

République Algérienne Démocratique et Populaire



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

جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة



DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

Présenté par

LADDI Zahra

Pour l'obtention du diplôme de

Master en SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité

Thème

**Etude de l'ncapsulation des probiotiques dans des
matrices naturelles à base d'alginate et le mucilage des
graines d'anis**

Soutenu le 30/09/2026

Devant le Jury COMPOSÉ DE :

Présidente	Mme. SISBANE Ismahene	MCB	U. Mostagenm
Encadrant	M. BEKADA Ahmed Med Ali	Professeur	U. Mostaganem
Co-Encadrant	M. BEKADA Med Anas	Doctorant	U. Saida
Examinatrice	Mme. HENNI Nassiba	M.A.A	U. Mostagenm

Année universitaire 2025/2026

Remerciements

Avant toute chose, je tiens à remercier Allah, le Tout-Puissant, de m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail. Je Lui suis reconnaissante de m'avoir permis de surmonter les difficultés rencontrées tout au long de ce parcours.

Je souhaite adresser mes sincères et profonds remerciements à mon encadrant, M. BEKADA Ahmed, Professeur à l'Université de Mostaganem, pour son encadrement, ses conseils précieux, sa rigueur scientifique et sa disponibilité. Son accompagnement et ses orientations ont largement contribué à la réalisation de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont également à mon co-encadrant, M. BEKADA Anas, pour son suivi, sa patience, ses conseils et son soutien tout au long de ce travail. Je lui suis reconnaissante pour son aide et son implication.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à M. Aït Saada, qui m'a accueillie au sein de son laboratoire et m'a permis de réaliser mes expérimentations dans de bonnes conditions. Je le remercie pour son accueil, ses conseils et sa confiance.

Mes vifs remerciements s'adressent aussi à Khawla, doctorante au laboratoire, pour son aide, sa patience et sa disponibilité. Je la remercie sincèrement pour son accompagnement et sa précieuse collaboration durant les travaux pratiques.

Je tiens enfin à remercier Fatima, technicienne du laboratoire, pour son assistance, sa disponibilité et sa gentillesse, qui ont contribué au bon déroulement de mes expérimentations.

À toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire, je vous adresse mes sincères remerciements et ma profonde gratitude.

Dédicace

Louange à Dieu, en premier et en dernier, qui a illuminé mon chemin et m'a donné la force, la patience et la détermination nécessaires pour arriver à ce moment et achever ce modeste travail.

Je dédie le fruit de cet effort:

À mon cher père, mon soutien et mon modèle dans la vie, à celui qui a toujours été une source de sécurité et de force pour moi, et qui a tant donné pour mon bien-être et ma réussite. Merci pour ton amour, ton soutien et tes encouragements constants. Je demande à Dieu de te protéger pour moi et de te garder toujours comme une couronne au-dessus de ma tête.

À ma chère mère, la personne la plus précieuse à mes yeux et ma source d'amour et de tendresse, à celle qui a toujours été à mes côtés par ses prières, ses encouragements et sa tendresse. Quoi que je dise ou que je fasse, je ne pourrai jamais te remercier suffisamment pour tout ce que tu as fait pour moi. Que Dieu te protège, te donne une longue vie, la santé et le bonheur.

À mes chers frères et sœurs, qui ont toujours été une source d'amour, de joie et de soutien pour moi. Merci pour votre présence à mes côtés, et je vous souhaite de tout cœur réussite, bonheur et succès dans votre vie.

À ma chère famille, pour leur amour, leur soutien et leurs encouragements tout au long de mon parcours universitaire. Merci à chacun d'entre vous pour votre présence et votre affection.

À toutes les personnes qui m'ont aidée, encouragée ou soutenue, de près ou de loin, tout au long de mes études.

Et à tous ceux que j'aime et qui occupent une place particulière dans mon cœur, je dédie ce travail avec tout mon amour et ma profonde gratitude.

Table de matière

Introduction.....	02
Chapitre I : Les Probiotiques, Prébiotiques et le Concept Symbiotique	
I Probiotique.....	06
1.1. Historique et évolution du concept.....	06
1.2.Définition des probiotiques.....	06
1.3. Cadre réglementaire (statut GRAS/QPS).....	06
2.Classification de Probiotique.....	07
2.1. Les bactéries lactiques.....	07
2.2. Les bactéries non lactiques.....	07
2.3. Levures probiotiques : genre Saccharomyces.....	07
3. Critères de sélection des probiotiques.....	08
3.1. Identité de la souche.....	09
3.2. Origine et innocuité des souches probiotiques.....	10
3.3. Résistance aux conditions gastro-intestinales (acidité, sels biliaires).....	10
3.4. Capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale.....	10
3.5. Activités antimicrobiennes et compétition avec la flore pathogène.....	10
3.5.1. La compétition pour les sites d'adhésion et les sources nutritionnelles.....	10
3.5.2. Production de composés antimicrobiens.....	10
3.5.3. Effets immunomodulateurs.....	19
4. Effets bénéfiques sur la santé humaine.....	12
4.1. L'équilibre du microbiote intestinal.....	13
4.2. Prévention et traitement des maladies du système digestif.....	13
4.3. Effets métaboliques (cholestérol, glycémie).....	13
4.4. Renforcement de la barrière immunitaire.....	13
5. Les facteurs influençant la viabilité des probiotiques.....	14
5.1. Facteurs intrinsèques (pH, activité de l'eau, interactions microbiennes).....	14
5.2.Facteurs extrinsèques (température, oxygène, procédés technologiques).....	15
5.3. Viabilité lors du transit gastro-intestinal.....	15

5.3.1. Bouche.....	15
5.3.2. L'estomac.....	15
5.3.3. Intestin grêle.....	15
5.3.4. Le côlon.....	16
6. Des prébiotiques aux symbiotiques.....	16
6.1. Définition et classification des prébiotiques.....	16
6.2. Mécanismes d'action prébiotique.....	17
6.3. Le concept synbiotique : définition, types et critères de complémentarité.....	17
6.4. Intérêt des symbiotiques en alimentation fonctionnelle et santé.....	17

Chapitre II : Encapsulation des Probiotiques par l'Alginate et les Mucilages de Graines d'Anis

1. L'encapsulation.....	20
1.1. Historique et définition de l'encapsulation.....	20
1.2. Terminologie : microencapsulation vs nanoencapsulation.....	20
1.3. Intérêt de l'encapsulation	21
2. Méthodes d'encapsulation.....	22
2.1. Le séchage par pulvérisation (Spray Drying).....	22
2.2. Le refroidissement par pulvérisation (Spray Chilling).....	22
2.3. Séchage sur lit fluidisé (fluidized-bed).....	23
2.4. coagulation (simple et complexe).....	23
2.5. Gélification ionique et extrusion.....	23
2.6. Liposomes et émulsification	24
2.7. L'inclusion moléculaire.....	25
2.8. Critères de choix de la méthode selon l'application.....	28
3. Alginate de sodium comme matrice d'encapsulation.....	28
3.1. Source, structure chimique et propriétés physicochimiques.....	28
3.2. Mécanisme de gélification ionique (interaction Ca^{2+} /alginate).....	29
3.3. Propriétés mucoadhésives et comportement gastro-intestinal.....	30
3.4. Applications dans l'encapsulation des probiotiques.....	30
4. Mucilages de graines d'anis vert (<i>Pimpinella anisum</i> L.) comme agent prébiotique et co-matrice.....	31

4.1. Présentation botanique de <i>Pimpinella anisum</i> L.....	31
4.2. Composition chimique des graines et des mucilages.....	31
4.3. Extraction et caractérisation physicochimique des mucilages.....	32
4.4. Propriétés prébiotiques : fermentescibilité et stimulation sélective du microbiote.....	33
4.4.1. Fermentabilité et cinétique de décomposition.....	33
4.4.2. Stimulation sélective du microbiote.....	33
4.5. Activités biologiques complémentaires (antioxydante, antimicrobienne).....	34
4.5.1. Activités antioxydantes.....	34
4.5.2. Activités antimicrobiennes.....	34
5. Formulation symbiotique : co-encapsulation dans la matrice alginate–mucilages.....	34
5.1. Synergie entre alginate et mucilages comme co-matrices.....	34
5.2. Influence de la matrice sur la viabilité des probiotiques encapsulés.....	35
5.3. Comportement de libération en conditions simulées gastro-intestinales.....	35
5.3.1. Comportement en milieu gastrique simulé (SGF, pH = 1,5–2,0).....	35
5.3.2. Comportement en milieu intestinal simulé (SIF, pH = 6,8–7,4).....	36
5.3.3. Gonflement et érosion.....	36
5.3.4. Libération ciblée et effet synbiotique.....	36
5.4. Perspectives d'application dans les aliments fonctionnels.....	36
Partie pratique	
1. Objectifs.....	39
2. Matériel et méthodes.....	39
3. Extraction des mucilages de grain d'anis.....	40
4. Évaluation des activités biologiques.....	41
5. Cinétique et activité prébiotique.....	42
6. Protocole d'encapsulation de <i>Lactobacillus plantarum</i>	45
7. Tests de viabilité des probiotiques.....	47
Résultats et discussion	
1. Extraction et caractérisation du mucilage.....	54
1. Rendement de l'extraction du mucilage.....	54

2. Activité antioxydante.....	55
3. Cinétique de croissance de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> en présence de l'extrait mucilagineux.....	56
2. Analyses microbiologiques du l'encapsulation.....	58
1. Taux d'encapsulation.....	58
2. Résistance aux conditions simulées du tractus gastro-intestinal.....	59
3. Stabilité au stockage.....	60
3. Résultats des analyses physicochimiques.....	62
1. Indice de gonflement.....	62
2. Diamètre des billes d'alginate et d'alginate–mucilage.....	64
3. Morphologie des billes.....	65
4. Solubilité dans une solution de citrate.....	66
Conclusion.....	69
Les références.....	71

Liste des abréviation

ALG : Alginate

ALG-M : Alginate + Mucilage

CaCl₂ : Chlorure de calcium

DO : Densité optique

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle

FAO/OMS : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture / Organisation mondiale de la Santé

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50 %

MRS : De Man, Rogosa et Sharpe

pH : Potentiel hydrogène

SGF : Simulated Gastric Fluid

SIF : Simulated Intestinal Fluid

TE : Taux d'encapsulation

UFC : Unité Formant Colonie

Liste de figures :

La figure	Titre	La page
01	Bactéries les plus utilisées en complément aux produits alimentaires (Smatel et Oudiai, 2016)	07
02	Mécanisme d'action des probiotiques (Latif et <i>al.</i> , 2023)	12
03	Factures influant la fiabilité des probiotique au cours du transit gastro-intestinal. (Yao et al., 2021)	14
04	Types des capsules (Slimoune et <i>al.</i> , 2020)	20
05	Différentes formes structurales et morphologiques de microcapsules observées au microscope	21
06	Schéma de principe de la méthode d'encapsulation par extrusion (Serna et Vallejo, 2013)	24
07	Schéma de principe du conditionnement de l'émulsion (Serna et Vallejo, 2013)	24
08	Structure chimique de l'alginate : unités monomériques d'acide mannuronique (M) et d'acide	29
09	Mécanisme de la gélification ionotropique (Atia,2016)	30
10	Plante (A), fleur (B) et graines de Pimpinella anisum (C la forme des graines sur la plante ; D les graines séchées) (Soussi et <i>al.</i> , 2023)	31
11	Compositions chimiques des composants de l'anis (Shojaii et Abdollahi Fard, 2012)	32
12	Étapes de l'extraction de la mucilage des graines d'anis	40
13	Dosage de l'activité antioxydante	41
14	Suivi cinétique de la croissance	45
15	Étapes de l'encapsulation de <i>Lactobacillus plantarum</i> par la technique d'extrusion	47
16	Méthode du test d'efficacité des capsules	48
17	Évaluation de la survie des probiotiques encapsulés dans une solution gastrique simulée (pH 2)	49
18	Suivi de la viabilité des probiotiques encapsulés pendant le stockage	50
19	Evaluation de l'indice de gonflement des capsules dans une solution gastrique simulée (pH 2)	51
20	Mesure du diamètre des capsules à l'aide d'un pied à coulisse numérique	52
21	Rendement de l'extraction du mucilage des graines de <i>Pimpinella anisum</i> L.	54

22	Évolution du pouvoir antioxydant du mucilage de graines d'anis en fonction de la concentration, évaluée par le test DPPH.	56
23	Cinétique de croissance de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> en présence du mucilage des graines d'anis, de l'inuline et du glucose	57
24	Taux d'encapsulation des probiotiques dans les billes d'alginate-mucilage	58
25	Viabilité des probiotiques libres et encapsulés en milieu gastrique simulé (pH 2,0)	59
26	Évolution de la viabilité des probiotiques encapsulés au cours du stockage (J0–J28).	61
27	Évolution de l'indice de gonflement des billes en milieu gastrique simulé (pH 2)	62
28	Évolution de l'indice de gonflement des billes en milieu intestinal simulé (pH 7).	63
29	Diamètre moyen des billes des différentes formulations	65
30	Morphologie des billes d'alginate enrichies en mucilage de graines d'anis observée à la loupe	66
31	Temps de dissolution des billes dans une solution de citrate de sodium	67

Liste des tableaux

	Titre	Page
01	Principales espèces microbiennes utilisées comme probiotiques (Holzapfel et al., 2001)	08
02	Critères clés et souhaitables pour la sélection des probiotiques dans les applications commerciales (Vasiljevic et Shah, 2008)	09
03	Avantages et inconvénients des différentes méthodes d'encapsulation des probiotiques)Koh et al., 2022)	25
04	Composition d'un tube de test (volume final = 2 mL).	44
05	Conditions expérimentales utilisées pour l'évaluation de l'activité prébiotique.	44
06	Points de mesure et suivi cinétique de la croissance bactérienne (T0–T24).	44

Résumé

Cette étude visait à évaluer l'efficacité de la gomme extraite des graines d'anis dans l'encapsulation de la bactérie *Lactiplantibacillus plantarum*. Le mucilage des graines d'anis a été extrait par voie aqueuse, puis évalué à travers le rendement d'extraction et son activité antioxydante. Deux formulations ont ensuite été préparées : une formulation à base d'alginate seul (2%) et une formulation combinant 2 % d'alginate et 1,5 % de mucilage des graines d'anis.. Les billes obtenues à partir des deux formulations ont été évaluées en termes d'efficacité d'encapsulation, de morphologie, de comportement de gonflement dans des conditions simulant le tractus gastro-intestinal, de stabilité au cours du stockage et de survie des probiotiques dans un milieu fortement acide.

L'extraction du mucilage a permis d'obtenir un rendement de 7%. Le mucilage a également montré une activité antioxydante, avec un taux d'inhibition du radical DPPH d'environ 87,59% à la concentration la plus élevée. La formulation combinée avec le mucilage a présenté une meilleure efficacité d'encapsulation, atteignant 88,24%, ce qui indique une bonne protection des probiotiques au sein de la matrice. Dans les conditions acides simulant le milieu gastrique à pH = 2, la formulation enrichie en mucilage a joué un rôle important dans le maintien de la viabilité de *L. plantarum* par rapport à la formulation contenant uniquement de l'alginate, avec un taux de survie de 68,18% après 120 minutes. L'étude de la stabilité au cours du stockage a également montré un bon maintien de la viabilité des probiotiques dans la formulation à base d'alginate et de mucilage, ainsi que l'effet du mucilage sur le comportement de gonflement des billes, notamment dans le milieu intestinal simulé, où l'indice de gonflement était plus élevé pour la formulation contenant du mucilage. L'examen morphologique réalisé à l'aide d'une loupe a révélé une forme régulière et lisse, tandis que leurs diamètres moyens étaient de $2,32 \pm 0,01$ mm pour ALG et de $2,36 \pm 0,02$ mm pour ALG-M

Dans l'ensemble, les résultats obtenus dans cette étude ont montré que l'intégration de l'alginate avec le mucilage des graines d'anis constitue une approche prometteuse pour l'encapsulation de *Lactiplantibacillus plantarum* et pourrait contribuer à protéger les probiotiques dans des conditions acides ainsi qu'à maintenir leur viabilité au cours du stockage

Mots-clés : *Lactiplantibacillus plantarum* ; encapsulation ; alginate ; mucilage des graines d'anis ; prébiotique ; gélification ionique ; probiotiques.

Abstract

This study aimed to evaluate the efficiency of gum extracted from anise seeds for the encapsulation of the bacterium *Lactiplantibacillus plantarum*. The mucilage of anise seeds was extracted by an aqueous method, then evaluated through its extraction yield and antioxidant activity. Two formulations were then prepared: a formulation based on alginate alone (2%) and a formulation combining 2% alginate and 1.5% anise seed mucilage.. The beads obtained from both formulations were evaluated in terms of encapsulation efficiency, morphology, swelling behavior under conditions simulating the gastrointestinal tract, stability during storage, and probiotic survival in a strongly acidic medium. Mucilage extraction yielded 7%. The mucilage also exhibited antioxidant activity, with a DPPH radical inhibition rate of approximately 87.59% at the highest concentration. The formulation combined with mucilage showed better encapsulation efficiency, reaching 88.24%, indicating good protection of the probiotics within the matrix. Under acidic conditions simulating the gastric environment at pH = 2, the mucilage-enriched formulation played an important role in maintaining the viability of *L. plantarum* compared to the alginate-only formulation, with a survival rate of 68.18% after 120 minutes. The storage stability study also showed good maintenance of probiotic viability in the alginate-mucilage formulation, as well as the effect of mucilage on the swelling behavior of the beads, particularly in the simulated intestinal medium, where the swelling index was higher for the mucilage-containing formulation. Morphological examination using a magnifying glass revealed a regular and smooth shape, while their average diameters were 2.32 ± 0.01 mm for ALG and 2.36 ± 0.02 mm for ALG-M. Overall, the results obtained in this study showed that combining alginate with anise seed mucilage constitutes a promising approach for the encapsulation of *Lactiplantibacillus plantarum* and could help protect probiotics under acidic conditions while maintaining their viability during storage

Keywords: *Lactiplantibacillus plantarum*; encapsulation; alginate; anise seed mucilage; prebiotic; ionic gelation; probiotics.

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم فعالية المخاط المستخلص من بذور اليانسون في تغليف بكتيريا *Lactiplantibacillus plantarum*. تم استخلاص مخاط بذور اليانسون بطريقة مائية، ثم تقييمه من خلال مردود الاستخلاص ونشاطه المضاد للأكسدة. بعد ذلك، تم تحضير تركيبتين: تركيبة تعتمد على الألبينات وحده بتركيز 2%، تركيبة تجمع بين الألبينات ومخاط بذور اليانسون بتركيز 2% من الألبينات و1.5% من المخاط. كما تم تقييم الحبيبات الناتجة من التركيبتين من حيث كفاءة التغليف، والمورفولوجيا، وسلوك الانتفاخ في ظروف تحاكي الجهاز الهضمي، والاستقرار أثناء التخزين، وبقاء حيوية البروبيوتيك في وسط شديد الحموضة. أدى استخلاص المخاط إلى الحصول على مردود قدره 7%. كما أظهر المخاط نشاطاً مضاداً للأكسدة، حيث بلغ معدل تثبيط جذور DPPH حوالي 87.59% عند أعلى تركيز مستخدم. وأظهرت التركيبة المدعمة بالمخاط كفاءة أعلى في التغليف، بلغت 88.24%، مما يشير إلى حماية جيدة للبروبيوتيك داخل المصفوفة. وفي الظروف الحمضية المحاكاة للوسط المعدي عند $pH = 2$ ، ساهمت التركيبة المحتوية على المخاط في الحفاظ على حيوية *Lactiplantibacillus plantarum* مقارنة بالتركيبة المحتوية على الألبينات وحده، حيث بلغت نسبة البقاء 68.18% بعد 120 دقيقة. كما أظهرت دراسة الاستقرار أثناء التخزين الحفاظ على حيوية جيدة للبروبيوتيك في التركيبة القائمة على الألبينات والمخاط. وأظهر المخاط تأثيراً على سلوك انتفاخ الحبيبات، خاصة في الوسط المعوي المحاكى، حيث كان مؤشر الانتفاخ أعلى في التركيبة المحتوية على المخاط. وكشف الفحص المورفولوجي باستخدام العدسة المكبرة عن حبيبات ذات شكل منتظم وسطح أملس، بينما بلغ متوسط أقطارها 0.01 ± 2.32 مم بالنسبة لـ ALG و 0.02 ± 2.36 مم بالنسبة لـ ALG-M. وبصفة عامة، أظهرت النتائج المتحصل عليها أن دمج الألبينات مع مخاط بذور اليانسون يمثل مقاربة واعدة لتغليف *Lactiplantibacillus plantarum*، وقد يساهم في حماية البروبيوتيك في الظروف الحمضية، بالإضافة إلى الحفاظ على حيويته أثناء التخزين.

الكلمات المفتاحية: *Lactiplantibacillus plantarum*؛ التغليف؛ الألبينات؛ مخاط بذور اليانسون؛ بريبيوتيك؛ التجلط الأيوني؛ البروبيوتيك..

Introduction

Introduction

Les probiotiques ont suscité un intérêt croissant ces dernières années, en raison de leur potentiel à soutenir la santé humaine et à contribuer à la prévention de certains troubles de santé. Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité suffisante, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte. . Les probiotiques jouent notamment un rôle dans le maintien de l'harmonie du microbiote intestinal, l'amélioration des fonctions digestives et le renforcement du système immunitaire **(Diaz-Negrete et al., 2025)**

Les probiotiques sont exposés à des conditions défavorables lors de leur passage dans le tractus gastro-intestinal, notamment à l'acidité gastrique et aux sels biliaires, ce qui peut affecter leur viabilité et leur capacité à atteindre l'intestin dans un état fonctionnel. **(Socoli et al., 2010)**

L'encapsulation est une stratégie utilisée pour améliorer la stabilité et la viabilité des probiotiques face aux conditions défavorables. Elle consiste à immobiliser les microorganismes à l'intérieur d'une matrice protectrice formant une barrière contre différents facteurs, tels que l'acidité gastrique, les sels biliaires et les enzymes digestives. Cette approche contribue ainsi à préserver la viabilité des probiotiques lors de leur passage dans le tractus gastro-intestinal **(Yao et al., 2020)**. Parmi les différents biopolymères utilisés pour la formation de ces matrices protectrices, l'alginate figure parmi les matériaux les plus étudiés.

L'alginate est un biopolymère anionique naturel principalement extrait des algues brunes, largement utilisé dans les secteurs alimentaire, pharmaceutique et biotechnologique. Grâce à sa biocompatibilité, sa faible toxicité et sa capacité à former un hydrogel par réticulation ionique en présence d'ions calcium (Ca^{2+}) **(Kruk et Winnicka., 2022)**

Pour améliorer les propriétés de la matrice d'encapsulation, l'association de l'alginate avec d'autres biopolymères naturels, tels que les mucilages végétaux, constitue une approche intéressante. Ces derniers sont des polymères naturels principalement constitués de polysaccharides, présents dans différentes parties des plantes, notamment les graines. Grâce à leur capacité de rétention d'eau, de formation de gels et de films, ainsi qu'à leurs propriétés épaississantes et stabilisantes, ils suscitent un intérêt croissant dans le domaine des matériaux biopolymères. De plus, leur biodégradabilité, leur biocompatibilité et leur faible toxicité en font des alternatives naturelles Intéressantes aux polymères synthétiques. Dans le domaine de l'encapsulation, **(Tosif et al ., 2021)**

Le mucilage extrait des graines d'anis vert (*Pimpinella anisum* L.) présente ainsi un Intérêt en raison de ses propriétés fonctionnelles. La combinaison de l'alginate et du mucilage peut ainsi être mise en œuvre par gélification Ionique, notamment par la méthode d'extrusion, une technique simple et douce adaptée à l'encapsulation des microorganismes probiotiques

Introduction

Dans ce contexte, le présent travail expérimental vise à développer un système d'encapsulation de *Lactiplantibacillus plantarum* à l'aide d'une matrice à base d'alginate et de mucilage extrait des graines d'anis vert (*Pimpinella anisum* L.), par gélification ionique selon la méthode d'extrusion. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'efficacité d'encapsulation ainsi que la capacité de cette matrice à préserver la viabilité et à améliorer la résistance des probiotiques dans des conditions défavorables

Ce travail comporte trois parties complémentaires :

✓ Une première partie bibliographique, consacrée aux généralités sur les probiotiques et les facteurs influençant leur viabilité, ainsi qu'à la microencapsulation et aux matériaux naturels utilisés, notamment l'alginate et le mucilage des graines d'anis vert (*Pimpinella anisum* L.).

✓ Une deuxième partie expérimentale, décrivant le matériel utilisé, la méthode d'extraction du mucilage, la préparation des matrices d'encapsulation, la microencapsulation de *Lactiplantibacillus plantarum* par extrusion, ainsi que les différentes analyses et évaluations réalisées.

Enfin, une troisième partie, consacrée à la présentation, l'analyse et la discussion des résultats obtenus au cours de ce travail expérimental, suivie d'une conclusion générale et de perspectives de recherche.

Partie 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Les Probiotiques, Prébiotiques et le Concept Symbiotique

I Probiotique

1.1. Historique et évolution du concept

Le terme « probiotique », qui signifie « pour le bien de la vie », fait référence aux bactéries bénéfiques. Au début du Xxe siècle, Elie Metchnikoff a proposé la possibilité de modifier la flore intestinale pour remplacer les microbes nocifs par des microbes bénéfiques. Dans la même période, Henri Tissier a noté que les enfants en bonne santé avaient beaucoup de bactéries autres que les enfants en forme de Y (bifurqués) avec diarrhée, et il a proposé d'administrer ces bactéries aux patients.

Le terme « probiotique » a été inventé en 1960. Les définitions ont évolué par la suite. **Fuller (1989)** l'a défini comme « un supplément alimentaire microbien vivant qui a un effet positif sur l'homéostasie intestinale », tandis que Guarner et Shafsma (1998) l'ont défini comme des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité suffisante, ont un effet bénéfique sur la santé de l'hôte. Ces définitions soulignent la nécessité d'avoir des organismes vivants et une dose appropriée (**FAO/OMS, 2001**).

1.2. Définition des probiotiques

Les probiotiques sont définis par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme des « micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en grandes quantités ou appliqués localement, confèrent des avantages pour la santé de l'hôte, tels que l'accélération de la maturation du microbiote intestinal, la prévention de la croissance des pathogènes et le renforcement du système de défense de l'organisme » (**Nezamdoost-Sani et al., 2023**).

Les probiotiques sont ajoutés à de nombreux produits, tels que les produits laitiers et les produits non laitiers (**Nezamdoost-Sani et al., 2023**).

1.3. Cadre réglementaire (statut GRAS/QPS)

- GRAS (États-Unis – FDA) : Generally Recognized as Safe (reconnu comme sûr). Permet la commercialisation d'une souche dans l'alimentation sans approbation préalable, sur la base d'un historique d'innocuité ou de preuves scientifiques.

- QPS (Union européenne – EFSA) : Qualified Presumption of Safety (présomption qualifiée de sécurité). Système européen accordé aux souches ne présentant pas de problème de sécurité, simplifiant leur évaluation.

2. Classification de Probiotique

Les probiotiques sont constitués de bactéries ou de levures naturellement présents chez l'homme, notamment au niveau de la flore digestive. Trois grands groupes de micro-organismes probiotiques peuvent être distingués (Chiny et Lignon, 2013).

2.1. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont les plus abondantes et les plus couramment utilisées. Elles dégradent le lactose pour le transformer en acide lactique, leur principal produit du métabolisme des glucides, entraînant ainsi une baisse du pH environnemental. Elles incluent les genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*.

2.2. Les bactéries non lactiques

Autrefois, on utilisait des bacilles (qui ne sont pas des bactéries lactiques) pour traiter et prévenir la diarrhée. Cependant, cette pratique a été abandonnée faute d'études scientifiques suffisantes prouvant son efficacité.

2.3 Levures probiotiques : genre *Saccharomyces*

La levure de bière, *Saccharomyces cerevisiae* est l'une des plus anciennes levures utilisées dans la production de boissons alcoolisées comme la bière, ou la fabrication du pain. Une espèce étroitement apparentée, *Saccharomyces boulardii*, est utilisée comme bioactivateur.

Ces levures sont classées dans les ascomycètes de la classe des Saccharomycotina, ordre des Saccharomycetes et famille des Saccharomycetales. La levure *Saccharomyces boulardii* a été découverte en Indochine par Henry Boulard, qui lui a donné son nom en 1920 (Biard, 2016).



Figure 01 : Bactéries les plus utilisées en complément aux produits alimentaires (Smatel et Oudiai, 2016)

Tableau 1: Principales espèces microbiennes utilisées comme probiotiques (Holzapfel et al., 2001)

Genres	Espèces
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. rhamnosus</i> <i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. reuterii</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. sporogenes</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. adolescentis</i>
Autres bactéries lactiques	<i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Sporolactobacillus inulinus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>
Bactéries non lactiques	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i> <i>Escherichia coli</i> ssp <i>nissle</i> <i>Saccharomyces boulardii</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

3. Critères de sélection des probiotiques

Les probiotiques sont évalués selon des critères essentiels incluant la stabilité phénotypique avec la stabilité plasmidique et l'utilisation des polysaccharides et polyprotéines. L'évaluation porte aussi sur la tolérance à l'acidité et à la bile, en garantissant la survie et la croissance ainsi que l'adhésion aux cellules de la muqueuse

intestinale. Parmi les points clés figurent la production de composés antimicrobiens, l'inhibition des pathogènes et la capacité à stimuler la réponse immunitaire. L'adhésion à la muqueuse intestinale est indispensable pour assurer une colonisation efficace (Wedajo, 2015b).

Tableau 2 : Critères clés et souhaitables pour la sélection des probiotiques dans les applications commerciales (Vasiljevic et Shah, 2008)

Critères	Propriétés
Sécurité	• Origine • Pathogénicité et infectiosité Facteurs de virulence : toxicité, activité métabolique et propriétés intrinsèques (ex. résistance aux antibiotiques)
Technologiques	• Souches génétiquement stables • Viabilité souhaitée durant la transformation et le stockage • Bonnes propriétés sensorielles • Production à grande échelle • Résistance aux bactériophages
Fonctionnels	• Tolérance à l'acidité gastrique et aux sucs digestifs • Adhésion à la surface muqueuse • Tolérance aux sels biliaires • Effets bénéfiques validés et documentés scientifiquement

3.1. Identité de la souche

Selon FAO/WHO (2002), "l'identification des souches (typage génique) pourrait être faite à l'aide d'une méthode comme l'électrophorèse en champ pulsé. Il est recommandé que les tests phénotypiques soient effectués avant, suivis d'une identification génétique, à l'aide de méthodes telles que l'hybridation AND/ARN, le séquençage d'ARN 16S ou d'autres méthodes internationalement reconnues" [FAO/WHO, 2002].

3.2. Origine et innocuité des souches probiotiques

L'efficacité d'une souche probiotique dépend de son origine : les bactéries isolées de l'intestin humain sont plus adaptées que celles d'origine végétale (**Alvarez-Olmos et Oberhelman, 2001**). Pour assurer la sécurité, l'identification précise espèce/souche est obligatoire, avec vérification de l'absence de gènes de résistance aux antibiotiques transférables via tests EFSA/ISO-IDF (2010). Toute résistance suspecte nécessite un séquençage génomique excluant les éléments mobiles (**EFSA, 2018-2020**). Les souches QPS/GRAS présentent une sécurité optimale.

3.3. Résistance aux conditions gastro-intestinales (acidité, sels biliaires)

Une souche probiotique idéale résiste à l'acidité gastrique, aux sels biliaires et aux enzymes pancréatiques, avec une viabilité minimale de 5×10^9 UFC/jour pendant au moins 5 jours pour des bénéfices optimaux. Elle doit posséder un statut GRAS, produire de l'acide lactique, réduire la perméabilité intestinale et stimuler le système immunitaire (**Gupta et Garg, 2009**).

3.4. Capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale

La capacité des probiotiques à adhérer aux cellules intestinales et/ou au mucus est considérée comme un critère essentiel pour le choix des souches, car elle leur permet une colonisation transitoire et un effet bénéfique au niveau intestinal. Cette capacité varie d'une souche à l'autre et contribue à une durée de séjour plus longue des bactéries dans l'intestin, ce qui renforce l'effet probiotique et limite l'adhésion des agents pathogènes par compétition pour les mêmes sites d'adhésion (**Carmona, 2016**).

3.5. Activités antimicrobiennes et compétition avec la flore pathogène

Les probiotiques agissent en éliminant de manière compétitive les agents pathogènes des nutriments et des sites de liaison, produisant ainsi des substances antimicrobiennes, qui limitent la présence de bactéries pathogènes dans l'intestin.

3.5.1. La compétition pour les sites d'adhésion et les sources nutritionnelles

Les probiotiques utilisent le mécanisme d'exclusion compétitive en rivalisant avec les pathogènes pour deux ressources essentielles : la nourriture disponible et les sites d'adhésion sur la paroi intestinale. Certaines souches de probiotiques, comme les lactobacilles et les bifidobactéries, possèdent des protéines de surface qui leur permettent d'adhérer aux mêmes récepteurs glucidiques que ceux utilisés par les pathogènes intestinaux, bloquant ainsi ces sites. Elles peuvent également modifier l'environnement en sécrétant des acides et des substances antimicrobiennes. En bref, les probiotiques agissent comme une barrière physique empêchant les pathogènes d'adhérer et de se stabiliser. (**Wan et al., 2018**).

3.5.2. Production de composés antimicrobiens

Les bactéries probiotiques produisent des composés antimicrobiens qui exercent un effet direct contre les agents pathogènes intestinaux concurrents (Van Zyl et al., 2020), parmi les quels:

-Bactériocines

Ce sont des peptides antimicrobiens produits par les ribosomes, et elles sont courantes surtout chez les bactéries lactiques probiotiques. Elles se caractérisent par leur petite taille (2-10 kDa) et agissent généralement en inhibant les espèces bactériennes proches de la bactérie productrice, mais certaines, comme la nisine et la plantarine, possèdent un spectre plus large contre des agents pathogènes intestinaux graves. Leur mécanisme principal consiste à pénétrer la membrane cellulaire bactérienne grâce à leurs propriétés amphiphiles, ce qui conduit à la formation de pores, à la fuite du contenu interne et à la mort cellulaire. Cette propriété confère au probiotique qui les produit un avantage compétitif dans l'environnement intestinal complexe.

-Acides organiques

Les probiotiques s'appuient sur la production d'acides organiques (comme l'acide lactique et acétique) pour transformer l'intestin en un environnement acide impropre aux agents pathogènes. Ces bactéries fermentent les glucides, produisant ainsi des acides qui abaissent le pH. Le mécanisme de base : la forme non ionisée de l'acide lactique traverse la membrane externe des bactéries à Gram négatif, puis se dissocie dans le cytoplasme, ce qui abaisse l'acidité interne et provoque la mort du pathogène. Par exemple, la capacité de *L. Rhamnosus* GG à inhiber *Salmonella* est largement due à la production d'acide lactique.

- Peroxyde d'hydrogène

Certaines bactéries lactiques probiotiques produisent du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pour lutter contre les pathogènes, ce qui réduit leur virulence, empêche l'invasion des cellules épithéliales, ou les tue après leur entrée. Exemple marquant : *Lactobacillus johnsonii* NCC533 qui génère des quantités millimolaires de H_2O_2 en présence d'oxygène, inhibant ainsi *Salmonella* Typhimurium. De plus, la présence de lactobacilles producteurs de H_2O_2 dans le vagin réduit le risque de vaginose bactérienne.

3.5.3. Effets immunomodulateurs

Les probiotiques modulent la réponse immunitaire dans l'intestin par plusieurs mécanismes : Premièrement, ils interagissent avec les cellules dendritiques via les récepteurs de type Toll (TLR), ce qui stimule la transformation des cellules T (Th0) en cellules T régulatrices (Treg) qui inhibent l'inflammation excessive. Deuxièmement, ils augmentent la production de cytokines anti-inflammatoires (telles que l'IL-10 et le TGF- β) et réduisent celle des cytokines pro-inflammatoires (comme le TNF et l'IFN- γ). Troisièmement, certaines souches stimulent la

production d'anticorps sécrétoires de type IgA qui neutralisent les agents pathogènes. En bref, les probiotiques agissent comme des modulateurs immunitaires protégeant l'intestin sans déclencher de réponse inflammatoire nocive (Wan et al., 2018).

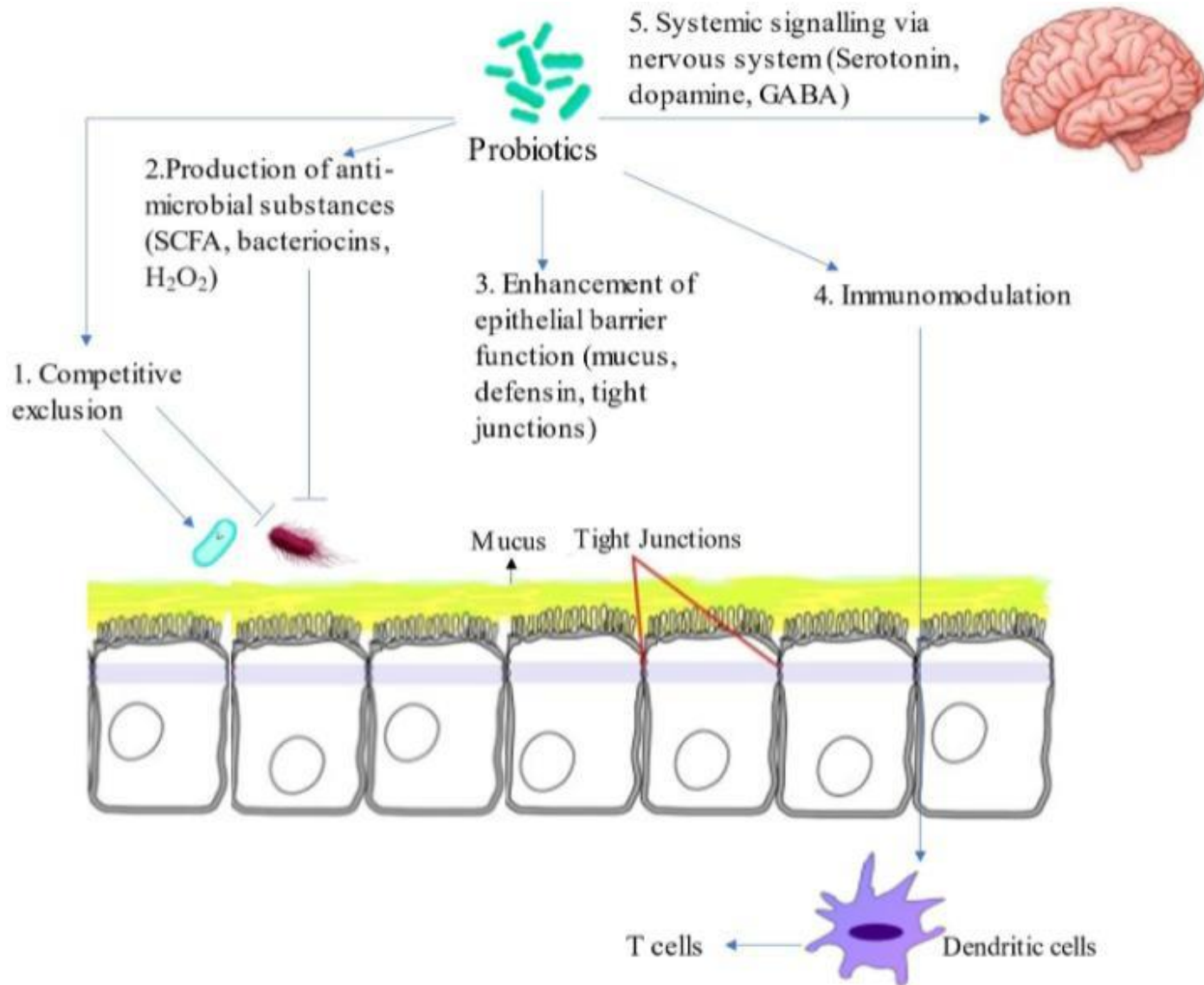


Figure 02 : Mécanisme d'action des probiotiques (Latif et al., 2023)

4. Effets bénéfiques sur la santé humaine

Les probiotiques ont des effets bénéfiques sur la santé humaine, affectant principalement l'équilibre des micro-organismes, le système immunitaire, le métabolique, ainsi que divers troubles digestifs.

4.1. L'équilibre du microbiote intestinal

L'équilibre du microbiote intestinal représente l'avantage le plus marquant découvert pour les probiotiques, que Metchnikoff a décrit comme une "culture" de l'intestin avec des bactéries lactiques inoffensives qui combattent la prolifération des bactéries putréfactives nocives

Les études ont démontré l'efficacité des probiotiques exogènes dans l'amélioration des résultats thérapeutiques via la régulation de la réponse immunitaire chez les patients atteints de maladies chroniques et aiguës, avec des effets stimulateurs immunitaires également chez les personnes en bonne santé **(Georgieva et al., 2014)**.

4.2. Prévention et traitement des maladies du système digestif

Des études ont confirmé son efficacité dans la prévention et le traitement de divers types de diarrhée, notamment la diarrhée chez l'enfant et l'adulte, la diarrhée associée aux antibiotiques, la constipation et le syndrome de l'intestin irritable. Il s'est également révélé efficace pour soulager les symptômes des coliques du nouveau-né

Pour exercer ces bienfaits, les probiotiques doivent résister à la faible acidité gastrique et s'établir dans le côlon malgré les concentrations élevées d'acides biliaires **(Georgieva et al., 2014)**.

4.3. Effets métaboliques (cholestérol, glycémie)

Les probiotiques peuvent être utilisés pour réduire le taux de cholestérol sanguin par des méthodes directes et indirectes. La méthode directe consiste à inhiber la production de nouveau cholestérol et à réduire son absorption intestinale par trois méthodes : l'absorption, la liaison et la dégradation. La méthode indirecte repose sur la décomposition de la liaison des sels biliaires par l'enzyme BSH, ce qui conduit à réduire leur réabsorption et à augmenter leur excrétion dans les selles. Ces propriétés ont été étudiées à travers des recherches sur les organismes vivants et les humains, telles que l'étude qui a montré que les deux souches de *Levelactobacillus brevis* fonctionnent pour réduire le niveau de cholestérol, augmenter son excrétion dans les selles et convertir la bile en acide cholique libre **(Latif et al., 2023)**.

4.4. Renforcement de la barrière immunitaire

La barrière intestinale se compose de (couche muqueuse, cellules intestinales, immunité innée) qui protège l'intestin contre l'infection et l'inflammation. Son inactivation provoque des maladies telles que l'entérite chronique et la rectocolite hémorragique. Les probiotiques le renforcent en stimulant la production de myosines (MUC2 et MUC3) ; par exemple, *Lactobacillus plantarum* 299v inhibe l'adhésion d'*E. coli* pathogène en augmentant l'expression de ces myosines. Il aide également à la sécrétion de peptides antimicrobiens et d'immunoglobuline A, et rivalise avec les bactéries nocives pour l'adhésion, ce qui renforce la barrière et protège contre l'infection et l'inflammation chronique **(Van Zyl et al., 2020)**.

5. Les facteurs influençant la viabilité des probiotiques

Lorsque les probiotiques sont pris, ils se déplacent dans le tractus digestif, de la bouche au côlon. Figure 3. Cette section traite des facteurs naturels et chimiques qui affectent la viabilité des probiotiques.

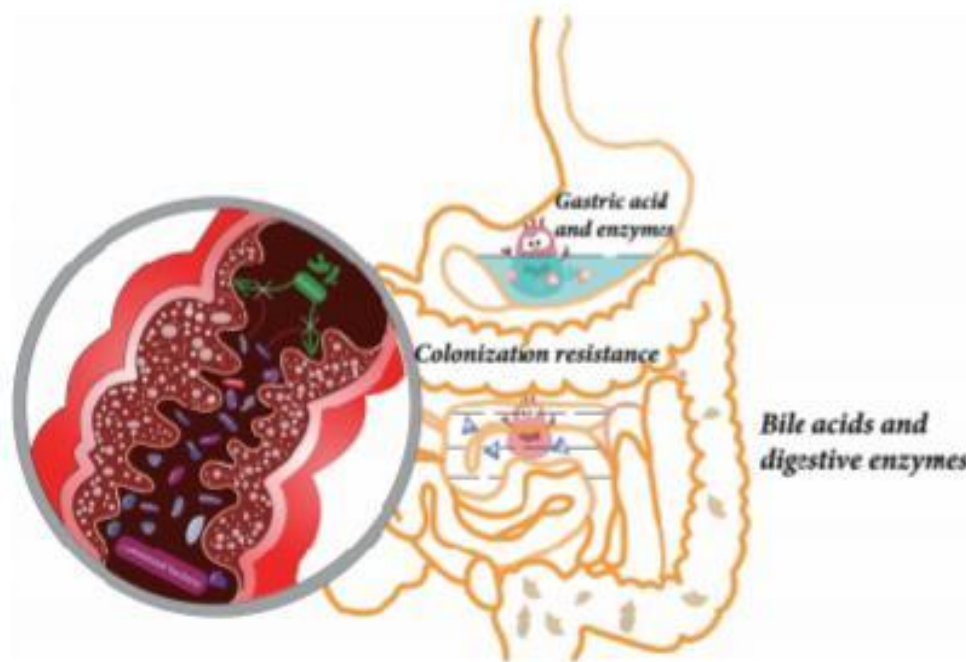


Figure 03: Facteurs influençant la viabilité des probiotiques au cours du transit gastro-intestinal. (Yao et al., 2021)

Divers facteurs affectent la viabilité des probiotiques au cours du transit gastro-intestinal, notamment l'acide gastrique, les enzymes digestives, les acides biliaires dans la partie supérieure du tractus gastro-intestinal, ainsi que la résistance à la colonisation exercée par les bactéries commensales du côlon.

5.1. Facteurs intrinsèques (pH, activité de l'eau, interactions microbiennes)

Les ingrédients tels que les sucres, le sel, les antimicrobiens, les bactériocines et les composés aromatiques affectent négativement l'activité des probiotiques, tandis que les prébiotiques agissent comme un soutien puissant pour leur viabilité. De plus, le niveau d'oxygène et le stress oxydatif représentent un danger majeur pour les souches anaérobies comme les bifidobactéries.

L'activité de l'eau est un autre facteur qui peut affecter la survie des probiotiques. La viabilité cellulaire est particulièrement affectée lorsque la matrice de nourriture sèche a une activité hydrique élevée ($a_w > 0,25$). L'acidité calibrable et les valeurs de pH (3,2-4,0) faibles peuvent également affecter la vitalité probiotique (Terpou et al., 2019).

5.2. Facteurs extrinsèques (température, oxygène, procédés technologiques)

Ils incluent le traitement thermique, l'homogénéisation et la température de fermentation, qui constituent un risque car les hautes températures tuent de nombreuses cellules viables. Quant au stockage, il réduit le nombre de cellules viables en cas d'exposition à des températures élevées ou à de longues durées, et est préservé par une réfrigération adéquate et un emballage hermétique (Han et al., 2021)

L'oxygène affecte la vitalité des probiotiques car son exposition pendant la production, le stockage ou même la consommation provoque la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui causent des dommages à plusieurs niveaux cellulaires, y compris la peroxydation des lipides membranaires, la distorsion des protéines et les dommages à l'ADN (Kim et al., 2026).

5.3. Viabilité lors du transit gastro-intestinal

Après administration orale, les probiotiques traversent le tube digestif, de la bouche à l'estomac, puis à l'intestin grêle et au côlon (Han et al., 2021).

5.3.1. Bouche

Lors de la prise de probiotiques, vous êtes exposé à une salive légèrement acide qui contient des composants immunitaires (tels que IgA, IgG, IgM) et non immunitaires (protéines, peptides, mucines, enzymes) avec un effet antibactérien sélectif, ce qui rend son effet sur la survie des probiotiques minimal pendant le transit par la bouche

5.3.2. L'estomac

Les probiotiques, qui arrivent dans l'estomac un environnement hautement acide (où les ions H^+ affluent, le pH cytoplasmique diminue, et l'activité des enzymes glycolytiques ainsi que de la pompe F1F0-ATPase est inhibée), peuvent y parvenir en 5 minutes à 2 heures. Cela met en péril leur survie, surtout pour les souches non résistantes

Ce phénomène est également exacerbé par d'autres éléments, tels que la force ionique, l'activité de la pepsine et le mouvement mécanique.

5.3.3. Intestin grêle.

Les probiotiques atteignent l'intestin grêle (pH 6,0-7,0 grâce à l'égalisation du liquide intestinal) après le pylore, où ils sont exposés au suc pancréatique, aux acides biliaires et aux enzymes digestives (lipases, protéases, amylases) qui endommagent la membrane cellulaire et l'AND, réduisant ainsi la vitalité des souches.

5.3.4. Le côlon

Le côlon contient la densité bactérienne la plus élevée ($[10^{11}-10^{12}]$ UFC/ml) qui résiste à la colonisation probiotique en entrant en compétition pour les nutriments et les sites d'adhésion avec le microbiote commensal, ce qui entraîne l'excrétion de la majeure partie dans les fèces (indétectable).

6. Des prébiotiques aux symbiotiques

6.1. Définition et classification des prébiotiques

Les prébiotiques sont des composés qui sont utilisés sélectivement par les micro-organismes de l'hôte, favorisant ainsi un bénéfice pour la santé. Ces composés comprennent des glucides indigestibles ainsi que des substances non glucidiques. Parmi les propriétés des prébiotiques figure leur sélectivité ; ils favorisent la croissance de bactéries bénéfiques telles que *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* sans stimuler la prolifération d'agents pathogènes intestinaux, ces substances ne sont pas digérées dans les parties supérieures du système digestif, ils atteignent donc le côlon intact .

Les prébiotiques sont classés en fonction de leur composition chimique et de leurs sources alimentaires, notamment :

-Les fructo-oligosaccharides (FOS), présents dans des aliments tels que la chicorée, les poireaux, les oignons et les bananes vertes, aident en fait à réduire le cholestérol et à réguler les microbes intestinaux.

L'inuline est associée à la facilitation du transit intestinal et à la réduction de l'inflammation. En plus d'autres composés tels que les galacto-oligosaccharides (GOS), isomalto-oligosaccharides (IMO), xylo-oligosaccharides (XOS), bêta-glucane, pectine et amidons résistants (De Oliveira et al., 2025).

6.2. Mécanismes d'action prébiotique

Manque d'enzymes nécessaires pour détruire les liaisons polymériques des prébiotiques dans l'intestin grêle, ils passent sans être digérés et atteignent le gros intestin intact. les bactéries intestinales le décomposent et le fermentent sélectivement, produisant des métabolites secondaires bénéfiques pour l'organisme, tels que les acides gras à chaîne courte (acétate, butyrate, propionate), qui contribuent à la santé intestinale. Ces produits sont absorbés par la paroi intestinale ou transportés vers le foie via la veine porte, où ils exercent des effets positifs tels que : moduler l'immunité, combattre les germes nocifs et renforcer la barrière intestinale , amélioration de l'absorption des minéraux et réduction des graisses dans le sang (You et al., 2022).

6.3. Le concept synbiotique : définition, types et critères de complémentarité

Le terme « synbiotique » a été inventé en 1995 pour décrire la combinaison efficace de probiotiques et de prébiotiques. Il a été amélioré par des experts de l'International Probiotic and Prebiotic Association (ISAPP) en 2019, où il a été défini comme :

Un mélange constitué de micro-organismes vivants et de matériaux essentiels utilisés sélectivement par les micro-organismes hôtes, améliorant la santé des hôtes (Swanson et al., 2020).

Les deux types diffèrent comme suit :

Dans les symbiotiques complémentaires: les ingrédients travaillent séparément (de manière non coopérative) pour produire des bienfaits pour la santé.

Dans les symbiotiques synergiques: le substrat est spécifiquement conçu pour une utilisation sélective par des micro-organismes associés, afin de maximiser ses bienfaits pour la santé (Kleerebezemet Führen, 2024).

Critères de complémentarité (Gomez Quintero et al., 2022):

- Prouver le bénéfice pour la santé grâce à une étude clinique bien conçue.
- Assurez une puissance statistique suffisante.
- Utilisation sélective du substrat.
- Déterminez le type de synbiotique.
- Choisissez les contrôles appropriés.
- Expliquez la raison du choix de la combinaison.
- Respectez les normes relatives aux ingrédients (critères des composants) dans les symbiotiques.

6.4. Intérêt des symbiotiques en alimentation fonctionnelle et santé

- Promouvoir l'équilibre intestinal : les symbiotiques contribuent à augmenter le nombre de bactéries bénéfiques telles que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, ce qui aide à stabiliser l'écosystème microbien dans l'intestin
- Il aide à améliorer la fonction hépatique chez les personnes atteintes de cirrhose et soutient les processus naturels de détoxification.
- Renforcement de l'immunité : améliore les capacités du système immunitaire et modifie ses réponses défensives.
- Protection contre les germes : limite la transmission de bactéries pathogènes et réduit le risque d'infection

- Protection contre les germes : limite la transmission de bactéries pathogènes et réduit le risque d'infection

En alimentation fonctionnelle

Prolonger la durée de vie des probiotiques : les prébiotiques agissent comme un aliment sélectif qui stimule la croissance des probiotiques et augmente leur résistance aux conditions intestinales difficiles telles qu'une acidité élevée, la présence d'oxygène et le changement de température.

Régulation du métabolisme intestinal : réduit les niveaux de composés métaboliques nocifs, neutralise les nitrosamines et les substances cancérigènes, et améliore la production d'acides gras à chaîne courte et de cétones (Markowiak et Śliżewska, 2017).

Chapitre II :

**Encapsulation des Probiotiques par l'Alginate et les
Mucilages de Graines d'Anis**

1. L'encapsulation

1.1. Historique et définition de l'encapsulation

L'encapsulation est née dans le domaine de la biotechnologie il y a environ 60 ans (dans les années 1960 environ), dans le but d'améliorer l'efficacité de la production en séparant les cellules productrices des métabolites à l'aide d'une matrice protectrice. La technologie s'est ensuite étendue au secteur pharmaceutique pour la délivrance de médicaments et de vaccins, puis à l'industrie alimentaire récemment, pour incorporer des composés fonctionnels sensibles tels que les probiotiques et les vitamines, tout en préservant leur stabilité

L'encapsulation est un procédé consistant à piéger une substance (comme l'agent actif ou le noyau/charge) à l'intérieur d'une autre substance formant la paroi ou la matrice. Le noyau est désigné par divers termes tels que noyau, remplissage, actif, phase interne ou charge, tandis que la matière de paroi est appelée : enrobage, membrane, coque, capsule, matériau vecteur, phase externe ou matrice.

Dans l'industrie alimentaire, l'encapsulation est une technologie de revêtement complet des composés bioactifs tels que les vitamines, les antioxydants ou les probiotiques, à l'aide d'une barrière physique qui les protège de la sortie ou des influences environnementales. Elle produit des particules petites (de nanomètres à millimètres) qui libèrent leur contenu à des taux définis sous des conditions spécifiques (Nedovic et al., 2011).

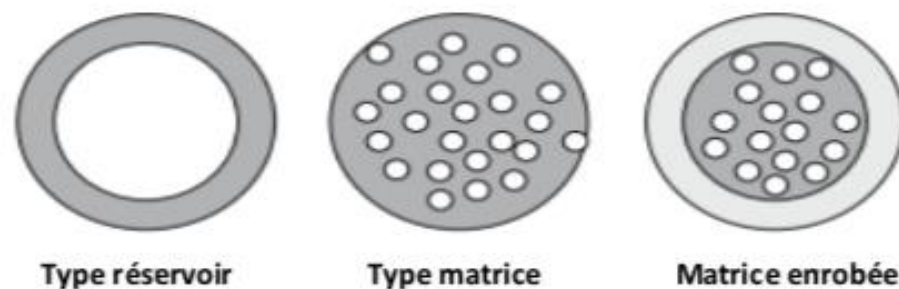


Figure 4: Types des capsules (Slimoune et al., 2020)

1.2. Terminologie : microencapsulation vs nanoencapsulation

Microencapsulation: est le processus de création microcapsules contenant des micro-organismes actifs couverts Avec des polymères et des composés organiques et inorganiques (Mitsuwan et al., 2023).

La microencapsulation fait référence à l'encapsulation à une échelle micrométrique, avec des particules généralement entre 1 et 1000 microns de diamètre (Singh et al., 2010).

Nanorncapsulation: est une variante avancée opérant à l'échelle nanométrique, avec des capsules inférieures à 1 micron (habituellement entre 10 et 1000 nanomètres). Cette technologie favorise une meilleure pénétration dans les tissus biologiques et une efficacité accrue avec des doses plus faibles (**Kvakova et al., 2021**).

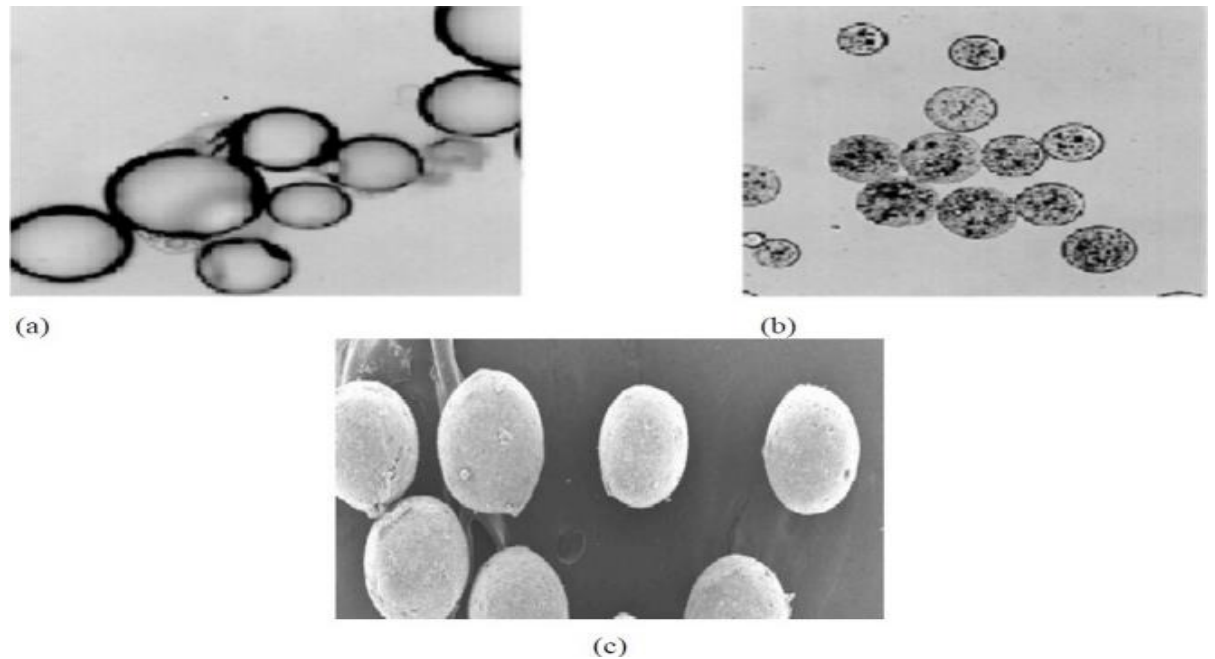


Figure 5: Différentes formes structurales et morphologiques de microcapsules observées au microscope

a) Mononuclear microcapsules, b) Aggregated microcapsules, c) Surface of microcapsule

1.3.Intérêt de l'encapsulation

L'encapsulation consiste à envelopper un principe actif dans une matrice ou un polymère pour mieux contrôler son comportement dans divers secteurs comme l'industrie pharmaceutique, alimentaire ou cosmétique.

- Immobilisation et isolation

Un des atouts majeurs de l'encapsulation pour les cellules microbiennes, comme les probiotiques (ex. *Lactobacillus plantarum*), réside dans leur immobilisation et leur isolation. Une membrane semi-perméable retient les cellules dans un espace sécurisé, favorisant leur croissance et leurs activités métaboliques. Ce système physique préserve une activité cellulaire optimale, avec un taux de survie supérieur à 90% dans des conditions digestives simulées (pH de 2 à 8, sels biliaries), contre moins de 50% pour les cellules libres (**Burgain et al., 2016**).

- Protection

Le revêtement agit comme un bouclier contre les facteurs dégradants tels que l'oxygène, la lumière, l'humidité, la chaleur, les fluctuations de pH ou les enzymes digestives. Cela réduit la dégradation et renforce la stabilité des principes actifs sensibles, comme les vitamines, probiotiques, arômes, huiles essentielles ou antioxydants (Four, 2023).

- Libération contrôlée et amélioration de la stabilité

Grâce à l'encapsulation, le principe actif est libéré de manière ciblée et progressive dans l'intestin grêle ou le côlon, en fonction des stimuli environnementaux (pH, température, enzymes). Cela stimule la prolifération, l'adhésion cellulaire et une survie accrue (>90%), notamment avec des matrices comme l'alginate ou le chitosane (Sun et al., 2023).

- Masquage organoleptique et structuration

L'encapsulation masque les saveurs, odeurs ou couleurs indésirables, convertit des liquides en formes solides, et optimise la texture du produit (homogénéité, fluidité, apparence). Cela améliore l'acceptabilité sensorielle et facilite son intégration dans les formulations finales (Four, 2023).

2. Méthodes d'encapsulation

Il existe de nombreuses techniques pouvant être utilisées pour la microencapsulation des ingrédients alimentaires (Jackson et Lee, 1991), parmi lesquelles on distingue:

2.1. Le séchage par pulvérisation (Spray Drying)

Le séchage par pulvérisation (Spray Drying) est une technique d'emballage basée sur la pulvérisation d'une solution ou émulsion contenant l'ingrédient actif et l'agent d'emballage dans une chambre équipée d'air chaud. L'évaporation rapide de l'eau entraîne la formation d'une poudre sèche contenant le matériau encapsulé. Il s'agit d'un procédé simple et peu coûteux, largement utilisé dans l'industrie pour protéger les composés bioactifs et améliorer leur stabilité pendant le stockage (Agriopoulou et al., 2023).

2.2. Le refroidissement par pulvérisation (Spray Chilling)

Le refroidissement par pulvérisation (Spray Chilling) est une technique d'emballage basée sur la pulvérisation de l'ingrédient actif mélangé à un matériau d'emballage gras fondu à l'intérieur d'une chambre contenant de l'air froid. Lorsque les gouttelettes entrent en contact avec de l'air froid, le matériau d'emballage durcit rapidement, ce qui entraîne la formation de fines particules ou de capsules qui entourent la substance active et la protègent des facteurs externes. Cette technologie n'utilise pas de températures élevées lors du séchage, ce

qui la rend adaptée au conditionnement de matériaux thermosensibles tels que les probiotiques, les composés bioactifs, les acides gras oméga-3 et certaines enzymes (Agriopoulou et *al.*, 2023).

2.3. Séchage sur lit fluidisé (fluidized-bed)

(Fluidized Bed Coating) est une technologie d'emballage utilisée dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et chimiques pour emballer des particules solides. Il consiste à suspendre des particules dans un flux d'air ascendant, puis à pulvériser le matériau d'emballage sur celles-ci, ce qui permet la formation d'une couche protectrice tout en évaporant simultanément le solvant et en le séchant. Cette technologie offre un bon contrôle sur le processus d'emballage et améliore la stabilité et la protection des matériaux emballés (Jan et *al.*, 2025).

2.4. coagulation (simple et complexe)

La méthode de coagulation complexe est principalement basée sur la dispersion du matériau de base dans une solution polymère avec des charges opposées. Grâce à un changement des conditions physiques ou chimiques du milieu, telles que la température et le pH, le matériau de la paroi se dépose à la surface du matériau de base en raison d'interactions de charge et d'une diminution de solubilité, ce qui conduit à la formation de microcapsules (Jin et Wang, 2026).

2.5. Gélification ionique et extrusion

C'est une technologie d'emballage basée sur l'utilisation de matériaux colloïdaux aqueux tels que l'alginate et le carraghénane. Cette technique consiste à mélanger des micro-organismes avec une solution colloïdale aqueuse, formant un réseau gélatineux qui piège la substance active dans des granules stables et la protège contre les facteurs externes (Venkatachalam et *al.*, 2026)

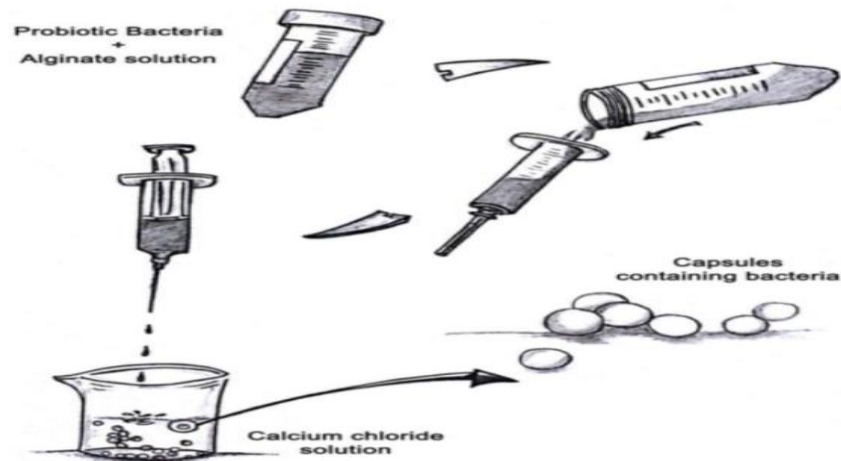


Figure 6: Schéma de principe de la méthode d'encapsulation par extrusion (Serna et Vallejo, 2013)

2.6. Liposomes et émulsification

Il s'agit de techniques d'encapsulation qui consistent à disperser un liquide dans un autre liquide non miscible, comme l'huile dans l'eau, afin de former de minuscules vésicules ou gouttelettes contenant le principe actif (Jackson et Lee, 1991). Ces gouttelettes sont ensuite fixées ou coagulées pour former des microcapsules qui protègent la substance encapsulée (Řepka et al., 2023).

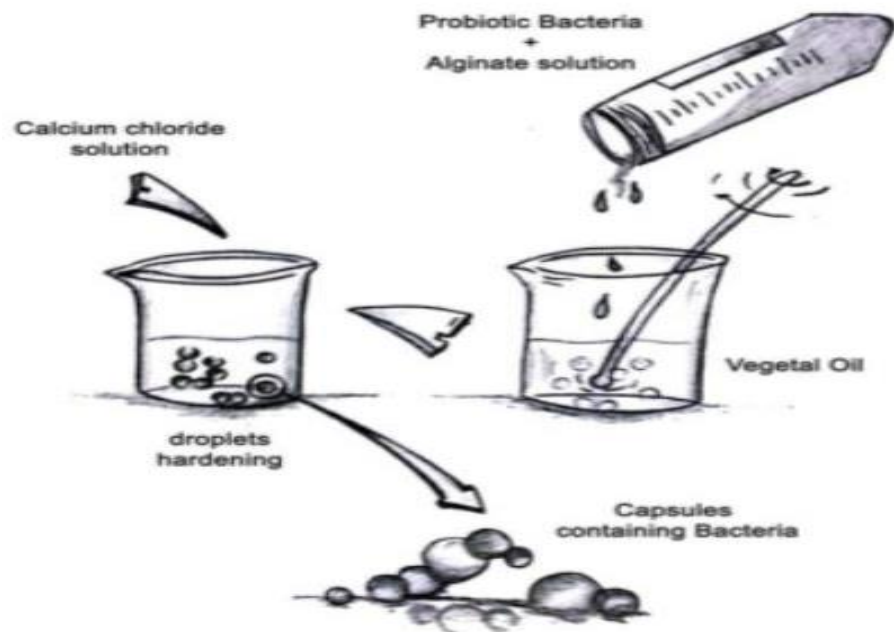


Figure 7: Schéma de principe du conditionnement de l'émulsion (Serna et Vallejo, 2013)

2.7. L'inclusion moléculaire

L'inclusion moléculaire est une méthode d'encapsulation qui vise à enfermer le principe actif dans une cavité de β -cyclodextrines. Cette cyclodextrine est constituée de sucres cycliques, dotés d'un centre hydrophobe et d'une surface externe hydrophile. Cette méthode aide à optimiser la stabilité, la solubilité et la défense des substances encapsulées (Jackson et Lee, 1991.)

Tableau 3 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes d'encapsulation des probiotiques(Koh et al., 2022)

La méthode de l'encapsulation	Avantages	Inconvénients
Le séchage par pulvérisation	•Adapté à la production industrielle à grande échelle. •Faible coût d'exploitation. •Procédé rapide et continu. •Préserve la viabilité des probiotiques pendant le stockage.	•Les vitesses élevées de l'air peuvent produire des microcapsules fines présentant une hétérogénéité de la taille et de la forme des particules.
Le refroidissement par pulvérisation	•Coût réduit •Assure une libération contrôlée des probiotiques dans l'intestin. •Adapté à la production industrielle à grande échelle. •Temps de traitement court.	•Faible efficacité d'encapsulation. •Nécessite des conditions de traitement et de stockage appropriées afin de préserver la stabilité des probiotiques. Les capsules présentent un faible point de fusion, ce qui peut affecter leur stabilité.
	•Faible consommation d'énergie. •Permet l'utilisation de basses températures, ce qui préserve la viabilité des	•Procédé relativement long (environ deux heures). •Les conditions de séchage peuvent entraîner une perte

Séchage sur lit fluidisé	probiotiques thermosensibles. •Améliore la résistance des probiotiques au milieu acide et permet une libération ciblée dans l'intestin. •Adapté à la production industrielle à grande échelle. Produit une couche d'enrobage homogène autour des capsules.	partielle de la viabilité des probiotiques. •Technique complexe, nécessitant une bonne maîtrise et un contrôle rigoureux des paramètres du procédé.
Conservation	•Très haute efficacité d'encapsulation. •Ne nécessite pas de températures élevées, ce qui préserve la viabilité des probiotiques. •Améliore la résistance des probiotiques aux conditions simulées du tractus gastro-intestinal. •Adaptée aux applications alimentaires non laitières.	•Technique coûteuse. •Difficulté de mise à l'échelle pour une production industrielle à grande échelle. •Sensible aux variations du pH, de la concentration en sels et de la température.
Extrusion (gélification Ionique externe)	•Technique simple et facile à mettre en œuvre. •Conditions opératoires douces, ne nécessitant ni températures élevées ni valeurs de pH extrêmes. •Préserve la viabilité des probiotiques.	•Produit des billes ou des capsules de grande taille, pouvant atteindre 5 mm. •Processus de gélification (durcissement) des billes relativement lent •Ne convient pas à la production industrielle à grande échelle.

	•Peut être appliquée en conditions aérobies et anaérobies. - Faible coût d'exploitation. •Assure une bonne protection des probiotiques lors du passage dans le tractus gastro-intestinal simulé. •Améliore la stabilité et la viabilité des probiotiques durant le stockage.	•Nécessite une étape de séchage supplémentaire.
Émulsification (gélification ionique interne)	•Assure une bonne protection contre le milieu acide, les sels biliaires et les enzymes digestives. •Garantit un taux élevé de survie des probiotiques pendant le stockage et après leur passage dans le tractus gastro-intestinal. •Permet de contrôler la taille des capsules et de produire des particules de très petite taille	•Coût d'exploitation élevé. •Peu adaptée aux produits alimentaires.
Séchage par lyophilisation	•Assure une bonne stabilité des probiotiques pendant le stockage. •Adapté à la conservation des probiotiques et des substances thermosensibles. •Préserve la viabilité des probiotiques pendant de	•Peut provoquer des dommages cellulaires et une diminution de la viabilité des probiotiques en raison de la formation de cristaux de glace lors de la congélation. •Coût élevé.

	longues périodes de stockage.	•Ne convient pas à la production industrielle à grande échelle.
--	-------------------------------	---

2.8. Critères de choix de la méthode selon l'application

- La sensibilité thermique de la souche probiotique

La sensibilité thermique de la souche probiotique constitue l'un des principaux critères de choix de la méthode d'encapsulation. Ainsi, pour les souches thermosensibles, il est préférable d'utiliser des techniques d'encapsulation réalisées à basse température, telles que l'extrusion à froid ou la lyophilisation, afin de préserver la viabilité et l'intégrité des cellules (**Burgain et al., 2011**).

- La taille des particules ciblée et l'impact sensoriel

La taille des capsules ne doit pas dépasser 100 µm afin d'éviter une sensation de granulosité en bouche. Par conséquent, l'émulsification et la pulvérisation sont préférées à l'extrusion conventionnelle, qui produit généralement des billes de grande taille (supérieures à 1 mm) (**Hansen et al., 2002**).

- Le rendement de production et la viabilité initiale

Chaque méthode d'encapsulation génère un stress mécanique ou osmotique qui influence la viabilité des bactéries. L'extrusion est l'une des techniques qui préserve le mieux la survie cellulaire grâce à la douceur du procédé, mais son rendement de production reste faible. En revanche, l'atomisation permet une production industrielle à grande échelle, mais elle entraîne une diminution de la viabilité bactérienne en raison du choc thermique et du stress de déshydratation (**Anal et Singh, 2007**).

- Site et cinétique de libération

Le site de libération des probiotiques influence le choix de la méthode d'encapsulation. Ainsi, les techniques de gélification ou de double émulsification sont privilégiées pour former des capsules multicouches, assurant une protection contre l'acidité gastrique et une libération ciblée uniquement lors de l'augmentation du pH ou de la dégradation enzymatique dans la région intestinale ciblée.

3. Alginate de sodium comme matrice d'encapsulation

3.1. Source, structure chimique et propriétés physicochimiques

L'alginate est un polysaccharide naturel composé de deux monomères : l'acide alpha-L-galuronique, l'acide alpha-D-manuronique (M) et l'acide (G). L'alginate est transformé en un copolymère lié par 1→4 liaisons (Figure 1) de ces deux monomères dans des proportions différentes selon le type d'algue brune à

partir duquel il est extrait. La structure de l'alginate, plus précisément la distribution M et G, a été examinée par résonance magnétique nucléaire des protons

L'alginate se caractérise par sa capacité à interagir avec des espèces cationiques divalentes pour former un gel.

Ce qui rend l'alginate intéressant est sa capacité à former un gel en interagissant avec des espèces cationiques divalentes (Milivojević et al., 2023).

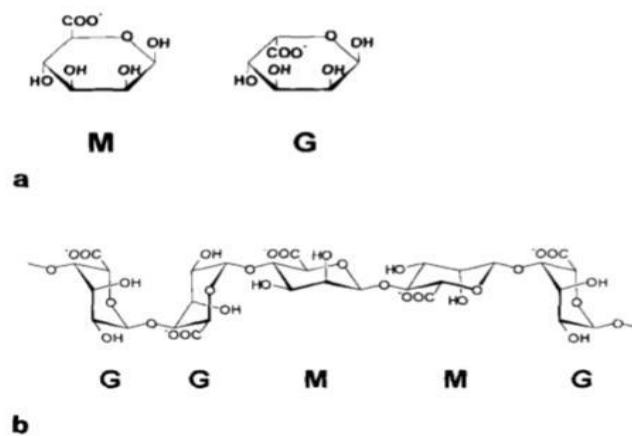


Figure 8. Structure chimique de l'alginate : unités monomériques d'acide mannuronique (M) et d'acide guluronique (G) ainsi que la séquence polymérique des blocs M et G (Colin et al., 2024)

3.2. Mécanisme de gélification ionique (interaction Ca^{2+} /alginate)

- former un hydrogel

La façon la plus simple de former un hydrogel d'alginate est la réticulation ionique (réticulation ionique), où une solution d'alginate de sodium est versée dans une solution contenant des ions M^{2+} divalents (tels que Ca^{2+}). Des granules se forment à la suite de la réaction d'ions avec des chaînes géniques

- Le modèle de la boîte à œufs

La fixation du calcium aux alginates s'explique par le modèle de la « boîte à œufs », où les chaînes d'alginate riches en unités G (acide guluronique) s'assemblent pour former des espaces qui piègent les ions Ca^{2+} .

Chaque ion Ca^{2+} se lie à deux chaînes d'alginate, formant ainsi un réseau tridimensionnel fort

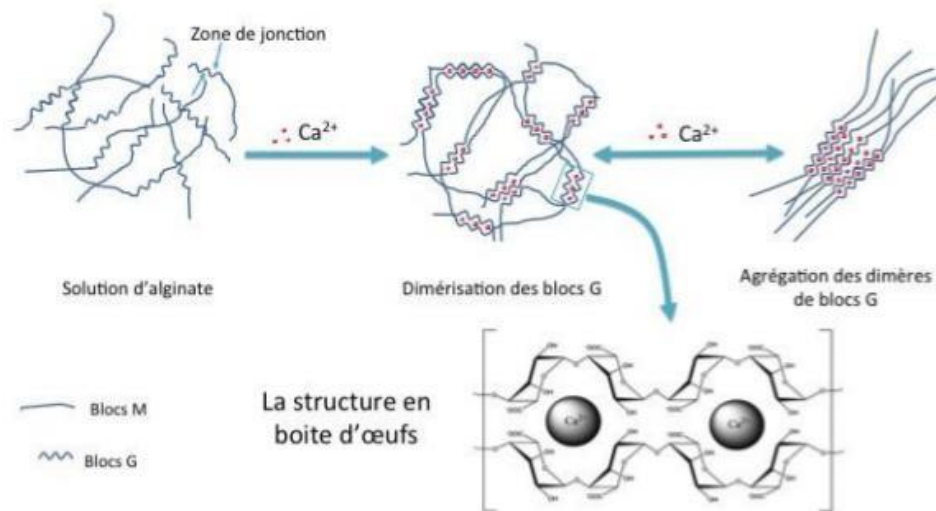


Figure 9: Mécanisme de la gélification ionotropique (Atia,2016)

3.3. Propriétés mucoadhésives et comportement gastro-intestinal

sont des systèmes d'encapsulation basés sur des matériaux capables d'adhérer au mucus tapissant le tractus digestif. Cette adhésion a lieu suite à différentes réactions comme les liaisons hydrogène, les réactions d'hydrophobie et les liaisons électrostatiques. Ce type d'encapsulation aide à étendre le temps que les capsules passent dans l'intestin et à renforcer leur interaction avec la muqueuse, ce qui améliore la stabilité des probiotiques et favorise leur colonisation du mucus intestinal tout en amplifiant leur efficacité biologique (Atia,2016).

3.4. Applications dans l'encapsulation des probiotiques

Les hydrogels d'alginate sont utilisés dans de nombreux domaines:

- **secteur alimentaire** : les hydrogels d'alginate sont utilisés dans l'emballage alimentaire, améliorant la qualité, prolongeant la durée de conservation et réduisant l'oxydation et la croissance microbienne. Ils sont également utilisés comme épaississants et stabilisants alimentaires.
- **Dans le domaine médical** : Ils sont utilisés dans la cicatrisation des plaies, la régénération tissulaire et les applications biomédicales, ainsi que dans la fabrication de capteurs aux propriétés antibactériennes.
- **Dans la construction** : Les capsules d'alginate de calcium contenant des bactéries sont utilisées dans le béton autorégénétable pour réparer les fissures et restaurer une certaine résistance mécanique.

-En agriculture : Il est utilisé comme vecteur pour la libération contrôlée de pesticides et de micro-organismes bénéfiques, ce qui améliore sa stabilité et son efficacité à favoriser la croissance des plantes, à résister aux maladies fongiques et à augmenter la productivité des cultures (Nezamdoost et al.,) 2023.

4. Mucilages de graines d'anis vert (*Pimpinella anisum* L.) comme agent prébiotique et co-matrice

4.1. Présentation botanique de *Pimpinella anisum* L

Plante anis (*Pimpinella anisum* L.) Une puissante herbe aromatique annuelle, avec du duvet, atteignant une hauteur de 60 cm. Elle est originaire de Grèce et porte des fruits de janvier à mars. La composition de l'huile essentielle d'anis varie en fonction des zones géographiques où elle est récoltée.

. La plante d'anis a été décrite dans la médecine grecque comme une ancienne plante aromatique, entre 12 et 15 pouces de long, avec une tige semi-carrée, des feuilles minces et parfumées, des fleurs blanches, et des graines triangulaires avec une odeur agréable.

La plante anis appartient à (*P. anisum* L.) à la classe des dicotylédones ; l'ordre des Apiaceae ; la famille des Apiaceae ; et le genre *Pimpinella* (Asad et al., 2022).



Figure 10: Plante (A), fleur (B) et graines de *Pimpinella anisum* (C la forme des graines sur la plante ; D les graines séchées) (Soussi et al., 2023)

4.2. Composition chimique des graines et des mucilages

Les graines d'anis contiennent un pourcentage allant de . 1,5 % et 6,0% d'huile volatile, le trans-anéthole (trans-anéthole) étant le principal composé à 90 %. Il contient également 8 –11% pour cent de graisses riches en acides gras tels que l'acide palmitique et l'acide oléique, en plus d'environ 4% pour cent de glucides et 18% pour cent de protéines .

En outre, l'huile essentielle comprend d'autres composés dans des proportions plus faibles tels que l'estragol (estragole), l'eugénol (eugénol), l'anisaldéhyde (anisaldéhyde), le méthylchavicol (méthylchavicol), le limonène (limonène) et certains terpènes et coumarines (**Shojaii et Abdollahi Fard, 2012**)

Pour le mucilage, l'analyse de la composition en monosaccharides de la gomme dans l'anis a révélé la présence de plusieurs sucres, notamment le lactose (33,47 %), le bêta-D-glucose (26,71 %) et l'alpha-D-manose (18,21 %). D'autres sucres ont également été identifiés dans des proportions plus faibles, notamment le bêta-D-galactose, le D-fructose, l'alpha-D-glucose, l'alpha-L-fucose et l'arabinose. Cette composition indique que le matériau de gomme contient principalement du galactomannane et des polysaccharides hétérogènes complexes, qui sont de bons composants des parois cellulaires végétales (**Ghlissi et al., 2020**).

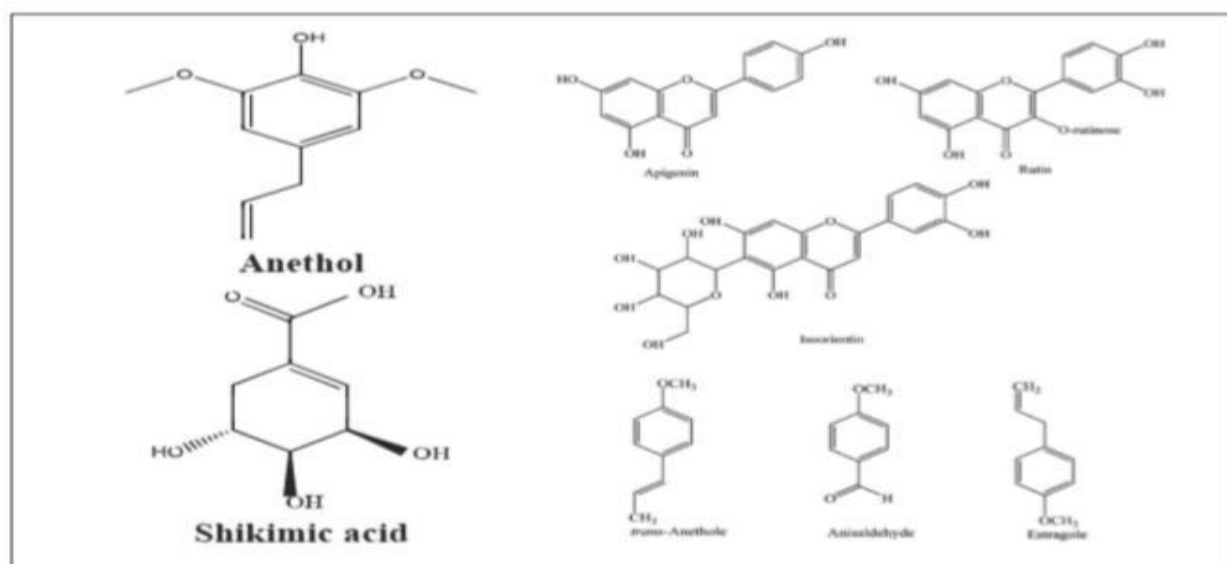


Figure 11 : Compositions chimiques des composants de l'anis (**Shojaii et Abdollahi Fard, 2012**)

4.3. Extraction et caractérisation physicochimique des mucilages

Le procédé d'extraction du mucus repose principalement sur une extraction aqueuse à chaud suivie d'une précipitation alcoolique afin de préserver la structure du sucre.

Les graines dégraissées sont mélangées à de l'eau distillée dans un rapport précis (1:10). L'extraction est réalisée à température contrôlée (entre 60 et 80 °C) pendant plusieurs heures afin d'améliorer la solubilité des sucres du mucilage. Précipitation et séchage : Le filtrat aqueux est séparé par centrifugation, puis de l'éthanol froid est ajouté dans un rapport (1:3) pour précipiter le mucilage végétal. Le précipité de mucilage est recueilli, lavé, puis séché à chaud pour obtenir une poudre de mucilage sèche (**Ghlissi et al., 2020**).

Une étude de Ghilissi et al. a indiqué que le rendement d'extraction de cette gomme est d'environ 8,84 %, avec un rapport humidité/réactivité allant jusqu'à 64,75 %, tandis qu'elle est caractérisée par une faible teneur en protéines et en composés soufrés, indiquant la prédominance du sucre pur dans ce composé colloïdal (Ghilissi et al., 2020).

4.4. Propriétés prébiotiques : fermentescibilité et stimulation sélective du microbiote

4.4.1. Fermentabilité et cinétique de décomposition

Les mucopolysaccharides de l'anis résistent à l'hydrolyse acide dans l'estomac et aux enzymes dans l'intestin grêle, ce qui leur permet d'atteindre le côlon 100 % intacts (Kassem et al., 2021).

Les sucres complexes sont fermentés par le microbiote intestinal. Ce processus entraîne la production massive d'acétate, de propionate et, dans une moindre mesure, de butyrate. Ces métabolites abaissent le pH de la lumière intestinale, les acides gras à chaîne courte tels que l'acétate, le propionate et le butyrate, qui contribuent à améliorer la santé intestinale, à renforcer la fonction de barrière intestinale et à réguler la réponse immunitaire. Ces sucres aident également à stimuler la croissance de bactéries bénéfiques telles que les bifidobactéries et les lactobacilles (Singhet et al., 2025).

4.4.2. Stimulation sélective du microbiote

- Composition moléculaire distinctive

Les mucilages extraits des graines d'anis se caractérisent par leur richesse en polysaccharides contenant des unités de galactose, de glucose et de mannose, ce qui leur confère des propriétés nutritionnelles favorables à l'alimentation de certains micro-organismes bénéfiques de l'intestin (Park et al., 2025).

- Promotion de la croissance des bactéries bénéfiques

La fermentation de ces polysaccharides contribue à stimuler la prolifération de certains groupes bactériens bénéfiques, notamment les bactéries du genre *Bifidobacterium* et certains membres de la famille des Lachnospiraceae, connus pour leur capacité à produire des acides gras à chaîne courte bénéfiques pour la santé du côlon. (Park et al., 2025).

- Soutien des bactéries du genre *Bacteroides*

Certaines espèces bactériennes telles que *Bacteroides thetaiotaomicron* et *Bacteroides ovatus* possèdent des systèmes spécialisés d'utilisation des polysaccharides (PULs), leur permettant de dégrader les liaisons complexes du galactose et du mannose présents dans le mucilage d'anis et de les utiliser comme source

d'énergie, ce qui favorise leur croissance au sein de l'écosystème intestinal (**Álvarez-Mercado et Plaza-Díaz, 2022**).

4.5. Activités biologiques complémentaires (antioxydante, antimicrobienne)

4.5.1. Activités antioxydantes

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui constituent un type de radicaux libres, jouent un rôle majeur dans le stress oxydatif, lequel est associé à de nombreuses pathologies telles que le diabète, le cancer et les maladies cardiovasculaires. De nombreuses études ont montré que les graines d'anis (*Pimpinella anisum* L.) présentent une importante activité antioxydante en raison de leur forte teneur en composés bioactifs. Les extraits aqueux et éthanoliques de l'anis ont démontré une capacité élevée à éliminer les radicaux libres, à neutraliser le peroxyde d'hydrogène et à chélater les ions métalliques. Cette activité est principalement attribuée aux composés phénoliques et aux polysaccharides présents dans les graines. Ainsi, le mucilage d'anis pourrait contribuer à la réduction du stress oxydatif (**Vecchio et al., 2016**).

4.5.2. Activités antimicrobiennes

Bien que les huiles essentielles d'anis soient connues pour leur forte activité antibactérienne, le mucilage et les polysaccharides qui en sont extraits ont également démontré leur capacité à inhiber la croissance microbienne et à limiter le développement de différents types de micro-organismes (**Ghlissi et al., 2020**).

De nombreuses études ont montré que le mucus des graines d'anis a une activité inhibitrice contre la croissance bactérienne, montrant l'efficacité contre plusieurs souches bactériennes, y compris les bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, ainsi que des bactéries à Gram négatif telles que *Escherichia coli*, démontrant ses propriétés prometteuses en tant qu'antimicrobien naturel. (**Amer et Aly, 2019**).

5. Formulation symbiotique : co-encapsulation dans la matrice alginate–mucilages

5.1. Synergie entre alginate et mucilages comme co-matrices

.Réduction des espaces réticulaires

L'association de l'alginate de calcium et de la gomme d'anis contribue à la formation d'un réseau polymère interconnecté (Polymer Network), caractérisé par une amélioration marquée des propriétés structurelles et de protection au sein de la capsule. L'introduction de gommages riches en polysaccharides hydrophiles réduit la porosité de la matrice d'alginate en remplissant les espaces interstitiels au sein du gel, limitant ainsi le transport des nutriments et des agents nocifs vers les cellules microbiennes encapsulées

.Les liaisons hydrogène conduisent également à la formation d'un réseau polymère interconnecté en raison de fortes liaisons physiques entre les groupes hydroxyle (-OH) et carboxyle (-COOH) de l'alginate et de la gomme d'anis, ce qui améliore la cohésion du réseau et sa stabilité (Nasiri et al., 2021).

-L'efficacité d'encapsulation (Encapsulation Efficiency)

Le mucilage de graines d'anis contribue à augmenter la viscosité du milieu avant l'étape de goutte-à-goutte, ce qui améliore l'efficacité d'encapsulation et favorise la rétention des cellules de *Lactiplantibacillus plantarum* lors de la gélification ionique. De plus, l'incorporation de prébiotiques dans la matrice d'alginate constitue une stratégie efficace pour renforcer la stabilité des probiotiques. Des études ont montré que l'association des mucilages végétaux avec l'alginate, notamment à un ratio de 1:1, améliore significativement la survie cellulaire. Cette amélioration est attribuée à la synergie entre les deux composants, à travers des effets rhéologiques, ioniques et prébiotiques qui renforcent la structure du réseau gélifié et optimisent la protection des bactéries (Sekhavatizadeh et al., 2026).

5.2. Influence de la matrice sur la viabilité des probiotiques encapsulés

-Protection contre les conditions gastriques

L'utilisation de mucilages au sein de la matrice d'encapsulation réduit la porosité des billes d'alginate et limite la diffusion des ions H^+ vers les cellules encapsulées. Cela renforce la résistance des probiotiques au milieu gastrique acide et améliore leur survie ainsi que leur viabilité lors du passage dans des conditions simulées du tractus gastro-intestinal (Nasiri et al., 2021).

-Stabilité au stockage et barrière à l'oxygène

Pendant le stockage, l'exposition à l'oxygène et à l'humidité résiduelle provoque un stress oxydatif néfaste pour les souches probiotiques anaérobies. Les matrices constituées de polymères contribuent à réduire la perméabilité à l'oxygène et à la vapeur d'eau. Cela permet de préserver la viabilité des cellules et de prolonger la durée de conservation des produits contenant des probiotiques (Sultana et al., 2000).

- Tolérance aux sels biliaires

La matrice alginate-mucilage constitue une barrière physique dense qui limite la diffusion des sels biliaires vers les cellules probiotiques. Cette protection réduit leur effet détergent sur les membranes cellulaires, préserve l'intégrité des cellules encapsulées et améliore leur viabilité lors de leur passage dans l'intestin (Burgain et al., 2011).

5.3. Comportement de libération en conditions simulées gastro-intestinales

5.3.1. Comportement en milieu gastrique simulé (SGF, pH = 1,5–2,0)

- Mécanisme de protonation et de contraction structurale

Dans le milieu gastrique simulé (SGF, pH = 1,5–2,0), les billes d'alginate subissent une protonation des groupes carboxylates ($-\text{COO}^-$) en raison de la forte concentration en ions hydrogène (H^+). Cette protonation entraîne la conversion des groupes carboxylates en groupes carboxyliques ($-\text{COOH}$), ce qui réduit les répulsions électrostatiques entre les chaînes polymériques et provoque une contraction du réseau gélifié (Du et al., 2023).

Par ailleurs, un échange ionique peut également se produire entre les ions calcium (Ca^{2+}), responsables de la réticulation du réseau d'alginate, et les ions hydrogène (H^+) présents dans le milieu gastrique. Malgré cet échange, le réseau polymérique demeure cohésif, insoluble et relativement stable dans le milieu acide (Sukasri et al., 2023).

5.3.2. Comportement en milieu intestinal simulé (SIF, pH = 6,8–7,4)

- Échange ionique et désenchevêtrement du réseau

L'échange ionique entre les ions calcium (Ca^{2+}), qui assurent la réticulation du réseau d'alginate, et les ions sodium (Na^+) présents dans le liquide intestinal simulé (SIF) entraîne un affaiblissement des liaisons de réticulation au sein de la matrice. Ce phénomène accélère le gonflement de celle-ci ainsi que la libération des substances encapsulées, y compris les cellules probiotiques (Almekhlafi et al., 2026).

5.3.3. Gonflement et érosion

La déprotonation des groupes carboxyliques entraîne la régénération de charges négatives répulsives ($-\text{COO}^-$), favorisant une forte absorption d'eau. Grâce à sa nature hydrophile, le mucilage encapsulé contribue à augmenter la rétention d'eau, ce qui accentue le gonflement de la microcapsule et favorise son érosion progressive (Londoño-Moreno et al., 2023).

5.3.4. Libération ciblée et effet synbiotique

La dissolution progressive de la matrice polymérique dans le milieu intestinal entraîne la désintégration des microcapsules, permettant ainsi la libération des probiotiques dans l'intestin. Cette libération s'accompagne de celle du mucilage végétal partiellement hydrolysé, qui agit comme un prébiotique fermentescible, fournissant un substrat nutritif favorable à la croissance des bactéries probiotiques et favorisant leur colonisation ainsi que leur activité métabolique au niveau intestinal. Ainsi, l'effet synbiotique de la formulation est pleinement assuré (Ahmadi et al., 2025).

5.4. Perspectives d'application dans les aliments fonctionnels

.Stabilisation des matrices laitières innovantes

Les produits laitiers constituent l'une des principales applications des systèmes de co-encapsulation dans les aliments fonctionnels. L'encapsulation des probiotiques dans des matrices à base d'alginate, éventuellement renforcées par des mucilages, contribue à préserver la viabilité des cellules durant le stockage, à améliorer leur résistance aux conditions simulées de la digestion, tout en limitant la post-acidification et en préservant les propriétés sensorielles. Des applications dans le yaourt, le fromage, la ricotta et la crème glacée ont donné des résultats prometteurs (**Hadad et al., 2021**).

- Fortification des matrices non laitières et alternatives végétales

Jus de fruits et de légumes

Les matrices alimentaires non laitières, notamment les jus de fruits et de légumes, présentent un fort potentiel pour l'application de la co-encapsulation des probiotiques dans des matrices à base d'alginate. Cette approche contribue à préserver la viabilité cellulaire, à améliorer leur stabilité en milieu acide et à renforcer la qualité des boissons fonctionnelles (**Ahmadi et al., 2025**).

-Chocolat

Le chocolat constitue une matrice alimentaire fonctionnelle adaptée au transport des probiotiques encapsulés. Sa teneur élevée en matières grasses, sa faible activité de l'eau ainsi que l'encapsulation à base d'alginate contribuent à préserver la viabilité et la stabilité des probiotiques durant la transformation et le stockage, tout en maintenant la qualité sensorielle du produit (**Ahmadi et al., 2025**).

-Les produits de boulangerie

Les produits de boulangerie représentent l'une des applications prometteuses des matrices alginate–mucilage dans le domaine des aliments fonctionnels. Ces matrices contribuent à protéger les probiotiques contre le stress thermique associé à la cuisson, ce qui permet de préserver leur viabilité et d'améliorer leur survie au cours du stockage (**Wang et al., 2022**).

Partie 2

Partie expérimentale

Partie expérimentale

1. Objectifs

Ce travail a pour objectif d'évaluer l'efficacité de l'encapsulation des probiotiques à l'aide de matrices naturelles constituées d'alginate et de mucilage des graines d'anis, en étudiant leur effet protecteur sur les cellules probiotiques et leur capacité à préserver leur viabilité lors de l'exposition aux conditions gastriques simulées ainsi qu'au cours du stockage.

L'étude consiste à :

Extraire le mucilage des graines d'anis selon une méthode appropriée.

Préparer des capsules de probiotiques à base d'alginate seul et d'un mélange d'alginate et de mucilage des graines d'anis.

Évaluer l'efficacité de l'encapsulation en déterminant le taux d'encapsulation (TE %).

Étudier la survie des probiotiques encapsulés en milieu gastrique simulé (pH = 2) et la comparer à celle des probiotiques libres.

Assurer le suivi de la viabilité des probiotiques encapsulés au cours du stockage réfrigéré à 4 °C.

Caractériser les propriétés physico-chimiques des capsules, notamment l'indice de gonflement, la morphologie, le diamètre et la solubilité dans le citrate de sodium.

2. Matériel et méthodes

Les graines d'anis (*Pimpinella anisum*) utilisées dans cette étude ont été achetées sous forme de poudre auprès d'un herboriste de la ville de Mostaganem, spécialisé dans la vente de plantes aromatiques et médicinales. La poudre a été conservée dans son emballage d'origine à température ambiante jusqu'à son utilisation.

1.2. Souche utilisée

Une souche de *Lactiplantibacillus plantarum* a été utilisée dans cette étude. La souche, fournie par notre laboratoire, a été conservée à -80 °C avant sa revivification et son utilisation dans les essais d'encapsulation.

1.3. Milieux de culture et réactifs

1.3.1. Milieux de culture

Bouillon MRS.

Gélose MRS.

1.3.2. Réactifs et matériaux d'encapsulation

Alginate de sodium.

Mucilage des graines d'anis.

Chlorure de calcium (CaCl₂)

3. Extraction des mucilage de grain d'anis

Selon la méthode décrite par (Ghissi *et al.*, 2020), avec quelques modifications, 50 g de poudre de graines ont été mélangés à 500 mL d'eau distillée (1:10 m/v). La suspension obtenue a été chauffée à 40 °C sous agitation modérée pendant 2 heures, puis soigneusement filtrée pour extraire la fraction soluble. L'extraction a été répétée une seconde fois dans les mêmes conditions afin d'optimiser l'extraction de la mucilage . Le filtrat obtenu a ensuite été précipité par addition progressive d'éthanol à 96 % selon un rapport volumique (éthanol:filtrat) de 3:1. Le mélange a été laissé au repos pendant 24 heures à 4 °C pour permettre la précipitation. La suspension a ensuite été centrifugée à 20 000 g pendant 20 minutes à 4 °C.

Après le produit a été lavé avec un mélange d'éthanol et d'eau (70:30 v/v) afin d'éliminer les impuretés dissoutes.

Enfin, il a été séché au bain-marie à 50 °C jusqu'à obtention d'une masse stable.



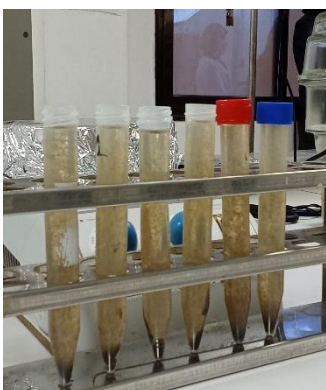
1- Extraction.



2- Filtration.



3- Précipitation



4- Centrifugation.



5- Séchage .



6- Mucilage

Figure 12: Étapes de l'extraction de la mucilage des graines d'anis

4. Évaluation des activités biologiques

4.1. Évaluation de l'activité antioxydante (DPPH)

Principe

Le test DPPH est basé sur la capacité du mucilage à réduire le radical libre stable DPPH, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm.

Protocole

Le dosage antioxydant a été réalisé selon la méthode DPPH décrite par (Brand-Williams et al., 1995). Une solution de DPPH à 0,1 mM (4 mg dans 100 ml d'éthanol) a été préparée. L'extrait, préparé à une concentration de 1 mL/mg (10 extrait dans 10 ml d'eau distillée), a été dilué en série de 1 mg/mL à 10^{-6} mg/mL. Un millilitre de chaque dilution a été mélangé à 2 mL de DPPH. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le taux d'inhibition a été calculé à l'aide de la formule suivante :

Équation : $\text{Inhibition (\%)} = (1 - (A_{\text{échantillon}}/A_{\text{control}})) \times 100$

La valeur IC_{50} a été déterminée graphiquement.



Figure 13: Dosage de l'activité antioxydante

4.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

Principe

L'activité anti-inflammatoire du mucilage de *Pimpinella anisum* L. a été évaluée par le test d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes humains induite par la chaleur, selon une méthode adaptée de (Bentaïba et al.,

2023). Cette méthode repose sur la capacité du mucilage à stabiliser la membrane des globules rouges et à limiter leur hémolyse sous l'effet d'un stress thermique.

Protocole

Un échantillon de sang a été prélevé puis centrifugé à 3000 tr/min. Les globules rouges ont ensuite été lavés trois fois avec une solution saline de NaCl à 0,9 %.

Une suspension de globules rouges à 10 % a été préparée dans une solution tampon phosphate salin (PBS, 10 mM, pH = 7,4).

Pour chaque concentration de mucilage, 50 µL de l'échantillon ont été mélangés avec 50 µL de la suspension de globules rouges et 2950 µL de tampon phosphate (pH 7,4). Les mélanges ont été incubés à 54 °C pendant 20 min, puis centrifugés à 2500 tr/min pendant 3 min.

L'absorbance du surnageant a été mesurée à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse (HI) a été calculé selon la formule suivante

$$\text{HI}(\%) = \left(1 - \frac{A_s}{A_0} \right) \times 100$$

HI (%) : Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse.

A_0 = est l'absorbance du témoin (100 % d'hémolyse).

A_s = est l'absorbance de l'échantillon.

5. Cinétique et activité prébiotique

5.1. Préparation des Milieux de Culture

Pour chaque condition testée (M et P), préparer un volume final de 100 mL de milieu. De même, préparer 100 mL pour les témoins (CN et CP).

5.2. Préparation des Substrats et Stérilisation

- Préparation des Solutions Mères de Extrait

Peser avec précision 50 mg de l'extrait à l'aide d'une balance analytique.

Dissoudre l'extrait dans 10 mL d'eau distillée stérile afin d'obtenir une concentration finale de 5 mg/mL.

La solution préparée doit être conservée à 4 °C jusqu'à utilisation

- Sterilisation par tyndallisation (3 cycles)

La tyndallisation permet de stériliser la solution sans filtration, en éliminant progressivement les formes végétatives et les spores par chauffages successifs.

Préparation de la solution de travail (2 mg/mL)	Chauffage	Refroidissement / Incubation
Cycle 1	80 °C -30 min (bain-marie)	Refroidir puis incuber 24 h à température ambiante
Cycle 2	80 °C - 30 min	Refroidir puis incuber 24 h à température ambiante
Cycle 3	80 °C - 30 min	Refroidir — solution prête

- Préparation de la solution de travail (2 mg/mL)

À partir de la solution mère stérilisée, dont la concentration est de 5 mg/mL, une solution de travail à 2 mg/mL a été préparée. Pour ce faire, 4 mL de la solution mère ont été prélevés, puis complétés avec 6 mL d'eau distillée stérile afin d'obtenir un volume final de 10 mL. La préparation a ensuite été homogénéisée soigneusement jusqu'à obtention d'une solution uniforme. La solution de travail ainsi préparée a été conservée à 4 °C jusqu'à son utilisation.

5.3. Préparation de la culture bactérienne

- Preculture

Une colonie bactérienne isolée est inoculée dans 5 mL de milieu MRS complet. La culture est ensuite incubée pendant 24 heures à 37 °C, sans agitation, dans des conditions d'incubation appropriées. La culture obtenue est par la suite utilisée comme inoculum pour les essais expérimentaux.

- Standardisation de l'inoculum

Mesurer la DO₆₀₀ de la preculture à l'aide d'un spectrophotomètre.

Diluer, si nécessaire, dans une solution MRS sans glucose afin d'obtenir une absorption optique à 600 nm de 0,1 exactement.

5.4. Préparation des tubes de test

Chaque condition est préparée en triplicat ($n = 3$). Volume final par tube : 2 mL.

Tableau 04: Composition d'un tube de test (volume final = 2 mL).

Composant	Volume
MRS sans glucose	1,8 ml
Solution d'extrait ou contrôle (2 mg/mL)	0,1 ml
Inoculum standardise (DO600 = 0,1)	0,1 ml

Tableau 05: Conditions expérimentales utilisées pour l'évaluation de l'activité prébiotique

Tube	Source de carbone ajoutée	Rôle
Extrait	Solution extrait 2 mg/mL	Condition test - activité prébiotique ?
Glucose	Solution glucose 2 mg/mL	Contrôle positif de croissance
Inuline	Solution inuline 2 mg/mL	Référence prébiotique établie
Milieu seul	Eau distillée stérile	Contrôle négatif
Extrait sans bactérie	Solution extrait 2 mg/mL	Contrôle d'absorbance propre extrait

5.5. Suivi cinétique de la croissance (T0 à T24h)

La croissance est suivie à cinq points de temps afin d'obtenir une courbe de cinétique complétée et de caractériser les différentes phases de croissance (latence, exponentielle, stationnaire).

Tableau 06: Points de mesure et suivi cinétique de la croissance bactérienne (T0–T24).

Point de mesure	Heure d'incubation	Action
T0	0 h avant incubation	Mesure initiale — référence de base
T6	6h après mise en incubation	Sortir les tubes, mesurer, remettre à 37°C
T12	12h après mise en incubation	Sortir les tubes, mesurer, remettre à 37°C
T18	18h après mise en incubation	Sortir les tubes, mesurer, remettre à 37°C
T24	24 h après mise en incubation	Mesure finale fin de l'expérience

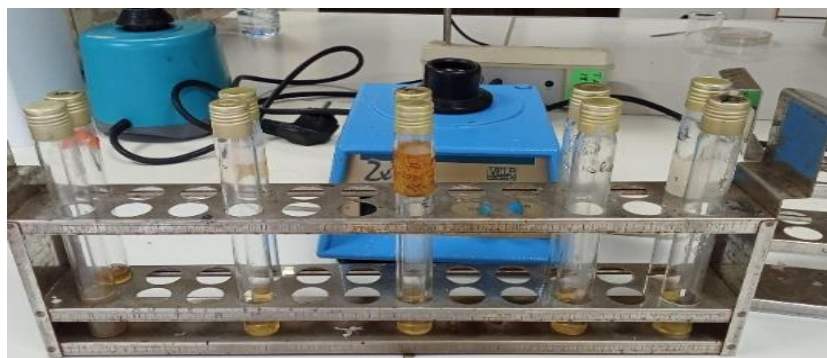


Figure 14: Suivi cinétique de la croissance

6. Protocole d'encapsulation de *Lactobacillus plantarum*

L'encapsulation de *Lactiplantibacillus plantarum* a été réalisée selon la méthode décrite par (Malos et al., 2025), avec quelques modifications adaptées à la présente étude

6.1. Préparation du "Cœur" Probiotique

Les colonies des souches probiotiques ont été réensemencées dans un milieu MRS, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures, afin d'obtenir des cultures fraîches et viables.

À l'issue de l'incubation, les cultures obtenues ont été soumises à deux étapes successives de centrifugation à 5 000 tr/min pendant 15 minutes. Cette opération a permis de récupérer le culot bactérien correspondant à la biomasse cellulaire.

Le culot bactérien a ensuite été lavé à l'aide d'une solution physiologique stérile de NaCl à 0,9 %, afin d'éliminer les résidus du milieu de culture. Après lavage, les bactéries ont été remises en suspension dans 10 mL de solution physiologique stérile, permettant ainsi d'obtenir une suspension bactérienne fortement concentrée, estimée à environ 10^{10} UFC/mL.

6.2. Préparation des solutions d'enrobage : Alginate et mucilage de grain d'anis

- Préparation de la solution d'alginate

Une solution d'alginate de sodium à 2 % (m/v) a été préparée en dissolvant 2 g d'alginate de sodium dans 100 mL d'eau distillée stérile. Le mélange a été soumis à une agitation vigoureuse jusqu'à dissolution complète et obtention d'une solution homogène.

- Préparation de la solution d'alginate enrichie en mucilage prébiotique

La solution d'alginate préalablement préparée a été enrichie en mucilage prébiotique. À cet effet, 1,5 g de poudre de mucilage ont été incorporés directement à la solution d'alginate. Le mélange a ensuite été agité jusqu'à l'obtention d'une préparation homogène, sans présence de particules ou d'agglomérats visibles.

- Préparation de la solution de chlorure de calcium

Une solution de chlorure de calcium (CaCl_2), destinée au bain de réticulation, a été préparée en dissolvant 2,2 g de CaCl_2 dans 200 mL d'eau distillée. La solution obtenue a été homogénéisée avant sa stérilisation.

- Stérilisation des solutions

La solution d'alginate ainsi que la solution d'alginate enrichie en mucilage ont été stérilisées par filtration stérile à travers une membrane de 0,22 μm , lorsque cela était applicable. En revanche, la solution de chlorure de calcium a été stérilisée par autoclavage à 121 °C pendant 15 min.

Après stérilisation, les solutions ont été laissées à refroidir jusqu'à température ambiante avant leur utilisation pour les étapes ultérieures de préparation.

6.3. Mélange

La suspension de probiotiques a été ajoutée à la solution d'alginate enrichie en mucilage, puis homogénéisée délicatement pendant 5 à 10 minutes à l'aide d'un agitateur stérile afin d'assurer une répartition uniforme des bactéries et du mucilage dans la matrice d'alginate. Le mélange obtenu a ensuite été transféré dans une seringue stérile pour la formation des capsules.

Le même protocole a été appliqué pour la préparation des capsules probiotiques–alginate, mais sans ajout de mucilage à la solution d'alginate.

6.4. Gélification (formation des billes)

Le bécher contenant la solution de chlorure de calcium est placé sur un agitateur magnétique, réglé à une très faible vitesse d'agitation afin de limiter les contraintes mécaniques susceptibles d'endommager ou de déformer les billes formées.

À l'aide d'une seringue munie d'une aiguille, le mélange est ensuite introduit goutte à goutte dans la solution de chlorure de calcium. Afin d'assurer une formation régulière des billes, l'extrémité de l'aiguille est maintenue à une distance d'environ 10 à 15 cm de la surface de la solution.

Les billes ainsi formées sont maintenues dans la solution de chlorure de calcium pendant **20 à 30 minutes**. Cette durée permet la diffusion progressive des ions calcium au sein des billes et favorise ainsi la formation d'un réseau gélifié jusqu'à leur partie centrale.

6.5. Récupération et Conservation

Les billes formées sont recueillies par filtration, puis abondamment lavées avec une solution saline physiologique stérile afin d'éliminer toute trace de chlorure de calcium. Elles sont ensuite conservées dans un récipient stérile à 4°C

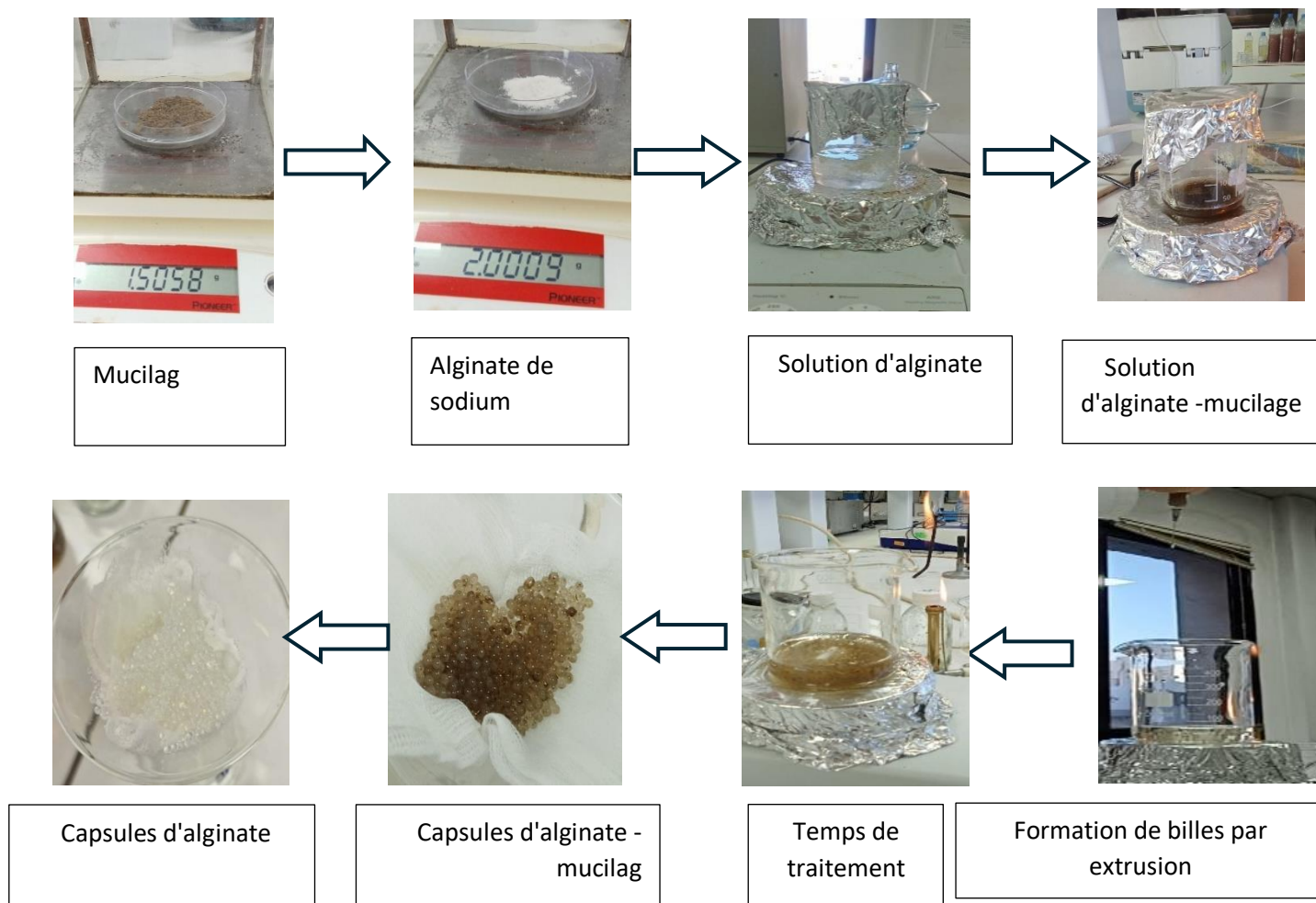


Figure 15: Étapes de l'encapsulation de *Lactobacillus plantarum* par la technique d'extrusion

7. Tests de viabilité des probiotiques

Ces tests sont réalisés par dénombrement (comptage des colonies sur gélose MRS) après avoir dissous les billes dans du citrate de sodium 1% (Diaz-Negrete et al., 2025).

7.1. Détermination du taux d'encapsulation (TE %)

7.1.1. Dénombrement des probiotiques libres (avant encapsulation)

La suspension de probiotiques cultivée en milieu liquide a été transférée dans des tubes de centrifugation puis centrifugée à 10 000 rpm pendant 5 min. Après centrifugation, le surnageant a été éliminé et le culot cellulaire a été lavé à l'eau physiologique stérile.

Les cellules ont ensuite été remises en suspension dans 9 mL d'eau physiologique stérile afin d'obtenir la suspension mère. Des dilutions décimales successives ont été préparées en transférant 1 mL de la suspension dans un tube contenant 9 mL d'eau physiologique stérile pour obtenir une dilution de 10^{-1} . Les dilutions successives ont été réalisées selon le même principe jusqu'à la dilution 10^{-6} .

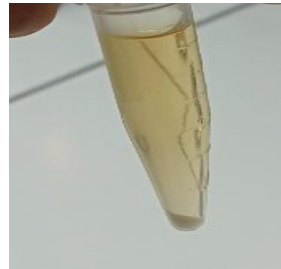
Un volume de 0,1 mL des dilutions 10^{-1} , 10^{-3} et 10^{-5} a été ensemencé en surface sur des boîtes de Petri contenant le milieu MRS, puis étalé à l'aide d'un étaleur stérile. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 48 heures.



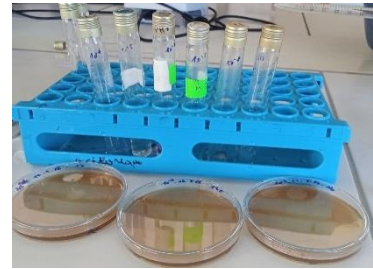
Suspension de probiotiques
Surface



Centrifugation.



Culot (la pâte de bactéries.



Ensemencement en

Figure 16: Méthode du test d'efficacité des capsules

7.1.2. Dénombrement des probiotiques encapsulés

Pour chaque formulation (capsules d'alginate et capsules d'alginate contenant du mucilage de graines d'anis), 1 g de capsules a été pesé puis dissous dans 9 mL d'une solution stérile de citrate de sodium afin d'obtenir la suspension mère. Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un vortex jusqu'à dissolution complète des capsules et à la libération des cellules probiotiques encapsulées.

Les dilutions décimales, l'ensemencement sur le milieu MRS ainsi que les conditions d'incubation (37 °C pendant 48 h) ont été réalisés selon le même protocole décrit précédemment pour le dénombrement des probiotiques libres.

$$\text{TE (\%)} = \frac{N_t}{N_0} \times 100$$

TE % = Taux d'Encapsulation

N_t = Nombre de cellules viables encapsulées.

N_0 = Nombre initial de cellules viables avant encapsulation.

7.2. Évaluation de la survie des probiotiques en milieu gastrique simulé (pH 2,0)

La solution gastrique simulée a été préparée en dissolvant 0,9 g de NaCl dans 100 mL d'eau distillée. Le pH a été ajusté à 2,0 par addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl).

7.2.1. Survie des probiotiques encapsulés

Pour chaque formulation, 5 mL de cette solution ont été introduits dans un tube stérile, puis trois capsules ont été ajoutées. Les tubes ont été incubés à 37 °C. Des prélèvements ont été effectués aux temps 0, 60 et 120 min. À chaque temps de prélèvement, les capsules ont été retirées de la solution gastrique puis dissoutes dans 3 mL d'une solution stérile de citrate de sodium afin de libérer les cellules probiotiques encapsulées.

Des dilutions décimales successives ont ensuite été réalisées jusqu'à la dilution 10^{-6} . Un volume de 0,1 mL des dilutions 10^{-1} , 10^{-3} et 10^{-5} a été ensemencé en surface sur des boîtes de Petri contenant le milieu MRS. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 48 heures.

Les prélèvements réalisés aux temps de 60 et 120 min ont été analysés selon le même protocole expérimental

que celui appliqué au temps 0.



Solution gastrique pH=2



Capsules en solution pH=2



Ensemencement en Surface et

incube

Figure 17: Évaluation de la survie des probiotiques encapsulés dans une solution gastrique simulée (pH 2).

7.2.2. Survie des probiotiques libres

Le même protocole a été appliqué aux probiotiques libres afin de comparer leur survie à celle des probiotiques encapsulés dans les conditions gastriques simulées (pH 2). Les prélèvements ont été réalisés aux temps 0, 60 et

120 min, suivis des dilutions décimales, de l'ensemencement sur milieu MRS et de l'incubation à 37 °C pendant 48 h.

7.3. Évaluation de la viabilité des probiotiques encapsulés pendant le stockage

Afin d'évaluer la viabilité des probiotiques encapsulés au cours du stockage, des analyses microbiologiques ont été réalisées aux jours J0, J7, J14, J21 et J28 sur les deux formulations de capsules (alginate et alginate–mucilage de graines d'anis).

7.3.1. Détermination de la viabilité initiale (J0)

Pour chaque formulation, 1 g de capsules a été pesé puis dissous dans 9 mL d'une solution stérile de citrate de sodium. Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un vortex jusqu'à dissolution complète des capsules et à la libération des cellules probiotiques encapsulées.

Des dilutions décimales successives ont ensuite été préparées dans de l'eau physiologique stérile. Pour cela, 1 mL de la suspension obtenue a été transféré dans un tube contenant 9 mL d'eau physiologique stérile afin d'obtenir une dilution de 10^{-1} . Les dilutions successives ont ensuite été réalisées selon le même principe jusqu'aux dilutions souhaitées.

Pour chaque dilution, un volume de 0,1 mL a été ensemencé en surface sur des boîtes de Petri contenant le milieu MRS, puis étalé à l'aide d'un étaleur stérile. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 48 heures.

7.3.2. Suivi de la viabilité pendant le stockage (J7, J14, J21 et J28)

Aux jours J7, J14, J21 et J28, le même protocole expérimental a été appliqué afin d'évaluer l'évolution de la viabilité des probiotiques encapsulés au cours du stockage.

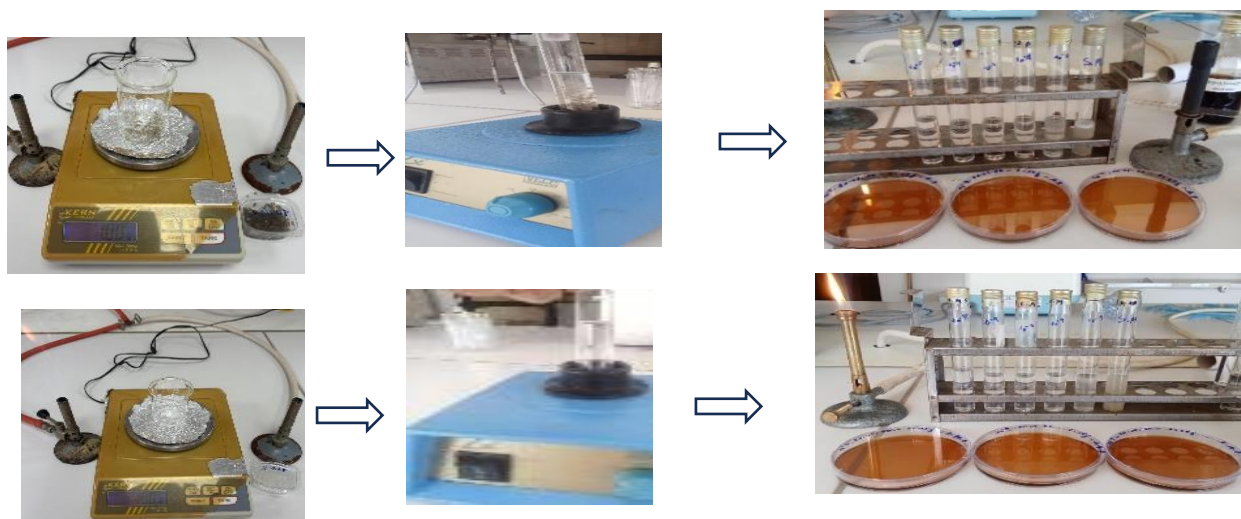


Figure 18: Suivi de la viabilité des probiotiques encapsulés pendant le stockage

7.4. Caractérisation physico-chimique des capsules

7.4.1. Indice de gonflement (Swelling Index)

L'indice de gonflement des capsules a été évalué dans deux milieux différents : une solution gastrique simulée (pH 2) et une solution saline (pH 7). La solution gastrique simulée a été préparée en dissolvant 0,9 g de NaCl dans 100 mL d'eau distillée, puis le pH a été ajusté à 2 à l'aide de quelques gouttes d'HCl. La solution saline (pH 7) a été obtenue en ajustant le pH d'une solution physiologique à 7 à l'aide de NaOH.

7.4.1.1. Mesure de l'indice de gonflement dans la solution gastrique simulée (pH 2)

Pour chaque formulation (capsules d'alginate et capsules d'alginate–mucilage de graines d'anis), 0,5 g de capsules sèches ont été pesés puis immergés dans la solution gastrique simulée. Les capsules ont été retirées et pesées après 30 min, 1 h, 2 h, 4 h et 24 h.

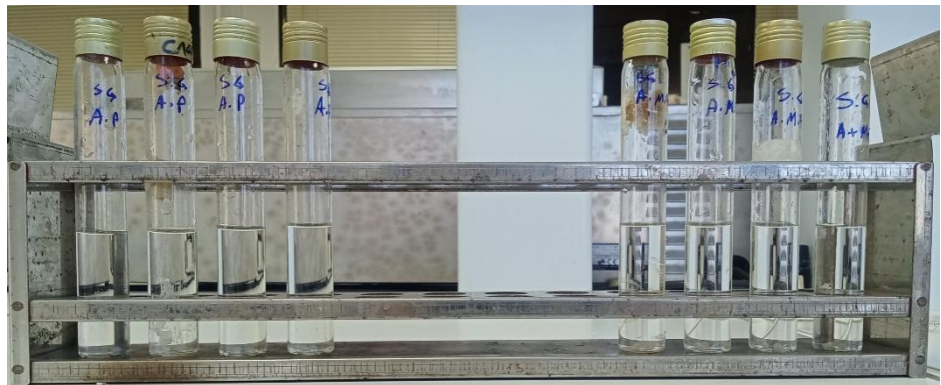


Figure 19: Evaluation de l'indice de gonflement des capsules dans une solution gastrique simulée (pH 2)

7.4.1.2. Mesure de l'indice de gonflement dans la solution saline (pH 7)

La même procédure expérimentale a été appliquée en utilisant la solution saline à pH 7.

Le pourcentage de l'indice de gonflement a été calculé selon la formule suivante:

$$SI(\%) = \frac{(M_t - M_0)}{M_0} \times 100$$

SI (%)= l'indice de gonflement

M_t =masse des billes après gonflement au temps t.

M_0 =masse initiale sèche des billes.

7.4.2. Morphologie et diamètre des capsules

7.4.2.1. Morphologie des capsules

La morphologie des capsules a été évaluée par observation à l'aide d'une loupe. Les capsules des deux formulations (alginate et alginate–mucilage de graines d'anis) ont été placées sur une lame en verre, puis observées afin d'évaluer leur forme, leur homogénéité et leur aspect de surface.

7.4.2.2. Diamètre des capsules

Le diamètre des capsules a été déterminé en mesurant individuellement 20 capsules de chaque formulation (capsules d'alginate et capsules d'alginate–mucilage de graines d'anis) à l'aide d'un pied à coulisse numérique (**Figure 9**)



Figure 20: Mesure du diamètre des capsules à l'aide d'un pied à coulisse numérique

7.3. Solubilité des capsules dans le citrate de sodium

Deux tubes contenant chacun 9 mL d'une solution stérile de citrate de sodium ont été préparés. Un gramme de capsules de chaque formulation (capsules d'alginate et capsules d'alginate–mucilage de graines d'anis) a été introduit dans un tube. Les suspensions ont été homogénéisées à l'aide d'un vortex, puis le temps nécessaire à la dissolution complète des capsules

Partie 3

Résultats et discussion

1. Extraction et caractérisation du mucilage

1. Rendement de l'extraction du mucilage

L'extraction aqueuse des graines de *Pimpinella anisum* L. a permis d'obtenir une masse de 3,5 g de mucilage, correspondant à un rendement d'extraction de 7 %.

Le rendement obtenu dans cette étude (7 %) peut être comparé aux résultats mentionnés précédemment. Une étude de **Ghissi et al., (2020)** a rapporté un rendement d'extraction de 8,84 % pour les polysaccharides extraits des graines de *Pimpinella anisum* L. La légère différence (7 % contre 8,84 %) peut être expliquée par plusieurs facteurs:

L'origine géographique et la diversité génétique des graines : la composition des polysaccharides présents dans les parois cellulaires des graines d'anis peut être influencée par la région de culture, les conditions climatiques, ainsi que par le degré de maturité des graines au moment de la récolte.

Les paramètres d'extraction : bien que les deux protocoles reposent sur une extraction aqueuse suivie d'une précipitation à l'éthanol, les différences au niveau de certaines conditions expérimentales peuvent entraîner une différence dans la quantité de matière extraite, notamment la température, la durée de l'extraction, le nombre de fois où elle est répétée, ou le rapport entre l'éthanol et le filtrat (**Nazir et al., 20217**).

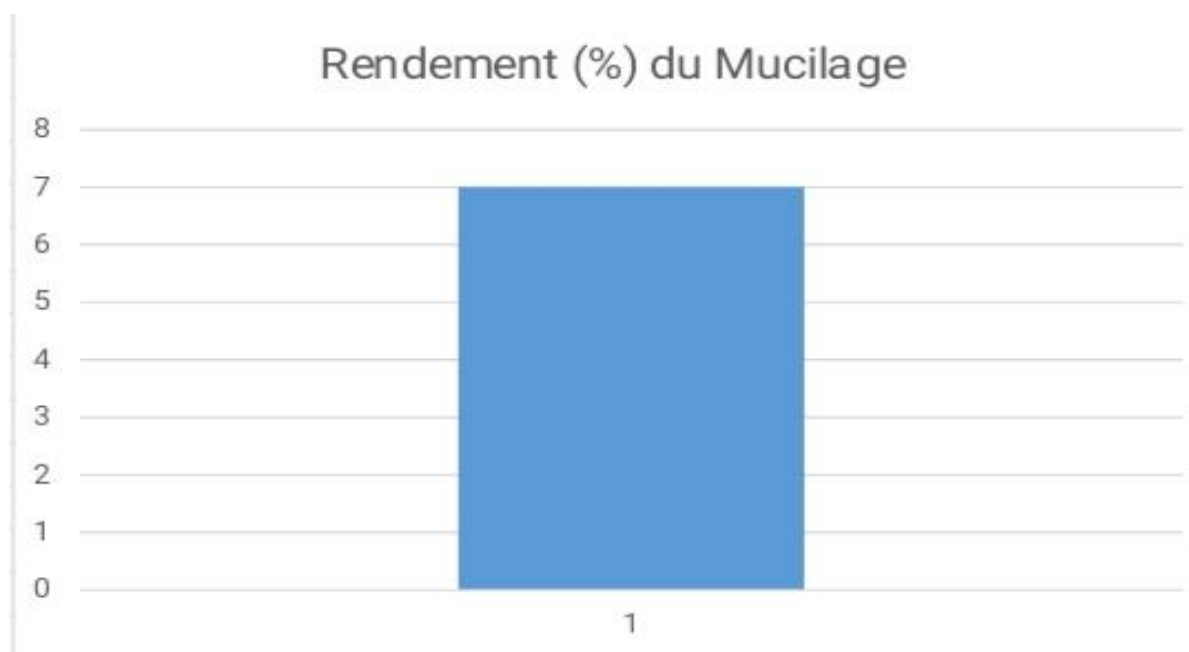


Figure 21: Rendement de l'extraction du mucilage des graines de *Pimpinella anisum* L.

2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante du mucilage des graines d'anis a été évaluée par le test de piégeage des radicaux libres DPPH. Les résultats ont montré une variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait.

L'extrait mucilagineux des graines de *Pimpinella anisum* L. a présenté une activité antioxydante, avec des pourcentages d'inhibition du radical DPPH compris entre 45,34 et 87,59 % selon la concentration utilisée. Le taux d'inhibition le plus élevé (87,59 %) a été enregistré à une concentration de 1000 µg/mL. Cette courbe traduit une efficacité antioxydante dépendante de la concentration, puisque l'augmentation de la concentration de l'extrait s'accompagne d'une augmentation du pourcentage d'inhibition. Ces résultats indiquent ainsi que l'extrait mucilagineux possède une capacité à piéger les radicaux DPPH.

La valeur de l'IC₅₀, déterminée à partir de l'équation de la courbe de tendance logarithmique, a été estimée à environ 29,76 µg/mL. Cette valeur indique que l'extrait mucilagineux présente un potentiel antioxydant important, avec une capacité à inhiber 50 % des radicaux DPPH à cette concentration.

Ces résultats peuvent être comparés à ceux rapportés par **Gülçin et al., (2003)**, qui ont mis en évidence une activité antiradicalaire de différents extraits de graines de *P. anisum* en utilisant le test DPPH. Dans leur étude, l'extrait aqueux des graines a présenté une inhibition de 53,22 % à une concentration de 12,5 mg/mL.

Ces résultats confirment que les graines de *P. anisum* contiennent des composés hydrosolubles susceptibles de contribuer à leur activité antioxydante, ce qui concorde avec l'activité observée pour l'extrait aqueux dans l'étude de **Gülçin et al., (2003)**.

La comparaison de ces résultats doit toutefois être interprétée avec prudence, car les matrices végétales étudiées ne sont pas identiques. En effet, *Gülçin et al. (2003)* ont évalué un extrait aqueux des graines entières de *P. anisum*, tandis que la présente étude porte sur le mucilage extrait des graines par voie aqueuse. Les différences observées peuvent également être liées aux conditions d'extraction, notamment à la température, à la durée d'extraction et au rapport entre la matière végétale et le solvant.

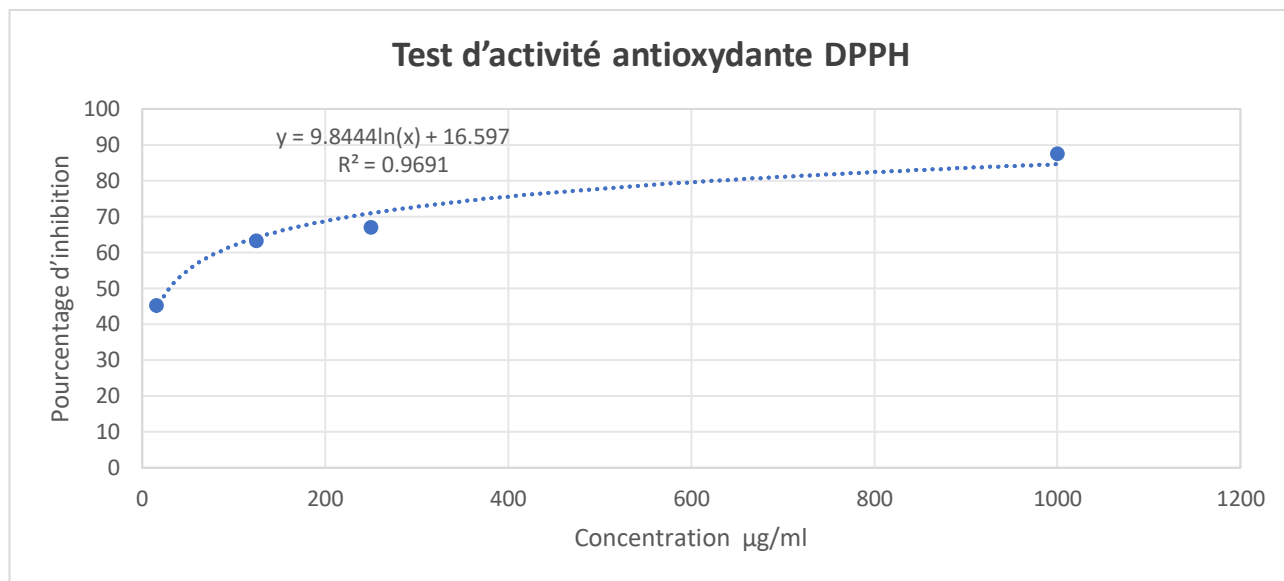


Figure 22: Évolution du pouvoir antioxydant du mucilage de graines d'anis en fonction de la concentration, évaluée par le test DPPH.

3. Cinétique de croissance de *Lactiplantibacillus plantarum* en présence de l'extrait mucilagineux

La cinétique de croissance de *Lactiplantibacillus plantarum* a été suivie pendant 24 heures en présence d'un extrait mucilagineux (mucilage) de graines d'anis (*Pimpinella anisum* L.), par mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 600 nm (DO600). La croissance bactérienne en présence de l'extrait (mucilage) a été comparée à celle observée en présence d'inuline et de glucose, utilisés respectivement comme substrat prébiotique et comme source carbonée de référence. Les résultats ont montré une évolution de la croissance bactérienne au cours de la période d'incubation.

Au début (T0), les valeurs de la densité optique étaient relativement proches dans les deux conditions étudiées. Cette proximité indique que la croissance bactérienne était encore faible avant le début de l'incubation.

En présence du mucilage des graines d'anis, une augmentation progressive de la densité optique a été observée, passant de 0,155 à T0 à 1,646 à T18, traduisant ainsi une augmentation notable de la croissance. Ensuite, la valeur a légèrement diminué à T24 pour atteindre 1,550.

Concernant les composés de référence (inuline et glucose), ils ont enregistré des valeurs de DO600 supérieures à celles obtenues avec le mucilage. La valeur maximale enregistrée avec l'inuline était de 2,097 à T18, tandis que le glucose a atteint une valeur maximale de 2,343 à T18. Une diminution a ensuite été observée à T24 dans les deux conditions.

Résultats et discussion

Les résultats de la cinétique de croissance montrent que le mucilage des graines d'anis possède une capacité à soutenir la croissance de *Lactiplantibacillus plantarum*, notamment durant la phase exponentielle, ce qui suggère que le mucilage contient des composants pouvant constituer une source nutritive pour la croissance bactérienne.

Après 24 heures, une légère diminution de la croissance a été observée, indiquant l'entrée des cellules dans la phase stationnaire, en raison de la consommation progressive du substrat.

Cependant, la croissance obtenue avec le mucilage des graines d'anis reste inférieure à celle enregistrée avec l'inuline et le glucose. Cette différence peut s'expliquer par la nature et la disponibilité des composés carbonés dans chaque milieu. En effet, le glucose constitue une source de carbone simple et facilement assimilable, tandis que l'inuline peut être utilisée par certaines souches de *Lactiplantibacillus*. La cinétique de croissance varie également selon la souche et le substrat.

Ces résultats concordent avec ceux de **Nassim et al., (2025)**, qui ont étudié le potentiel prébiotique des matériaux gélifiés (mucilages) extraits de différentes graines, notamment les graines de chia, de fenugrec, de basilic, de moutarde et de lin. Ces chercheurs ont montré que ces matériaux gélifiés sont capables de soutenir la croissance des cellules probiotiques, notamment celles appartenant aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*.

Ces observations indiquent que les mucilages extraits des graines constituent une source importante pour soutenir la croissance de certaines bactéries bénéfiques, en raison de leur teneur en composés capables de soutenir leur croissance.

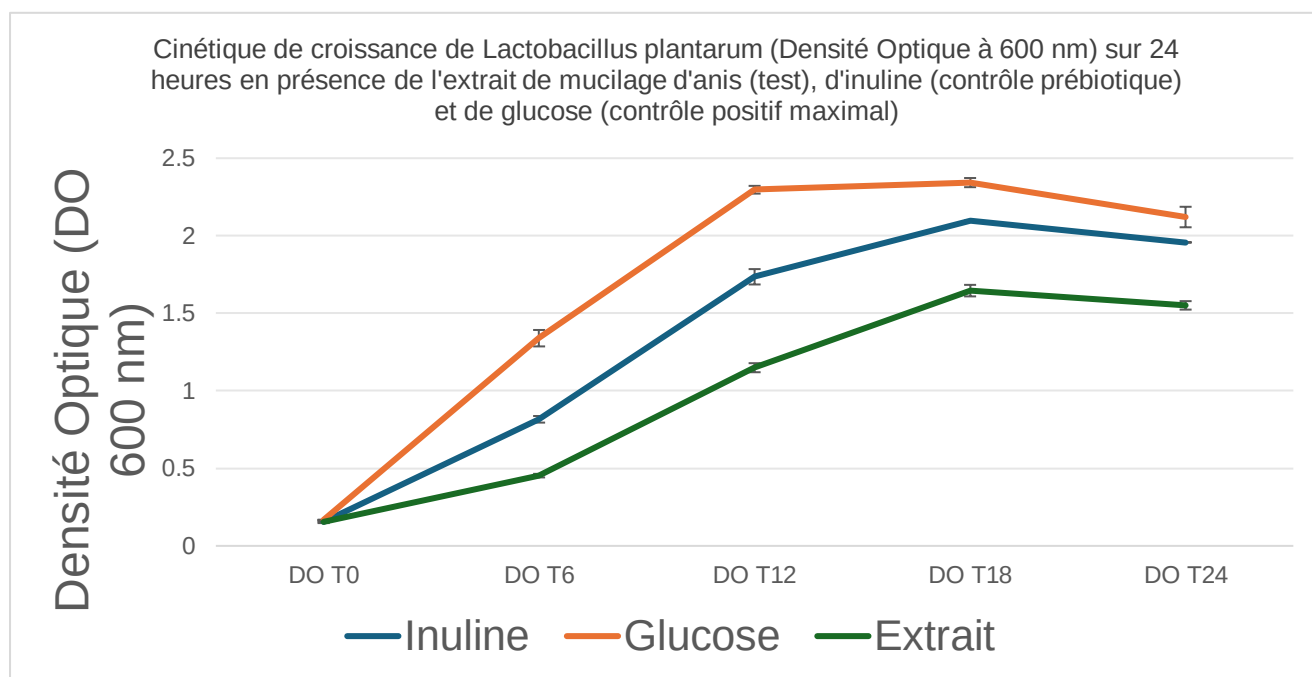


Figure 23: Cinétique de croissance de *Lactiplantibacillus plantarum* en présence du mucilage des graines d'anis, de l'inuline et du glucose

2. Analyses microbiologiques du l'encapsulation

1. Taux d'encapsulation

Des bactéries *Lactiplantibacillus plantarum* ont été encapsulées dans une matrice composée d'alginate et de mucilage d'anis, avec une efficacité d'encapsulation de 88,24 %. La concentration bactérienne initiale avant encapsulation (N_0) était de $1,7 \times 10^8$ UFC/mL, tandis que la concentration bactérienne récupérée dans les capsules après encapsulation (N_e) était de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

L'efficacité d'encapsulation élevée observée dans cette étude (88,24 %) pourrait s'expliquer par la complémentarité structurale et l'effet synergique potentiel entre l'alginate de sodium et le mucilage d'anis. L'alginate, par réticulation avec les ions calcium, contribue à la formation d'un réseau de gel tridimensionnel capable de piéger les cellules bactériennes au sein des granules. L'ajout de mucilage pourrait également améliorer les propriétés de la matrice et favoriser la rétention des cellules bactériennes, ce qui pourrait contribuer à l'efficacité d'encapsulation élevée obtenue.

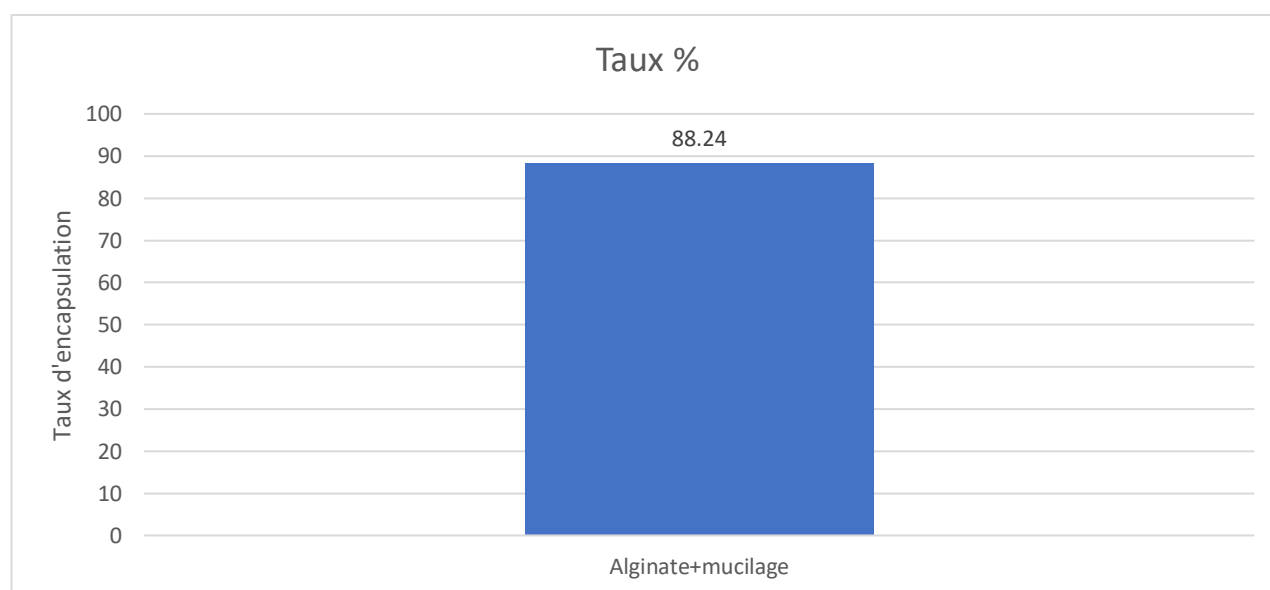


Figure 24: Taux d'encapsulation des probiotiques dans les billes d'alginate-mucilage

Le résultat obtenu dans cette étude (88,24 %) peut être comparé à ceux d'études antérieures sur l'encapsulation de *L. plantarum* dans des matrices à base d'alginate. **Rather et al., (2017)** ont rapporté une efficacité d'encapsulation de 72,48 % pour *L. plantarum* NCDC201 avec de l'alginate, un pourcentage inférieur à celui obtenu dans la présente étude. **Bautista-Villarreal et al., (2023)** ont également rapporté une efficacité d'encapsulation de $88,0 \pm 2,8$ % pour *L. plantarum* dans des granules d'alginate contenant de l'extrait de betterave, une valeur très proche du résultat obtenu dans cette étude. Par ailleurs, une étude récente de **Bachtarzi et al., (2026)** a montré une efficacité d'encapsulation d'environ 91 % pour *L. plantarum* dans des granules d'alginate.

Les différences observées entre les études peuvent être attribuées à des variations dans les conditions expérimentales, notamment les concentrations d'alginate et de CaCl_2 , le temps de solidification du CaCl_2 , la concentration initiale de cellules bactériennes, la taille des particules, l'espacement aiguille- CaCl_2 , la composition de la matrice et les méthodes de calcul de l'efficacité d'encapsulation (Lotfipour et al., 2012).

2. Résistance aux conditions simulées du tractus gastro-intestinal

La viabilité de *Lactiplantibacillus plantarum* a été évaluée après exposition à un milieu gastrique simulé à pH = 2,0. La comparaison a porté sur trois conditions : la souche probiotique libre, les cellules encapsulées dans l'alginate seul et les cellules encapsulées dans une matrice composée d'alginate et de mucilage de graines d'anis, après différents temps d'exposition (0, 60 et 120 min).

Au temps initial (0 min), la concentration moyenne de la souche probiotique libre était de $9.23 \text{ Log}_{10}(\text{UFC/mL})$, tandis que les concentrations des cellules encapsulées dans l'alginate seul et dans la matrice alginate–mucilage étaient respectivement de 9.22 et $9.25 \text{ Log}_{10}(\text{UFC/mL})$,

Après 60 min d'exposition, une diminution de la viabilité de *Lactiplantibacillus plantarum* a été observée dans les trois conditions. La concentration des cellules libres était alors de $7.08 \text{ Log}_{10}(\text{UFC/mL})$, contre $8.98 \text{ Log}_{10}(\text{UFC/mL})$ pour l'alginate seul et $9.14 \text{ Log}_{10}(\text{UFC/mL})$ pour la matrice alginate–mucilage.

Après 120 min, la diminution de la viabilité était plus marquée chez les cellules libres, dont la concentration atteignait $5.48 \text{ Log}_{10}(\text{UFC/mL})$. Pour les cellules encapsulées, les concentrations finales étaient de $8.78 \text{ Log}_{10}(\text{UFC/mL})$ dans l'alginate seul et de $9.08 \text{ Log}_{10}(\text{UFC/mL})$ dans la matrice contenant le mucilage de graines d'anis.

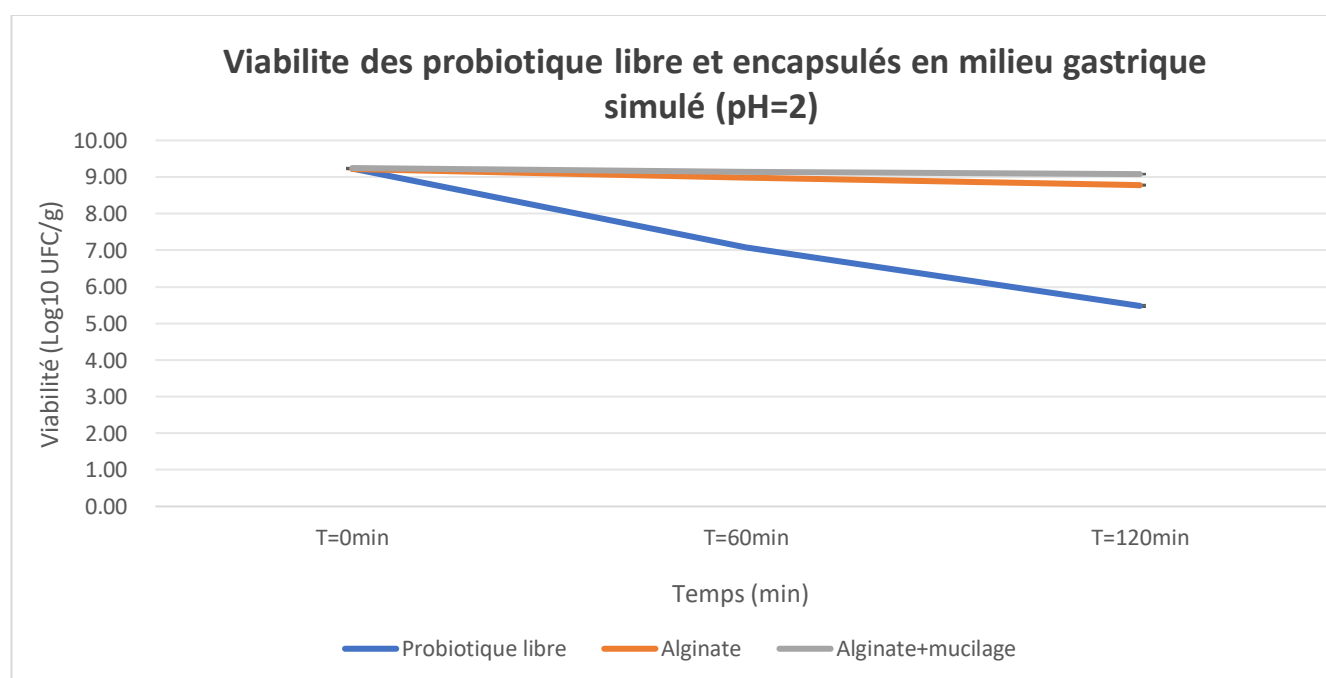


Figure 25: Viabilité des probiotiques libres et encapsulés en milieu gastrique simulé (pH 2,0)

Pour comparer la résistance des trois conditions au milieu gastrique simulé, le taux de survie a été calculé pour chaque condition. Après 120 minutes d'exposition, le taux de survie était de 17,65 % pour la souche probiotique libre, contre 36,36 % pour les cellules encapsulées dans l'alginate seul et 68,18 % pour celles encapsulées dans la matrice alginate–mucilage.

Ces résultats montrent que la diminution de la viabilité était de 82,35 % pour la souche libre, de 63,64 % pour les cellules encapsulées dans l'alginate seul et de seulement 31,82 % pour celles encapsulées dans la matrice alginate–mucilage. Ainsi, les cellules encapsulées ont présenté une meilleure résistance aux conditions gastriques simulées que la souche libre, avec le taux de survie le plus élevé obtenu avec la matrice associant l'alginate au mucilage de graines d'anis. Cette dernière semble donc mieux limiter la perte de viabilité de *L. plantarum* dans les conditions gastriques simulées.

L'augmentation de la survie de *L. plantarum* dans la matrice incorporant le mucilage de graines d'anis peut être attribuée à l'effet protecteur potentiel du mucilage. Son association avec l'alginate pourrait contribuer à améliorer les propriétés de la matrice et à accroître sa capacité à protéger les cellules encapsulées contre les conditions acides, réduisant ainsi leur exposition directe au milieu gastrique et limitant la perte de leur viabilité. Ainsi, la présence du mucilage pourrait avoir renforcé l'effet protecteur de l'alginate, ce qui aurait favorisé la résistance de *L. plantarum* aux conditions gastriques simulées. Cette interprétation est cohérente avec les observations rapportées par **Shafizadeh et al., (2020)**, qui ont montré que l'incorporation du mucilage de graines de lin dans une matrice d'alginate améliorait la résistance de *L. casei* aux conditions gastro-intestinales simulées.

Les résultats obtenus montrent que l'association de l'alginate au mucilage de graines d'anis améliore la survie de *Lactiplantibacillus plantarum* dans les conditions gastriques simulées. Cette tendance est en accord avec les résultats rapportés par **Shafizadeh et al., (2020)**, qui ont montré que l'incorporation du mucilage de graines de lin dans une matrice d'alginate améliorait la résistance de *Lactobacillus casei* aux conditions gastro-intestinales simulées par rapport à l'alginate seul. Les différences observées entre les études peuvent être attribuées à plusieurs facteurs expérimentaux, notamment le type de mucilage utilisé, la souche bactérienne, les concentrations des polymères, ainsi que les conditions et la durée d'exposition au milieu simulé.

3. Stabilité au stockage

La viabilité de *Lactiplantibacillus plantarum* a été évaluée au cours de 28 jours de stockage dans les deux matrices d'encapsulation. Une diminution progressive de la viabilité a été observée dans les granules d'alginate seul, avec une réduction de la concentration cellulaire de $1,50 \times 10^7$ UFC/mL au jour 0 à $5,40 \times 10^6$ UFC/mL au jour 28. En revanche, les granules formulés à base d'alginate et de mucilage d'anis ont montré une diminution plus faible de la viabilité, les concentrations passant de $1,70 \times 10^7$ UFC/mL au jour 0 à $1,50 \times 10^7$ UFC/mL au jour 28. Ainsi,

la matrice alginate–mucilage d’anis a permis de maintenir une viabilité plus élevée de *L. plantarum* au cours de la période de stockage par rapport à l’alginate seul.

La viabilité réduite de *Lactiplantibacillus plantarum* observée dans les billes d’alginate seules lors du stockage peut s’expliquer par la stabilité limitée des cellules encapsulées au sein de cette matrice. En revanche, l’incorporation du mucilage des graines d’anis à l’alginate a permis une meilleure conservation de la viabilité bactérienne. Cette amélioration pourrait être attribuée à la contribution du mucilage aux propriétés de la matrice d’encapsulation, permettant ainsi d’assurer une protection accrue des cellules probiotiques au cours du stockage.

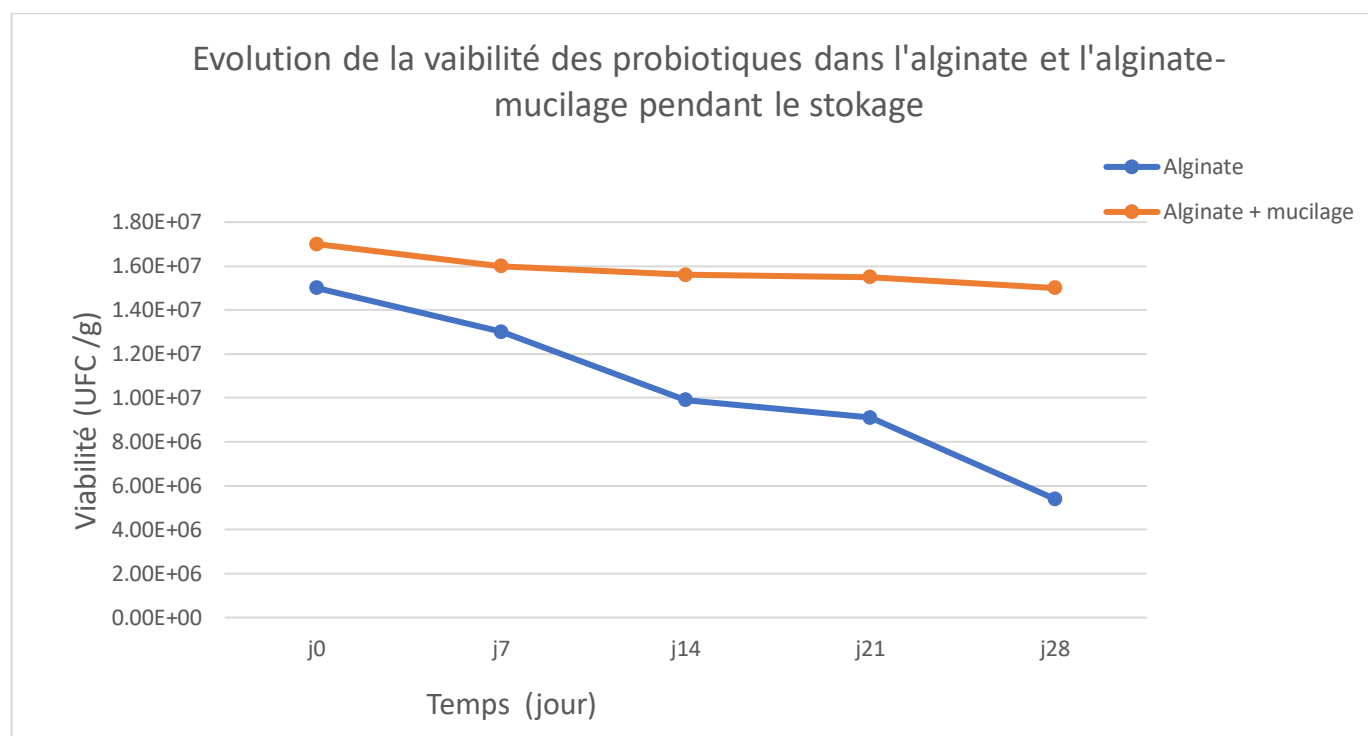


Figure 26: Évolution de la viabilité des probiotiques encapsulés au cours du stockage (J0–J28).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Mahmoud et al., (2020)**, qui ont étudié la survie de *L. plantarum* microencapsulé dans différentes formulations à base d’alginate pendant le stockage. Les auteurs ont observé une bonne préservation de la viabilité des cellules encapsulées dans des conditions de stockage réfrigéré.

Par ailleurs, **Bustamante et al., (2025)** ont étudié la microencapsulation de *L. plantarum* dans des matrices d’alginate incorporant du mucilage de graines de chia ou de lin. Les formulations contenant ces matériaux ont présenté de bonnes performances en termes de maintien de la viabilité bactérienne. Les auteurs ont également souligné que la stabilité des probiotiques dépend de plusieurs facteurs, notamment de la composition de la matrice et des conditions de stockage.

Ainsi, la meilleure stabilité observée dans notre étude avec la matrice d’alginate associée au mucilage suggère que le mucilage des graines d’anis pourrait contribuer au maintien de la viabilité de *L. plantarum* au cours du

stockage. Toutefois, cet effet peut varier en fonction de la nature et de la concentration du matériau gélifiant, de la méthode d'encapsulation, de la souche probiotique utilisée ainsi que des conditions de stockage

3. Résultats des analyses physicochimiques

1. Indice de gonflement

L'indice de gonflement des billes d'alginate et des billes d'alginate intégrées au mucilage des graines d'anis a été évalué à différents temps d'incubation, à savoir 30 minutes, 1 heure, 2 heures, 4 heures et 24 heures, dans deux milieux présentant des pH différents, soit pH = 2 et pH = 7

1.1.pH=2

Dans le milieu gastrique simulé, correspondant à un pH de 2, les billes d'alginate seules et les billes d'alginate additionnées de mucilage ont montré une variation de l'indice de gonflement au cours du temps. Initialement, l'indice de gonflement était de 2 % après 30 minutes, puis il a augmenté pour atteindre sa valeur maximale après 2 heures, avec 14 % pour l'alginate seul et 26 % pour l'alginate + mucilage. Par la suite, l'indice de gonflement a diminué après 4 heures, atteignant respectivement 4 % et 12 %, puis s'est stabilisé à de faibles valeurs jusqu'à 24 heures.

Ces résultats indiquent que, malgré une augmentation initiale du gonflement, les deux formulations conservent globalement un faible indice de gonflement en milieu acide. L'ajout du mucilage des graines d'anis ne semble donc pas altérer la résistance de la matrice d'alginate dans les conditions gastriques simulées. Les deux formulations conservent ainsi une structure relativement compacte en milieu acide.

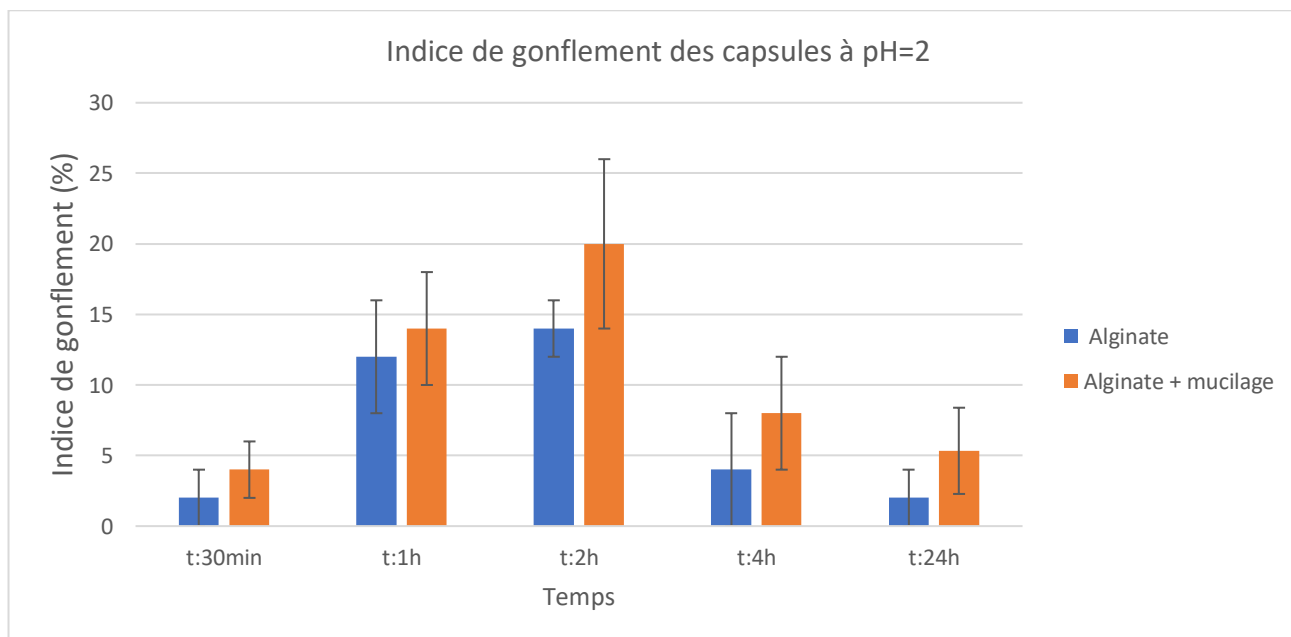


Figure 27: Évolution de l'indice de gonflement des billes en milieu gastrique simulé (pH 2)

À pH 2, le gonflement des deux formulations reste globalement limité et présente une évolution non linéaire, caractérisée par une augmentation initiale suivie d'une diminution après 2 h. Cette faible capacité de gonflement en milieu fortement acide peut être attribuée à la protonation des groupements carboxylates de l'alginate ($-\text{COO}^- \rightarrow -\text{COOH}$). La protonation réduit les répulsions électrostatiques entre les chaînes d'alginate et favorise une structure du réseau plus compacte, limitant ainsi la pénétration et la rétention de l'eau au sein des billes. Malgré les valeurs de gonflement légèrement plus élevées observées pour la formulation alginate-mucilage, les deux formulations conservent globalement une structure relativement compacte en milieu acide. Ainsi, l'incorporation du mucilage des graines d'anis ne semble pas compromettre la résistance de la matrice d'alginate dans les conditions gastriques simulées. Cette interprétation est cohérente avec les observations rapportées par **Yotsuyanagi et al., (1991)**, qui ont montré que les billes d'alginate peuvent subir une contraction lorsque le pH du milieu diminue. Ces auteurs ont également mis en évidence que le comportement de gonflement des billes d'alginate dépend fortement du pH du milieu, avec une augmentation du gonflement lorsque le pH augmente.

1.2 pH=7

Dans le milieu intestinal simulé, correspondant à un pH de 7, on observe une augmentation quasi continue de l'indice de gonflement au cours du temps pour les deux formulations, les valeurs passant de 12–16 % après 30 minutes à 32–48 % après 24 heures. Les billes d'alginate + mucilage ont également présenté des valeurs de gonflement plus élevées que les billes d'alginate seules, atteignant 48 % après 24 heures contre 32 %, respectivement.

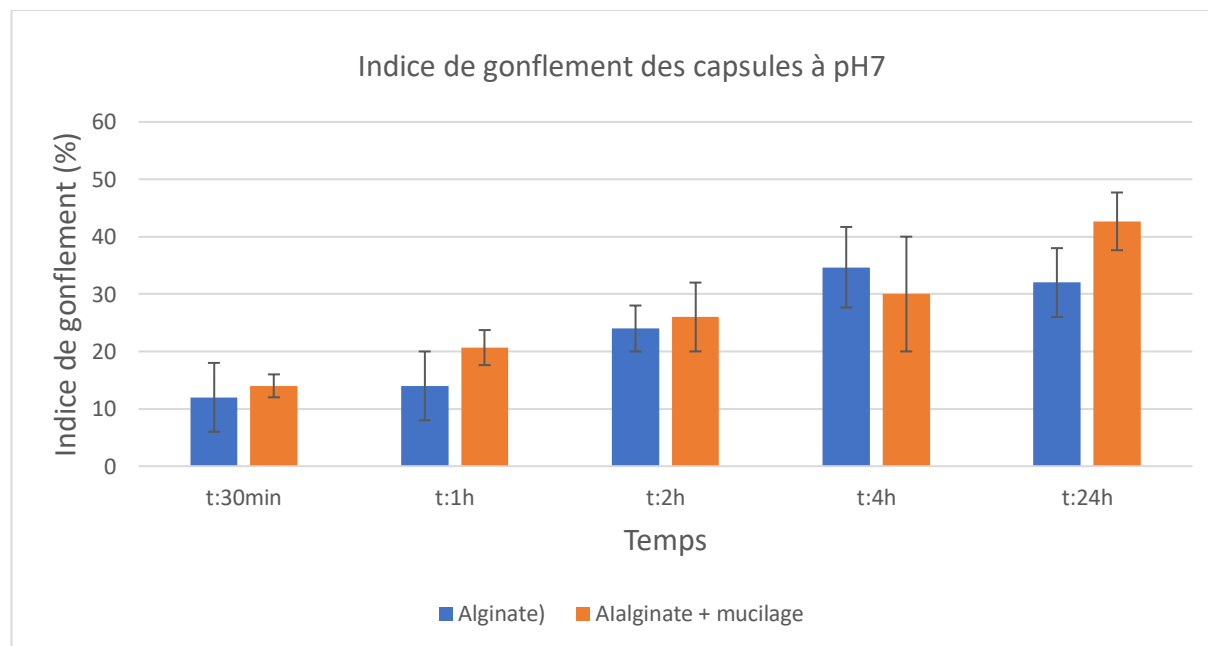


Figure 28: Évolution de l'indice de gonflement des billes en milieu intestinal simulé (pH 7).

Cette augmentation du gonflement à pH = 7 peut être associée à un échange ionique entre les ions présents dans le milieu et les ions Ca^{2+} associés aux groupements carboxyliques de l'alginate. Cet échange peut entraîner une diminution progressive du degré de réticulation du réseau, favorisant ainsi la pénétration et l'absorption de l'eau au sein des billes et, par conséquent, une augmentation du gonflement (**Bajpai et Sharma, 2004**).

L'incorporation du mucilage des graines d'anis a entraîné une augmentation du gonflement par rapport à l'alginate seul, les valeurs atteignant 48 % contre 32 % après 24 heures. Cette différence pourrait être attribuée à la nature hydrophile du mucilage, riche en polysaccharides, qui peut favoriser l'absorption et la rétention de l'eau au sein de la matrice. L'incorporation du mucilage pourrait également modifier l'organisation du réseau tridimensionnel alginate–mucilage et le rendre plus souple à pH = 7, favorisant ainsi davantage la pénétration de l'eau. Ces résultats suggèrent que l'ajout du mucilage des graines d'anis modifie les propriétés de gonflement des billes d'alginate et augmente leur capacité d'hydratation en milieu intestinal simulé.

Ce comportement peut différer de certains résultats rapportés dans la littérature concernant d'autres mucilages végétaux. **Yari et al., (2020)** ont rapporté que l'ajout de mucilage de graines de basilic aux billes d'alginate améliorait leur stabilité tout en diminuant leur degré de gonflement à pH 1,2 et 7,4. À l'inverse, le mucilage des graines d'anis utilisé dans notre étude a présenté un effet favorisant le gonflement dans les deux conditions de pH étudiées. Cette différence pourrait être liée à la nature et à la composition du mucilage utilisé, à sa concentration, ainsi qu'à ses interactions spécifiques avec l'alginate et les ions Ca^{2+} .

2. Diamètre des billes d'alginate et d'alginate–mucilage

Le diamètre des billes a été déterminé pour les deux formulations étudiées. Le diamètre moyen des billes d'alginate seul (ALG) était de $2,32 \pm 0,01$ mm, tandis que celui des billes d'alginate contenant le mucilage de graines d'anis (ALG-M) était de $2,36 \pm 0,02$ mm. L'incorporation du mucilage a ainsi entraîné une légère augmentation du diamètre moyen des billes.

La légère augmentation du diamètre observée après l'ajout du mucilage de graines d'anis pourrait être liée à une modification des propriétés rhéologiques de la solution polymérique, notamment à une éventuelle augmentation de sa viscosité.

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Lotfipour et al., (2012)**, qui ont observé des diamètres compris entre 1,59 et 1,67 mm pour les billes d'alginate, et entre 1,61 et 1,80 mm pour les billes contenant le polysaccharide de psyllium. Les auteurs ont associé l'augmentation du diamètre à l'augmentation de la viscosité de la formulation contenant le polysaccharide. Cette tendance est similaire à celle observée dans notre étude, où l'incorporation du mucilage de graines d'anis a également entraîné une légère augmentation du diamètre des billes.

Cependant, l'augmentation observée dans notre étude reste faible, passant de 2,32 à 2,36 mm. Cette différence peut également dépendre de plusieurs facteurs liés au procédé de formation des billes, notamment la concentration en alginate, la concentration en mucilage, le diamètre de l'aiguille utilisée, ainsi que les conditions d'extrusion et de réticulation dans la solution de chlorure de calcium. Ainsi, l'incorporation du mucilage de graines d'anis semble entraîner une légère modification de la taille des billes, sans provoquer d'augmentation importante de leur diamètre.

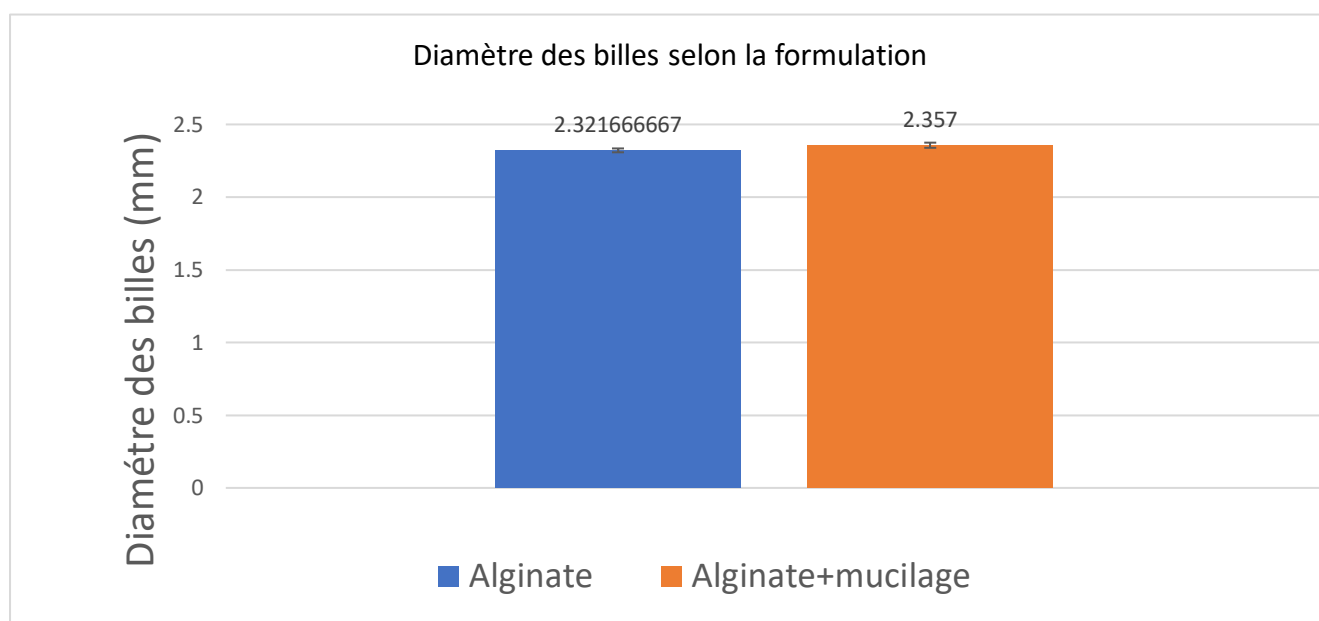


Figure 29: Diamètre moyen des billes des différentes formulations

3. Morphologie des billes

L'observation des billes d'alginate-mucilage au microscope binoculaire a montré qu'elles présentaient majoritairement une forme sphérique à sub-sphérique. Elles se caractérisaient par une surface lisse, régulière et relativement brillante, ainsi que par une structure gélifiée cohésive. Aucune fissure ni fracture superficielle importante n'a été observée. Toutefois, quelques légères variations ont été observées à la surface des billes et au sein de leur structure.

Ces différences peuvent être attribuées aux propriétés de la formulation et aux conditions de formation des billes, notamment à la viscosité de la solution, qui peut influencer le comportement des gouttelettes au cours du processus de formation ainsi que la régularité de la forme des billes. **Lotfipour et al., (2012)** ont indiqué que la viscosité de la formulation à base d'alginate influence la formation des billes, l'augmentation de la viscosité de la formulation résultant de l'ajout de psyllium ayant contribué à l'obtention de billes plus cohésives, avec une modification de leur taille et de leurs caractéristiques morphologiques. Ces observations concordent avec celles de **Demircan et Oral (2023)**, qui ont montré que la viscosité des hydrocolloïdes constitue un facteur important

influençant les caractéristiques des billes d'alginate de calcium, notamment leur taille et leur forme. Ainsi, la présence du mucilage dans la formulation actuelle pourrait avoir contribué à modifier les propriétés rhéologiques du mélange, favorisant ainsi le maintien de la structure sphérique et la formation de billes relativement cohésives



Figure 30: Morphologie des billes d'alginate enrichies en mucilage de graines d'anis observée à la loupe

4. Solubilité dans une solution de citrate

Le temps de dissolution des billes d'alginate dans la solution de citrate était de 10 minutes, tandis qu'il atteignait 14 minutes après l'incorporation du mucilage des graines d'anis à l'alginate. Ainsi, l'ajout du mucilage a entraîné une augmentation du temps de dissolution de 4 minutes, soit une augmentation de 40 % par rapport aux billes d'alginate seules.

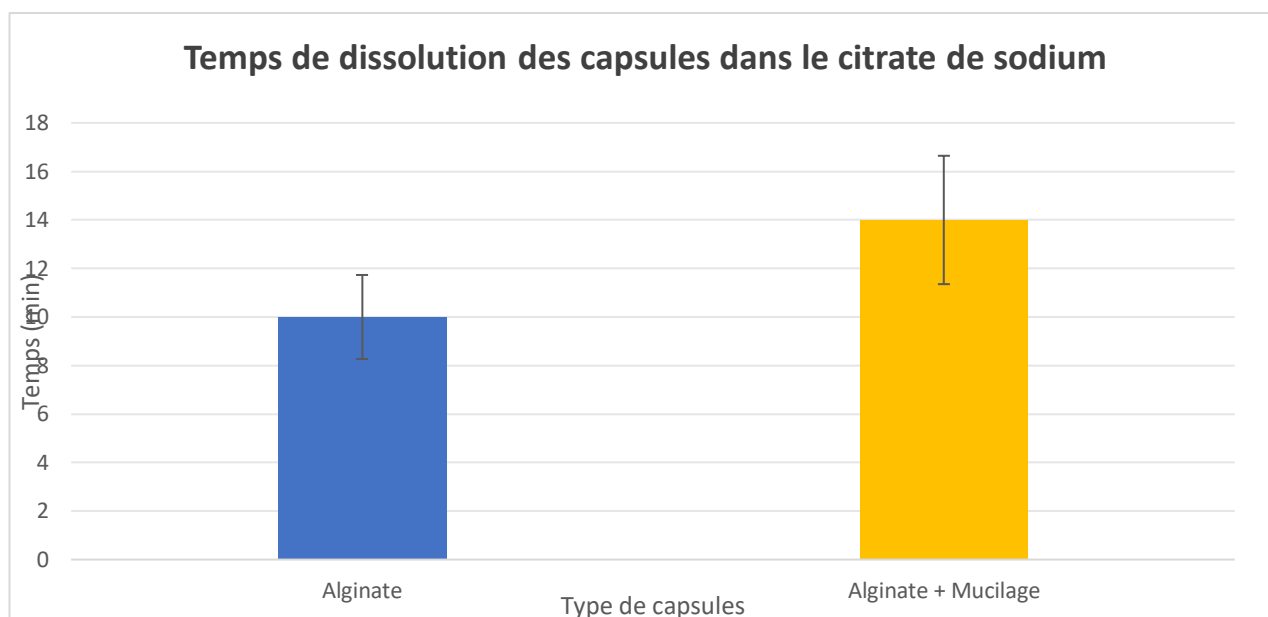


Figure 31: Temps de dissolution des billes dans une solution de citrate de sodium

Cette tendance est en accord avec les résultats rapportés par **Oyeagu et al., (2018)**, qui ont utilisé le temps de dissolution dans une solution tampon de citrate pour évaluer la stabilité des billes d'alginate de calcium. Les auteurs ont observé que l'incorporation de substances additives, notamment l'amidon, pouvait prolonger le temps de dissolution des billes. Dans leur étude, les billes contenant de l'amidon présentaient un temps de solubilisation plus long que les billes d'alginate utilisées comme témoins.

Cependant, les valeurs obtenues dans notre étude ne peuvent pas être comparées directement à celles rapportées par **Oyeagu et al. (2018)**, en raison des différences entre les formulations utilisées. En effet, ces auteurs ont utilisé l'amidon comme substance additive, tandis que notre formulation reposait sur le mucilage des graines d'anis. Les conditions expérimentales ainsi que la composition de la matrice peuvent également influencer le comportement des billes lors de la dissolution.

La dissolution des billes d'alginate de calcium en présence de citrate est liée à la capacité des ions citrate à former des complexes avec les ions calcium (Ca^{2+}) impliqués dans la réticulation du réseau d'alginate, entraînant ainsi sa désorganisation. Par conséquent, dans notre étude, la durée de dissolution plus longue des billes d'alginate contenant le mucilage (14 minutes contre 10 minutes) pourrait être liée à une cohésion plus importante de la matrice en présence du mucilage. Cette augmentation de la cohésion pourrait s'expliquer par des interactions entre les chaînes d'alginate et les polysaccharides du mucilage, pouvant conduire à un réseau polymérique plus dense et plus résistant à la désorganisation en présence du citrate. Ainsi, l'incorporation du mucilage pourrait ralentir le processus de dissolution des billes et potentiellement favoriser une libération plus progressive des probiotiques.

conclusion

Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'efficacité de l'utilisation du mucilage végétal extrait des graines de *Pimpinella anisum* L. comme matériau naturel pouvant être utilisé avec l'alginate pour l'encapsulation de la souche probiotique *Lactiplantibacillus plantarum*. Cette étude contribue à la recherche de matrices naturelles capables de protéger les cellules probiotiques et de maintenir leur viabilité pendant le stockage.

L'extraction aqueuse des graines de *P. anisum* a permis d'obtenir un mucilage présentant des propriétés fonctionnelles importantes, notamment une activité antioxydante, ainsi qu'un potentiel prébiotique, à travers son effet positif sur la croissance de *L. plantarum* dans les conditions expérimentales réalisées. Ces résultats mettent en évidence la possibilité d'utiliser le mucilage de *P. anisum* comme matériau naturel pouvant être intégré à l'alginate dans le procédé d'encapsulation des probiotiques.

Les résultats obtenus ont montré que la formulation incorporée au mucilage des graines d'anis (ALG-M) soutient une encapsulation efficace des cellules probiotiques *Lactiplantibacillus plantarum*, contribue à assurer une meilleure protection des cellules dans le milieu gastrique simulé, en plus de renforcer leur stabilité pendant le stockage. Les billes d'ALG-M ont montré de bonnes propriétés physiques, étant régulières et de forme sphérique, tandis que les diamètres des billes sont restés relativement proches dans les deux formulations. Le comportement de gonflement a montré une différence selon la valeur du pH et le temps d'exposition, avec un gonflement plus important observé pour la formulation ALG-M dans le milieu intestinal simulé. Ainsi, l'ajout du mucilage a modifié le comportement de dissolution des billes dans la solution de citrate.

Perspectives

- Optimiser les concentrations d'alginate et de mucilage végétal afin d'obtenir une formulation adaptée à l'encapsulation et à la conservation des probiotiques.
- Pour maintenir les propriétés des billes, il est utile de contrôler les conditions d'encapsulation, notamment la concentration en chlorure de calcium (CaCl_2) et le temps de réticulation.
- Poursuivre le développement des recherches liées à la conservation afin d'évaluer la stabilité des probiotiques et leur capacité à rester viables pendant de longues périodes.
- Utiliser ces billes dans des matrices alimentaires afin d'analyser leur comportement et la durée pendant laquelle les probiotiques restent viables pendant la période de stockage.

Les Références

Les Références

Les Références

- Agriopoulou, S., Tarapoulouzi, M., Varzakas, T., et Jafari, S. M. (2023). Application of Encapsulation Strategies for Probiotics: From Individual Loading to Co-Encapsulation. *Microorganisms*, 11(12), 2896. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122896>
- Ahmadi, M., Khajeh, F., Shahbahrami, R., Hashami, Z., Mirmoghtadaie, L., Ghobadi, R., Mortazavian, A. M., et Hosseini, S. M. (2025). Advanced synbiotic delivery platforms: Integrating prebiotic alginate co-encapsulants for probiotic protection in functional foods. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 12, 101022. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2025.101022>
- Almekhlafi, S. A., Farrag, M. A., Al-Wahibi, M. S., Al-Rashed, S., Almaarik, B. M., et Marraiki, N. A. Y. (2026). Encapsulation of Bacteriophages in Alginate Beads: Improved Viability Under Harsh Simulated Gastric and Intestinal Conditions for Phage Therapy Applications. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 19(3), 363. <https://doi.org/10.3390/ph19030363>
- Álvarez-Mercado, A. I., et Plaza-Díaz, J. (2022). Dietary Polysaccharides as Modulators of the Gut Microbiota Ecosystem: An Update on Their Impact on Health. *Nutrients*, 14(19), 4116. <https://doi.org/10.3390/nu14194116>
- Amer, A. M., et Aly, U. I. (2019). Antioxidant and antibacterial properties of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(1), 68–73. https://doi.org/10.4103/epj.epj_44_18
- Anal, A. K., et Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends In Food Science et Technology*, 18(5), 240–251. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.004>
- Asad, M., Ashraf, N., Rahman, S., Ahmad, K., Minhajuddin, A., et Zakir, M. (2022). Traditional uses, phytochemistry and pharmacological activities of anisun (*Pimpinella anisum* L.): A comprehensive review. *Annals of Forest Research*, 65(1), 5212–5227.
- Atia, A. (2016). Développement d'une matrice prébiotique pour l'encapsulation des probiotiques bactéricinogènes, destinée à l'alimentation animale. De la physicochimie à la biopharmacie (p. 55) [Thèse de doctorat, Université Laval].
- Bachtarzi, N., Gomri, M. A., Bouziani, A. E. Y., Bisson, G., Comuzzi, C., et Marino, M. (2026). Encapsulation of putative probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* Lbio1 in sodium alginate matrix: In vitro assessment of Its biofunctional properties and survivability. *Archives of Microbiology*, 208(5), 217. <https://doi.org/10.1007/s00203-026-04770-4>

Les Références

- Bajpai, S. K., et Sharma, S. (2004). Investigation of swelling/degradation behaviour of alginate beads crosslinked with Ca^{2+} and Ba^{2+} ions. *Reactive and Functional Polymers*, 59(2), 129–140. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2004.01.002>
- Bautista-Villarreal, M., Castillo-Hernández, S. L., López-Uriarte, S., et Barrón-González, M. P. (2023). Encapsulation of *Lactiplantibacillus plantarum* and beetroot extract with alginate and effect of capsules on rheological properties and stability of an oil-in-water emulsion model food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 73(3), 242–252. <https://doi.org/10.31883/pjfn/169729>
- Bentaiba, K., Belhocine, M., Chougrani, F., Bououdina, M., Mostari, A., Fernini, M., et Bouzouina, M. (2023). Effectiveness of *Withania frutescens* root extract on testicular damage induced by lead acetate in adult albino rats. *Reproductive Toxicology*, 115, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2022.12.006>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., et Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Burgain, J., Scher, J., et Gaiani, C. (2016). Microencapsulation de bactéries probiotiques. *Techniques de l'Ingénieur*, F3800 3.Four, A. (2023, 3 mars). L'encapsulation chimique et physico-chimique d'actifs. *PolymerExpert*. <https://polymerexpert.fr/blog/lencapsulation-chimique-et-physico-chimique-dactifs/>
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., et Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to Industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467–483. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031>
- Bustamante, M., Oomah, B. D., Burgos-Díaz, C., Vergara, D., Flores, L., et Shene, C. (2025). Viability of Microencapsulated Probiotics in Cross-Linked Alginate Matrices and Chia Seed or Flaxseed Mucilage During Spray-Drying and Storage. *Microorganisms*, 13(7), 1457. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13071457>
- Chiny, P., et Lignon, L. (2013). Les allergies et intolérances alimentaires. Existe-t-il un intérêt des probiotiques dans la prise en charge thérapeutique ? [Thèse de doctorat, Université de Lorraine].
- Colin, C., Akpo, E., Perrin, A., Cornu, D., et Cambedouzou, J. (2024). Encapsulation in Alginates Hydrogels and Controlled Release: An Overview. *Molecules*, 29(11), 2515. <https://doi.org/10.3390/molecules29112515>
- Cook, M. T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., et Khutoryanskiy, V. V. (2012). Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*, 162(1), 56–67. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.06.003>[reference:13]

Les Références

- De Oliveira, L. I. G., de Araujo, A. R. R., Pimentel, T. C., Capozzi, V., Bezerra, T. K. A., et Magnani, M. (2025). Probiotics and prebiotics in foodborne illness: Mechanisms, applications, and future directions. *Journal of Food Protection*, 88(9), 100584. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2025.100584>
- Demircan, H., et Oral, R. A. (2023). Parameters affecting calcium-alginate bead characteristics: Viscosity of hydrocolloids and water solubility of core material. *International journal of biological macromolecules*, 236, 124011. <https://doi.org/10.1016/j.Ijbiomac.2023.124011>
- Diaz-Negrete, N. I., Ramos Clamont Montfort, G., Cueto-Wong, C., López-Fernández, S. G., et Balandrán-Quintana, R. R. (2025). Encapsulation of *Lactiplantibacillus plantarum* Using Lactoferrin and Alginate: Layer-by-Layer Coating and Dual Coating Air Brush Approaches for Enhanced Stability. *Dairy*, 6(3), 27. <https://doi.org/10.3390/dairy6030027>
- Du, Z., Li, J., Li, W., Fu, H., Ding, J., Ren, G., Zhou, L., Pi, X., et Ye, X. (2023). Effects of prebiotics on the gut microbiota in vitro associated with functional diarrhea In children. *Frontiers In microbiology*, 14, 1233840. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1233840>
- FAO/WHO. (2001). Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Cordoba, Argentina, October 1–4, 2001.
- Four, A. (2023, 3 mars). L'encapsulation chimique et physico-chimique d'actifs. *PolymerExpert*. <https://polymerexpert.fr/blog/lencapsulation-chimique-et-physico-chimique-dactifs/>
- Georgieva, M., Andonova, L., Peikova, L., et Zlatkov, Al. (2014). Probiotics – health benefits, classification, quality assurance and quality control – review. *Pharmacia*, 61(4), 22–29.
- Ghल्ली, Z., Kallel, R., Krichen, F., Hakim, A., Zeghal, K., Boudawara, T., Bougatef, A., et Sahnoun, Z. (2020). Polysaccharide from *Pimpinella anisum* seeds: Structural characterization, anti-inflammatory and laser burn wound healing in mice. *International journal of biological macromolecules*, 156, 1530–1538. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.201>
- Gomez Quintero, D. F., Kok, C. R., et Hutkins, R. (2022). The Future of Synbiotics: Rational Formulation and Design. *Frontiers in Microbiology*, 13, 919725. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.919725>
- Gulcin, I., Oktay, M., Kirecci, E., et Kufrevioglu, O. I. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83, 371–382.
- Gupta, V., et Garg, R. (2009). Probiotics. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 27(3), 203–208. <https://doi.org/10.4103/0255-4857.53201>

Les Références

- Han, S., Lu, Y., Xie, J., Fei, Y., Zheng, G., Wang, Z., Liu, J., Lv, L., Ling, Z., Berglund, B., Yao, M., et Li, L. (2021). Probiotic gastrointestinal transit and colonization after oral administration: A long journey. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 609722. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.609722>
- Hadad, M., Hosseini, S. M., et Khani, M. (2021). Encapsulation of *Lactobacillus casei* in sodium alginate microcapsules: Improvement of the bacterial viability under simulated gastrointestinal conditions using wild sage seed mucilage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1024–1033.
- Hansen, L. T., Allan-Wojtas, P. M., Jin, Y. L., et Paulson, A. T. (2002). Survival of Ca-alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. In milk and simulated gastrointestinal conditions. *Food Microbiology*, 19(1), 35–45. <https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0452>
- Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., et Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 365s–373s. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.365s>
- Jackson, L. S., et Lee, K. (1991). Microencapsulation and the food industry. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 24(4), 289–297.
- Jan, T., Negi, R., Hilal, A., Kaur, S., Kour, D., Khan, S. S., Sheikh, S., Chauhan, P., Yadav, N., Rustagi, S., Rai, A. K., Singh, S., Yadav, A. N., et Ahmed, N. (2025). Microencapsulation techniques for probiotic formulations: Current scenario and future perspective. *Journal of Food Quality*, 2025, 6738124. <https://doi.org/10.1155/jfq/6738124>
- Jin, Z., et Wang, Y. (2026). Recent Progress in Probiotic Encapsulation: Techniques, Characterization and Food Industry Prospects. *Foods (Basel, Switzerland)*, 15(3), 431. <https://doi.org/10.3390/foods15030431>
- Kassem, I. A. A., Ashaolu, T. J., Kamel, R., Elkasabgy, N. A., Afifi, S. M., et Farag, M. A. (2021). Mucilage as a functional food hydrocolloid: Ongoing and potential applications in prebiotics and nutraceuticals. *Food et Function*, 12(11).
- Kim, H., Haque, M. A., Razzak, M. A., Jang, M. J., Song, S., et Ku, S. (2026). Probiotic Development Strategy Centered on Stability and Regulatory Considerations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 25(1), e70320. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70320>
- Kleerebezem, M., et Führen, J. (2024). Synergistic vs. complementary synbiotics: the complexity of discriminating synbiotic concepts using a *Lactiplantibacillus plantarum* exemplary study. *Microbiome Research Reports*, 3(4), 46. <https://doi.org/10.20517/mrr.2024.48>

Les Références

- Koh, W. Y., Lim, X. X., Tan, T.-C., Kobun, R., et Rasti, B. (2022). Encapsulated Probiotics: Potential Techniques and Coating Materials for Non-Dairy Food Applications. *Applied Sciences*, 12(19), 10005. <https://doi.org/10.3390/app121910005>
- Kruk, K., et Winnicka, K. (2022). Alginates Combined with Natural Polymers as Valuable Drug Delivery Platforms. *Marine Drugs*, 21(1), 11. <https://doi.org/10.3390/md21010011>
- Kvakova, M., Bertkova, I., Stofilova, J., et Savidge, T. C. (2021). Co-Encapsulated Synbiotics and Immobilized Probiotics in Human Health and Gut Microbiota Modulation. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(6), 1297. <https://doi.org/10.3390/foods10061297>
- Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M. W., Rehman, A., Riaz, T., Aadil, R. M., Khan, I. M., Özogul, F., Rocha, J. M., Esatbeyoglu, T., et Korma, S. A. (2023). Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1216674. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1216674>
- Londoño-Moreno, A., Mundo-Franco, Z., Franco-Colin, M., Buitrago-Arias, C., Arenas-Ocampo, M. L., Jiménez-Aparicio, A. R., Cano-Europa, E., et Camacho-Díaz, B. H. (2023). Controlled Release of Phycocyanin in Simulated Gastrointestinal Conditions Using Alginate-Agavins-Polysaccharide Beads. *Foods*, 12(17), 3272. <https://doi.org/10.3390/foods12173272>
- Lotfipour, F., Mirzaeei, S., et Maghsoodi, M. (2012). Preparation and characterization of alginate and psyllium beads containing *Lactobacillus acidophilus*. *The Scientific World Journal*, 2012, 680108. <https://doi.org/10.1100/2012/680108>
- Mahmoud, M., Abdallah, N. A., El-Shafei, K., Tawfik, N. F., et El-Sayed, H. S. (2020). Survivability of alginate-microencapsulated *Lactobacillus plantarum* during storage, simulated food processing and gastrointestinal conditions. *Heliyon*, 6(3), e03541. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03541>
- Malos, I. G., Pasarin, D., Ghizdareanu, A.-I., et Frunzareanu, B. (2025). A Promising Approach for the Food Industry: Enhancing Probiotic Viability Through Microencapsulated Synbiotics. *Microorganisms*, 13(2), 336. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020336>
- Markowiak, P., et Śliżewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*, 9(9), 1021. <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
- Mitsuwan, W., Saengsawang, P., Jeenkeawpieam, J., Nissapatorn, V., Pereira, M. L., Kitpipit, W., Thomrongsuwannakij, T., Poonthong, S., et Vimom, S. (2023). Development of a microencapsulated probiotic

Les Références

- containing *Pediococcus acidilactici* WU222001 against avian pathogenic *Escherichia coli*. *Veterinary World*, 16(5), 1131–1140. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.1131-1140>
- Nasiri, H., Golestan, L., Shahidi, S.-A., et Darjani, P. (2021). Encapsulation of *Lactobacillus casei* in sodium alginate microcapsules: Improvement of the bacterial viability under simulated gastrointestinal conditions using wild sage seed mucilage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(4), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01022-5>
- Nazir, S., Wani, I. A., et Masoodi, F. A. (2017). Extraction optimization of mucilage from Basil (*Ocimum basilicum* L.) seeds using response surface methodology. *Journal of Advanced Research*, 8(3), 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.01.003>
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., et Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806–1815. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.266>
- Nezamdoost-Sani, N., Khaledabad, M. A., Amiri, S., et Khaneghah, A. M. (2023). Alginate and derivatives hydrogels in encapsulation of probiotic bacteria: An updated review. *Food Bioscience*, 52, 102433. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102433>
- Oyeagu, U., Nwuche, C. O., Ogbonna, C. N., et Ogbonna, J. C. (2018). Addition of Fillers to Sodium Alginate Solution Improves Stability and Immobilization Capacity of the Resulting Calcium Alginate Beads. *Iranian Journal of Biotechnology*, 16(1), e1824. <https://doi.org/10.21859/ijb.1824>
- Park, S. Y., Truong, V. L., Jeon, S. G., Choe, S. Y., Rarison, R. H. G., Yoon, B. H., Park, J. W., Jeong, H. J., et Jeong, W. S. (2025). Anti-Inflammatory and Prebiotic Potential of Ethanol Extracts and Mucilage Polysaccharides from Korean Yams (*Dioscorea polystachya* and *Dioscorea bulbifera*). *Foods* (Basel, Switzerland), 14(2), 173. <https://doi.org/10.3390/foods14020173>
- Rather, S. A., Akhter, R., Masoodi, F. A., Gani, A., et Wani, S. M. (2017). Effect of double alginate microencapsulation on in vitro digestibility and thermal tolerance of *Lactobacillus plantarum* NCDC201 and *L. casei* NCDC297. *LWT – Food Science and Technology*, 83, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.036>
- Řepka, D., Kurillová, A., Murtaja, Y., et Lapčík, L. (2023). Application of Physical-Chemical Approaches for Encapsulation of Active Substances in Pharmaceutical and Food Industries. *Foods*, 12(11), 2189. <https://doi.org/10.3390/foods12112189>

Les Références

- Sekhavatizadeh, S. S., Maftoonazad, N., Motashafi, H., Nikkhah, M., et Asnaashari, M. (2026). Double-layer microencapsulation of *Lactocaseibacillus rhamnosus* using sodium alginate and nano-mucilages of Qodume Shirazi and *Camelina sativa* for probiotic goat milk dessert. *Biotechnology Reports*, 49, e00950. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2026.e00950>
- Serna-Cock, L., et Vallejo-Castillo, V. (2013). Probiotic encapsulation. *African Journal of Microbiology Research*, 7(40), 4743–4753. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.53718>
- Shafizadeh, A., Golestan, L., Ahmadi, M., Darjani, P., et Ghorbani-HasanSaraei, A. (2020). Encapsulation of *Lactobacillus casei* in alginate microcapsules: Improvement of the bacterial viability under simulated gastrointestinal conditions using flaxseed mucilage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(4), 1901–1908. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00437-w>
- Shojaii, A., et Abdollahi Fard, M. (2012). Review of Pharmacological Properties and Chemical Constituents of *Pimpinella anisum*. *ISRN Pharmaceutics*, 2012, 510795. <https://doi.org/10.5402/2012/510795>
- Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., et Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients*, 11(7), 1591. <https://doi.org/10.3390/nu11071591>
- Van Zyl, W. F., Deane, S. M., et Dicks, L. M. T. (2020). Molecular insights into probiotic mechanisms of action employed against intestinal pathogenic bacteria. *Gut Microbes*, 12(1), 1831339. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1831339>
- Wan, M. L. Y., Forsythe, S. J., et El-Nezami, H. (2018). Probiotics interaction with foodborne pathogens: a potential alternative to antibiotics and future challenges. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1490885>
- Wedajo, B. (2015). Lactic acid bacteria: benefits, selection criteria and probiotic potential in fermented food. *Journal of Probiotics et Health*, 3(2). <https://doi.org/10.4172/2329-8901.1000129>