res*
- **Tournié J.M.O. (2006):** Thèse doctorat : Méta-analyse des effets de l'oligofructose et de l'inuline sur le risque de cancer colorectal dans deux modèles murins : rats traités par un carcinogène et souris Min l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

- **Trowell H.C., Southgate D.A.T., Wolever T.M.S., Leeds A.R., Gassull M.A. et Jenkins D.J.A. (1976):** Dietary fiber redefined. *Lancet*, I, 967.
- **Tredez M.L.H. (2008):** Méta-analyse des effets protecteurs des probiotiques sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs *l'Université Paul-Sabatier de Toulouse-these doctorat vétérinaire.*
- **Tungland B.C., Meyer D. (2002):** Nondigestible Oligo- and Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food.
- **Touhy K.M., Probert H.M., Smejkal C.W., Gibson G.R., (2003):** Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug Discovery Today.*
- **Tuohy K.M., Rouzaud G.C., et al. (2005):** Modulation of the human gut microflora towards improved health using prebiotics--assessment of efficacy. *Curr Pharm Des*
- **Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V., Mardis E.R., et Gordon J.I. (2006):** An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest.
- **Ustunol Z., et Gandhi H. (2001):** Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp in honey-sweetened skim milk. *J. Food Prot.* 64(11): 1775-1779.
- **Valencia Vergara N., Pereza E.G., Acevedo E.A., Tovar J., Rualesc J., Pereza L.A.B. (2007):** Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient.
- **Van Craeyveld V., Swennen K., Dornez E., et al. (2008):** Structurally different wheat-derived arabinoxylooligosaccharides have different prebiotic and fermentation properties in rats. *J Nutr* 138: 2348-2355.
- **Van loo J., Coussement P., Deleenheer L. et al. (1995):** On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.;* 35: 525–552
- **Varga L., Szigeti J., Gyenis B. (2006):** Influence of chicory inulin on the survival of microbiota of a probiotic fermented milk during refrigerated storage. (2006). *Ann. Microbiol.* 56 (2), 139–141.
- **Varnam A.H., et Sutherland J.P. (1994):** *Milk and Milk Products.* pp 346–380. London, UK: Chapman & Hall.
- **Vasiljevic T., Shah N.P. (2008):** Probiotics—from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal* 18, 714–728.

- **Verghese M; Rao D.R., Chawan C.B. et al. (2002):** Dietary Inulin Suppresses Azoxymethane-Induced Aberrant Crypt Foci and Colon Tumors at the Promotion Stage in Young Fisher 344 Rats *J. Nutr.*; **132**: 2809–2813.
- **Vermorel M., Coudray C., Wils D., et al (2004):** Energy value of a low-digestible carbohydrate, NUTRIOSE®FB, and its impact on magnesium, calcium, and zinc apparent absorption and retention in healthy young men. *Eur J Nutr*; **43**: 344 – 352.
- **Vikse R., Mjelva B.B., et Klungsoyr L. (1992):** Reversible binding of the cooked food mutagen Mel2X 3,8-dimethyl-3H-imidazo (4,5-f) quinoxaline-2-amine to lignin enriched preparations from wheat bran. *Food and Chemical Toxicology*, 30, 239-246.
- **Villaluenga M.C., Frias J., Gomez R., Vidal-Valverde C. (2006):** Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage. *Int. Dairy J.* 16 (7), 768–774.
- **Villaluenga M.C., Gomez R. (2007):** Characterization of bifidobacteria as starters in fermented milk containing raffinose family of oligosaccharides from lupin as prebiotic, *International Dairy Journal* 17 – 116 –122.
- **Vincken J.P., Schols H.A., Oomen R.J.F.J., McCann M.C., Ulvskov P., Voragen A.G.J. et Visser R.G.F. (2003):** If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology*, 132, 1781-1789.
- **Vinderola C.G., et Reinheimer J.A. (1999):** Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *Int. Dairy J.*, 9(8), 497-505.
- **Vinderola C.G., Bailo N., et Reinheimer, J. A. (2000):** Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigeration storage. *Food Research International*, 33, 97–102.
- **Vinderola C.G., Costa G.A., et Regenhardt S. (2002):** Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *Int.Dairy J.*
- **Voragen A.G.J., Schols H.A., et Pilnik W. (1986):** Structural features of the hemicellulosic polymers of apples. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 183, 105-110.
- **Voragen A.G.J., Thibault J.F., Axelos M.A.V., Renard C.M.G.C. et Pilnik W. (1995):** Pectins. Dans *Food polysaccharides and their applications*; Stephen A. M., Ed.:

New-York; pp 287- 339.

- **Vorland L.H., Ulvatne H., et al. (1998):** Lactoferricin of bovine origin is more active than lactoferricins of human, murine and caprine origin." Scand J Infect Dis
- **Vos A.P., M'Rabet L., Stahl B., Boehm G., et Garsen J. (2007):** Immuno-modulatory effects and potential working mechanisms of orally applied nondigestible carbohydrates. *Crit Rev Immunol* **27**: 97-140.
- **Walter R. (1999):** Alimentation du cheval 2<sup>ème</sup> édition, edi France agricole page 95
- **Watzl B., Girrback S., et Roller M., (2005):** Inulin, Oligofructose and immunomodulation. *British Journal of Nutrition*
- **Whistler. (1973):** Solubility of polysaccharides and their behavior in solution. *Advances in Chemistry Series*, 117, 242-254.
- **Willats W.G.T., McCarthy L., Mackie W., Knox J.P. (2001):** plant *Mol.Biol*, 47(1-2),9-27
- **Wursch P. (2012):** Influence of Tannin-Rich Carob Pod Fiber on the Cholesterol Metabolism in the Rat -*Research Department, Nestle Products Technical Assistance Co., Ltd., 1000 Lausanne, Switzerland JRN OF NUTR*
- **Xu B., Wang Y., Li J., et Lin Q. (2008):** Effect of prebiotic xylooligosaccharides on growth performances and digestive enzyme activities of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Fish Physiol Biochem*.
- **Yanahira S., Morita M., Aoe S., Suguri T., Takada Y., Miura S., et Nakijima I. (1995):** Effects of lactitol-oligosaccharides on the intestinal microflora in rats. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*, 41, 83–94.
- **Yousif A. K., et Alghzawi H.M. (2000):** Processing and characterization of carob powder. *Food Chemistry*.
- **Yuan G.C., Liu Y.J., Dion M.F., Slack M.D., Wu L.F., Altschuler S.J., Rando O.J. (2005):** Genome-scale identification of nucleosome positions in *S. cerevisiae*. *Science*.
- **Yuting W. (2010):** These : (Optimized extraction of soluble defatted rice bran fibre and application for microencapsulation of fish oil) University and Agricultural and Mechanical College -B.S., Tianjin University, 2008 -B.S., Nankai University, 2008.
- **Ziar H. (2007):** Effet prébiotique du miel sur les aptitudes fermentaires de quelques souches de bifidobactéries sur milieu lait. *Mag. Hyg.Sécur.AgroAlm. L'univ. Mosta*
- **Zoetendal E.G., Collier C.T., et al. (2004):** Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: a review." J Nutr

- **Zunft H.J., Lueder W., Koebnick C., Imhof D., et Meuser F. (2004):** Reduction of postprandial glucose and insulin response in serum of healthy subjects by an arabinoxylan concentrate isolated from wheat starch plant process water. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13(Supp. 1), S147.

## **Résumé :**

Cette étude vise l'exploration des effets des fibres de pulpe de gousses de caroube *Ceratonia siliqua* (L.), extraites par une méthode hydro-thermique, sur la cinétique de croissance et d'acidification des starters du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*) en coculture dans le lait écrémé à 10% (P/V) avec une souche bénéfique à la fois (*Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* Bb12 ou *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS), ainsi que sur la viabilité post-fermentaire de ces souches et la post-acidification du yaourt entreposé 28 jours à 4°C.

Les résultats obtenus montrent que le taux d'amélioration de la croissance des souches bénéfiques par les fibres atteint 11.94% pour *L. rhamnosus* et 7.98% pour *B. animalis* subsp. *lactis*; pendant que celui des starters du yaourt est de 10.93% pour les streptocoques et de 24.66% pour les lactobacilles. La présence des fibres de caroube ne raccourcit pas le temps de coagulation du lait qui, au contraire, est prolongé de 10 à 20 min selon les souches impliquées dans la fermentation; et ceci malgré le pH acide de ces fibres (pH 5.2).

L'étude de l'effet des fibres de caroube sur la survie des souches au cours des 28 jours d'entreposage à 4°C a montré que les meilleurs taux de survie ont été enregistrés pour les starters; tandis que la viabilité des souches bénéfiques, à l'exception de celle enregistrée après les deux premières semaines, n'est pas améliorée par l'addition de fibres de caroube au lait; elle est, au contraire, très fortement diminuée. La présence de ces fibres dans le lait, donne des pH finaux plus élevés en fin d'entreposage au froid, situés entre 3.72 et 4.15 dans les yaourts contenant *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS et entre 3.66 et 4.00 dans ceux avec *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12, comparés aux pH (3.54 et 3.38) de leurs témoins respectifs.

**Mots clés :** Fibres de caroube – Lait- Fermentation – starters - *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS- *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12.

## **Abstract:**

The aim of the present study is to explore the effects of *Ceratonia siliqua* (L.) carob pod fibers, extracted by an hydro-thermal method, on kinetic of growth and acidification; and also on survival and post-acidifying activity of yogurt starters (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*) in mixed culture with *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS or *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in a 10% (w/v) reconstituted and fermented skimmed milk during four weeks of a refrigerated storage.

The obtained results have shown that carob fibers enhance growth of *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS (+11.94%), *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* (+7.98%), *Streptococcus thermophilus* (10.93%) and *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* (24.66%). In spite of the acidity of the added fiber extract (pH 5.2), the Curdling time of milk was slightly prolonged by 10 to 20 minutes according to the involved strains in fermentation process. The best survival scores registered after 4 weeks of refrigerated storage of yogurts containing carob fibers, were those of the starters; whereas a dramatic decrease in that of beneficial bacteria, except during the two first weeks of storage, was observed. Higher pH values were registered in the presence of carob fibers in yogurts containing *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS (3.72 to 4.15) or *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12 (3.66 to 4.00); comparatively to those of the control ((3.54 et 3.38).

**Keywords:** Carob fibers - Milk – Fermentation- Starters- - *Lactobacillus delbrueckii* ssp *Bulgaricus* LBRE-LSAS – *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* Bb12.