



DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

Mémoire de fin d'études N°...../SNV/2020

Présenté par

BEDDAICHE Amina et LAZREUG Zineb

Pour l'obtention du diplôme de

Master en sciences alimentaires

Spécialité: NUTRITION ET PATHOLOGIE

Thème

*Effet de quelques prébiotiques sur la
croissance des souches de Lactobacillus
plantarum isolées du lait de vache*

Déposé le 10/09/2020

Devant le Jury

Président	M. ZERROUKI Kheira	MCB à U. Mostaganem
Encadreur	M. KOUADRI BOUDJELTHIA Nacima	MAA à U. Mostaganem
Examineurs	M. YAHLA Imène	MCB à U. Mostaganem

Remerciements

Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail et de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre promotrice de mémoire:

***M^{me}. Kouadri Boudjelthia Nacima** pour la qualité de son encadrement apportée, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions tout au long de ce travail.*

Nous voulons vraiment vous remercier car nous avons eu beaucoup de chance de vous avoir comme directrice de mémoire.

Nous adressons également nos remerciements;

*A **Mme. Zerrouki Kheira**, la Présidente du jury et **Melle. Yahla Imène**, l'examinatrice; merci d'avoir accepté d'évaluer ce modeste travail.*

Nous tenons à remercier;

Tous les professeurs et les enseignants de l'Université de Mostaganem qui nous ont enseigné au cours de nos cinq années d'université...notre respect et notre appréciation pour eux tous.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents :

*Mon cher père **Bendhiba**, l'école de mon enfance et ma chère mère **Malika**, le
symbole de tendresse:*

*Mercie pour tous; votre amour, votre soutien, vos sacrifices et vos prières tout au
long de mes études, que **Dieu** vous procure bonne santé et longue vie.*

A mes frères :

Mansour, Hamza et Mohamed

*A ma sœur; **Kaouther** et ma belle-sœur; **Faiza** pour leurs encouragements et leur
soutien.*

A mon cher neveu :

Abdelillah

Mon plus profond respect à mon enseignante :

Mme. Kouadri Boudjelthia Nacima

A mes amies :

Romayssa, Sihem, Souhila, Ilhem, Soria, Batoul, Meriem, Khadidja, Somia.

A mon binôme :

Amina

*A tous les professeurs de mon cursus
universitaire qui mon éclairé la voie du
savoir.*

*A tous les camarades de ma promotion (2ème année Master Nutrition et
Pathologie/2020)*

Zineb.

Dédicace

Je dédie ce travail :

A Mes parents :

*Mon cher **papa** et ma tendre **maman***

Qui m'ont nourri d'amour, enveloppé de confort et m'ont appris tout ce que je sais;

Qui m'ont guidé vers le tunnel éclairé du savoir!

A Mon cher frère :

***Norin**, que dieu te garde.*

A Mon cher mari :

***Karim**;*

Pour sa présence, sa compréhension et son soutien moral et financier.

Mon plus profond respect va tout droit à mon enseignante :

Mme. Kouadri Boudjelthia Nacima

A mes très chères amies :

Zineb, Aicha, Fethia, Marwa, Romayssa, Souhila , Sihem, Ilhem.

A Mes cousines :

Fatima, kheira, Touatia, Soumia

A Mon cher oncle :

Abdalfid

A Ma chère tante :

charifa.

*A tous les professeurs de mon cursus
universitaire qui m'ont éclairé la voie du
savoir.*

Amina.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude *in vitro* de l'effet prébiotique de différents substrats glucidiques sur le développement des souches lactiques du genre *Lactobacillus plantarum* isolées du lait de vache. L'expérimentation prévue pour l'étude consiste à déterminer, la cinétique de croissance de ces souches bénéfiques en présence des substrats glucidiques (inuline, pectine, etc...), et la mise en évidence de la production d'acide lactique par les cultures enrichies avec les substances prébiotiques choisies. Les articles scientifiques analysés démontrent que, parmi les prébiotiques largement étudiés et capables d'améliorer considérablement la croissance des bactéries et l'acidité titrable (Inuline; Pectine. Oligofructose...etc.), l'inuline est le prébiotique le plus utilisé et le plus efficace pour de nombreuses espèces de bactéries lactiques probiotiques; particulièrement (*Lactobacillus acidophilus La-5* et *Bifidobacterium animalis Bb- 12*).

Mots clés : prébiotiques, croissance, *Lactobacillus plantarum*, bactéries lactiques, fibres alimentaires.

Abstract

The aim of this work is the *in vitro* prebiotic effect of different carbohydrate substrates on lactic acid strains growth of the genus *Lactobacillus plantarum* isolated from cow's milk. Planned experiment for this study consisted on the use of carbohydrate substrates (inulin, pectin, etc.) as prebiotic to improve growth of our strains and lactic acid production. The analyzed scientific articles demonstrate that, among the prebiotics widely studied and able to improve bacterial growth and acidity (Inulin, Pectin, Oligofructose...etc.), inulin is the most used and most effective prebiotic for many species of probiotic lactic acid bacteria; particularly (*Lactobacillus acidophilus La-5* and *Bifidobacterium animalis Bb- 12*).

Key words: prebiotics, growth, *Lactobacillus plantarum*, lactic acid bacteria, dietary fiber.

المخلص

يهدف هذا العمل الى دراسة التأثير البريببوتيكي لأنواع مختلفة من الكربوهيدرات في تحفيز نمو بعض البكتيريا اللبنية من سلالة *Lactobacillus plantarum* المعزولة من حليب البقر. التجربة المخبرية المخططة للعمل، تنص على تحديد حركية نمو هذه السلالات المفيدة مع دراسة إنتاج حمض اللاكتيك لكل منها في وجود ركيزة من أنواع الكربوهيدرات المختارة (إينيلين، بكتين، أوليوفريكتوز... الخ)، وذلك لإثبات تأثيرها البريببوتيكي.

نتائج المقالات العلمية المحللة في إطار هذه الدراسة، سمحت لنا القول أنه من بين الكربوهيدرات المختلفة المستعملة كبريببوتيك لتدعيم النمو وإنتاج حمض اللاكتيك وبعض الخصائص الأخرى للسلالات المفيدة (الخصائص بروبايوتيكية لبكتيريا حمض اللاكتيك)، الإينيلين تعد الركيزة الأكثر استخداما وذات التأثير البريببوتيكي الأكثر فعالية لأنواع كثيرة من البكتيريا اللبنية خاصة *Lactobacillus acidophilus La5* و *Bifidobacterium animalis Bb12*

الكلمات المفتاحية: البريببوتيك، النمو، *Lactobacillus plantarum* ، البكتيريا اللبنية، الألياف الغذائية.

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Résumés	
المخلص	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01
Partie I: Rappels bibliographiques	02
I. Les prébiotiques	02
I.1. Définition.....	02
I.2. Critères de sélection d'un prébiotique.....	03
I.3. Diversité des prébiotiques et leurs classifications.....	05
I.3.1. Les prébiotiques reconnus.....	06
I.3.1.1. Les FOS.....	06
I.3.1.2. L'inuline.....	07
I.3.1.3. Les oligosaccharides.....	07
I.3.1.4. Les pectines.....	08
I.3.1.5. Le lactulose.....	08
I.3.2. Les prébiotiques émergents.....	08
I.4. Aspect réglementaire des prébiotiques.....	09
I.5. Mécanisme d'action des prébiotiques.....	10
I.6. Interaction prébiotique-bactéries.....	13
I.7. Effet bénéfique des prébiotiques sur la santé.....	13
II. Les Bactéries lactiques	17
II.1. Généralités.....	17
II.2. Optimisation de la croissance des bactéries lactiques par les prébiotiques.....	18
Partie II : Matériel et Méthodes	20
II.1. Matériel.....	20
II.1.1. Matériel biologique.....	20

II.1.2. Milieux de cultures.....	20
II.2. Méthodes.....	21
II.2.1. Préparation des souches lactiques.....	21
II.2.2. Procédure de fermentation des substrats prébiotiques.....	21
II.2.3. Détermination de la cinétique de croissance et survie du pH.....	21
II.2.4. Le pouvoir acidifiant.....	21
II.2.5. Effet des substrats prébiotiques sur la croissance des souches lactiques en conditions gastro-intestinales simulées.....	22
II.2.5.1. Préparation des cultures lactiques fraîches.....	22
II.2.5.2. Détermination de la tolérance des souches lactiques aux conditions gastro-intestinales simulées en présence des substrats prébiotiques.....	22
Partie III : Résultats et Discussion.....	24
I. L'objectif de notre étude.....	24
II. Liste des articles sélectionnés.....	24
III. Discussion générale.....	24
Conclusion.....	43
Références bibliographiques.....	45

Liste des abréviations

- **AFSSA** : agence française de sécurité sanitaire des aliments
- **AGCC** : Acides Gras Courte Chaîne
- **AXOS** : Arabinoxylanes
- **Bb/Bf** : *Bifidobacterium*
- **BL/LAB** : Bactéries lactiques
- **CPL** : Concentré de Protéines de Lactosérum
- **DO** : Densité Optique
- **DP** : Degré de Polymérisation
- **EPS** : Expolysaccharides
- **FAO** : Food and Agriculture Organization
- **FOS** : Fructo-oligosaccharides
- **FSP** : Produit de soja fermenté
- **g/L** : Gramme par litre
- **GOS** : Galacto-oligosaccharides
- **GRAS** : Generally Recognized as Safe
- **IgA** : Immunoglobulines A
- **IMO** : Isomalto-oligosaccharides
- **Lb** : *Lactobacillus*
- **LEP** : Lait entier et écrémé en poudre
- **MICI** : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin
- **ml** : millilitre
- **MRS** : de Man-Regosa et Sharp
- **NF-B** : Nuclear factor kappa-light chain-enhancer of activated B cells.
- **OMS** : Organisation Mondiale de Santé
- **P** : *Pedococcus*
- **PGIYRP** : Récepteurs peptidoglycane recognition protein
- **RCH** : Réctolite Héorragique
- **SOS** : Oligosaccharides de Soja
- **sp** : Espèce
- **ssp** : Sous-espèce
- **TGI** : Tractus gastrointestinale
- **UC Denver** : Université de Colorado Denver
- **UFC** : Unité Formant Colonies
- **WGO** : World Gastroenterology Organisation
- **XOS** : Xylo-oligosaccharides

Liste des tableaux

Tableau 1: Proposition de critères de sélection des prébiotiques à application intestinale5

Tableau 2: Mécanisme des interaction probiotiques et prébiotiques/hôte..... 11

Tableau 3: Principaux prébiotiques et leurs effets16

Tableau 4: Les souches lactiques.....20

Tableau 5: Valeurs moyennes du pH des produits de soja fermenté pendant le stockage réfrigéré (4 ± 1 C°).....25

Tableau 6: Survie de *L. acidophilus La-5* et de *B. animalis Bb-12* dans la culture fraîche ABT-4 en bouillon de MRS à 37 °C pendant 18 h avant (0 h) et pendant l'exposition à des conditions gastriques (2 h) et entériques (4 h et 6 h) simulées *in vitro*26

Tableau 7: Plan d'expérience des formulations de yaourt27

Tableau 8: Caractéristiques physicochimiques des yaourts pendant leur stockage à 4 C^a28

Tableau 9: Texture profile des formulationS de yaourts pendant le stockage à 4 C^a29

Tableau 10: Croissance des BL à un pH de 6,0.31

Tableau 11: Croissance des BL à 48 et 60 heures d'incubation..... 31

Tableau 12: Effet de la pectine sur la croissance des BL.31

Tableau 13: Survie de *L. acidophilus* dans les échantillons de crème glacée pendant le stockage..32

Liste des figures

Figure 1: Principaux critères d'acquisition du statut "prébiotique" par les glucides végétaux	5
Figure 2: Différents modes d'action des prébiotiques selon André Burckel.....	11
Figure 3: Effets direct et indirect des prébiotiques sur l'épithélium intestinale et le système	11
Figure 4: Action des synbiotiques sur le système immunitaire de l'intestin	16
Figure 5: Nombre d' <i>Aspergillus niger</i> (log10 ufc/g) pour les groupes de yaourts examinés pendant leur conservation au réfrigérateur (4°C)	36
Figure 6: Dénombrement de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (log10 ufc/g) pour les groupes de de yaourts examinés pendant leur stockage au réfrigérateur (4°C).....	36
Figure 7: Analyse microscopique des souches de <i>Lactobacillus</i>	38
Figure 8: Utilisation des oligosaccharides par fermentation des souches B5 et B8 de <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> sur la MRS avec 2% d'oligosaccharides	39
Figure 9: Analyse PCR de colonies de <i>Lactobacillus acidophilus</i> de type L10	41
Figure 10: Comptage viable des colonies de <i>Lactobacillus casei</i> L26 sur un milieu sélectif	41

INTRODUCTION

Introduction

Le terme de prébiotique, fut introduit par **Gibson et Roberfroid en 1995**, il désigne des additifs, ou des ingrédients alimentaires non digestibles qui affectent de façon bénéfique l'hôte en stimulant sélectivement la croissance ou l'activité de certaines bactéries du colon, comme par exemple les bactéries lactiques qui colonisent plus de 93% de la flore intestinale et jouent un rôle primordial dans notre métabolisme et qui peuvent ainsi améliorer la santé de l'hôte en gardant les pathogènes en nombre réduit et sécuritaire, qui leur permet de vivre en symbiose dans notre corps sans nuire (**Gibson et Roberfroid, 1995**).

Ils sont classés selon la taille de la molécule et son origine, naturelle ou synthétique à savoir les hexoses tels que le fructose, glucose, galactose et mannose, et les pentoses tels que le ribose, xylose et arabinose sont les monosaccharides prébiotiques les plus importants (**Van immerseel et al., 2003 ; Gibson et al., 2004**).

Les glucides non digestibles ne sont pas tous des prébiotiques car ils doivent respecter des critères scientifiques particuliers afin de satisfaire à la définition des prébiotiques, ces molécules doivent pouvoir atteindre intactes le côlon où elles pourront alors être fermentées sélectivement dans l'écosystème intestinal complexe (**Wang, 2009**).

Le rôle principal des prébiotiques est donc de servir de substrat à certaines bactéries à activité probiotique et d'influencer favorablement l'équilibre de flore intestinale en favorisant la croissance et/ou l'activité bactérienne (**Steer, 2003**). En effet, l'intérêt des probiotiques et des prébiotiques est parfois d'obtenir un « bon profil de flore intestinale » car certains prébiotiques favoriseraient la multiplication et l'activité des microorganismes bénéfiques pour l'hôte; et d'autres prébiotiques, modifieraient l'écosystème intestinal en neutralisant les récepteurs des bactéries pathogènes présents sur l'épithélium intestinal (**Huyghebaert et al., 2011 ; Vondruskova et al., 2010**).

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet de quelques prébiotiques sur la croissance des souches de *Lactobacillus plantarum* isolées du lait de vache. Pour ce faire, le manuscrit est articulé en trois parties, la première, comporte des rappelles bibliographiques. Dans la deuxième partie, le protocole expérimental prévu est démontré, et la troisième partie, c'est la partie d'analyse des articles sélectionnées ou sont discutées les différentes méthodes et les résultats obtenus par ces recherches.

Partie I:
Rappels bibliographiques

I. Les prébiotiques

I.1. Historique et Définitions:

Fondamentalement, le nouveau concept de prébiotique a été transmis en tenant compte de son application pour la santé humaine et le bien-être (**Gibson et Roberfroid, 1995**). Depuis les dernières décennies, il y a un intérêt croissant entre la microflore gastro-intestinale et les différentes fonctions physiologiques des êtres humains, avec une grande attention portée aux glucides prébiotiques qui ne sont pas digérés ou utilisés par les enzymes sécrétées par le système glandulaire propre aux eucaryotes ; mais sont complètement accessibles au groupe sélectif des communautés microbiennes bénéfiques gastro-intestinales de la microflore intestinale. Les glucides sont stockés sous forme de fructane dans plus de 36 000 espèces disponibles dans le monde (**Hendry, 1987**).

En raison de la mauvaise conservation du matériel végétale par les premiers ancêtres, la preuve physique de la consommation de cultures riches en prébiotiques est pratiquement inexistante (**Leach et al., 2006**). Cependant, on pourrait certainement présumer que les prébiotiques d'aujourd'hui, soit l'inuline soit l'oligofructose, étaient consommés par les ancêtres du Pliocène et du Pléistocène il y a un million d'années à travers les divers matériaux végétaux (**Laden et Wrangham, 2005 ; Leach, 2007**). Progressivement, les denrées alimentaires riches en prébiotiques sont devenues une partie de l'alimentation humaine dans certaines régions au cours des premiers jours et on pense que la quantité de consommation prébiotique pourrait dépasser le niveau prébiotique d'aujourd'hui consommé par la population moderne (**Van Loo et al., 1995**).

Récemment, la définition scientifique des prébiotiques a été transmise au milieu des années 90 (**Gibson et Roberfroid, 1995**), en gardant à l'esprit l'importance d'utiliser des composés dérivés de plantes pour améliorer la santé et la fonctionnalité intestinales. En raison de son immense importance, le prébiotique est actuellement considéré comme un précurseur parmi plusieurs nutraceutiques pour une application au maintien de la santé de routine ainsi que pour le traitement écologique des troubles liés au tractus gastro-intestinal.

Les aspects clés d'un prébiotique consistent dans le fait qu'il n'est pas facile à être assimilé par l'hôte et qu'il confère un effet bénéfique sur la santé de l'individu en ayant une influence positive sur les microbes bénéfiques natifs (**Bäckhed et al., 2012**).

Les prébiotiques sont des oligosaccharides définis comme « non digestibles ingrédients alimentaires » qui, lorsqu'ils sont consommés en quantités suffisantes, de manière sélective stimulent la croissance et /ou l'activité d'une ou d'un nombre limité des microbes dans le colon

entraînant des avantages pour la santé. Ils ont une incidence positive sur la composition et le métabolisme de l'activité de la microflore intestinale (**Desmond et al., 2005 ; Schwab et al., 2007**).

Les composés prébiotiques peuvent aussi avoir un effet immunomodulateur avec ou sans l'ajout de bactéries probiotiques. En outre, les effets des prébiotiques comme agents stabilisants dans des produits probiotiques pendant le stockage, la lyophilisation, et séchage par pulvérisation ont été rapportés par plusieurs auteurs (**Desmond et al., 2005 ; Schwab et al., 2007**).

Ils traversent le tractus gastro-intestinal supérieur sans être digérés, et pénètrent dans le gros intestin où ils peuvent influencer la croissance des populations microbiennes et possèdent des effets anti-inflammatoires, antimicrobiens et anti-cancérigènes, jouant ainsi un rôle important dans le maintien de l'intestin et de l'homéostasie immunitaire (**Tan et al., 2014**). Les prébiotiques les plus étudiés qui peuvent être utilisés sélectivement par les bifidobactéries et les lactobacilles comme substrats sont les fructo-oligosaccharides (FOS), les galacto-oligosaccharides (GOS) et l'inuline (**Watson et al., 2013**).

I.2. Critères de sélection d'un prébiotique

Les glucides non digestibles ne sont pas tous des prébiotiques car ils doivent respecter des critères scientifiques particuliers afin de satisfaire à la définition des prébiotiques, ces molécules doivent pouvoir atteindre intactes le côlon où elles pourront alors être fermentées sélectivement dans l'écosystème intestinal complexe (**Wang, 2009**). Les candidats prébiotiques doivent être sélectionnés selon les différents critères décrits dans le tableau 01 et selon **Wang, (2009)** il existe 5 critères qui doivent être validés qui sont:

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

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

essentiellement composés de fructose. Les termes de fructo-oligosaccharides (FOS) et d'oligo-fructose sont utilisés pour des inulines de faible poids moléculaire (**Mussatto *et al.*, 2007**).

D'autres candidats existent (isomalto-oligosaccharides, lacto sucrose, xylooligosaccharides, oligosaccharides du soja, gluco-oligosaccharides, gomme arabique, hydrolysats de pectines...) qui ont fait ou font l'objet d'études préliminaires mais sans, à ce jour, satisfaire les critères ci-dessus (**Mussatto *et al.*, 2007**).

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

Cependant, les doses recommandées pour que les prébiotiques soient efficaces, dépendent du profil bactérien des sujets et de la nature de ses molécules actives. En effet, certains prébiotiques de faible masse molaire sont susceptibles d'induire la production de plus forte quantité de gaz à l'origine de douleurs abdominales et pourraient provoquer à forte dose des diarrhées osmotiques. Par ailleurs, les prébiotiques sont faiblement tolérés par les personnes à troubles intestinaux (**Cummings et Macfarlane, 2002 ; Marteau *et al.*, 2001**). En outre, jusqu'à présent, aucun élément n'indique un risque particulier allergique lié à l'utilisation de glucides indigestibles (**AFSSA, 2003**).

Tableau 1: Proposition de critères de sélection des prébiotiques à application intestinale

(Franck, 2002 ; AFSSA, 2003).

CRITERES DE SECURITE	<ul style="list-style-type: none"> • produits ou organismes à l'origine de l'ingrédient parfaitement caractérisés procédé d'obtention parfaitement décrit • identification et caractérisation des molécules actives • identification des microorganismes ciblés pour la fermentation • pas de production excessive de gaz
CRITERES FONCTIONNELS	<ul style="list-style-type: none"> • non digestibilité et non assimilation dans la partie supérieure du système gastro-intestinal • fermentescible dans le côlon de façon sélective par un nombre limité de bactéries potentiellement favorables • capacité à altérer la composition de la microflore colique en faveur d'une flore potentiellement plus saine • induction éventuelle d'effets systémiques qui peuvent être positifs pour la santé de l'hôte
CRITERES TECHNOLOGIQUES	<ul style="list-style-type: none"> • pas de modification de l'ingrédient au cours des transformations et du stockage des préparations

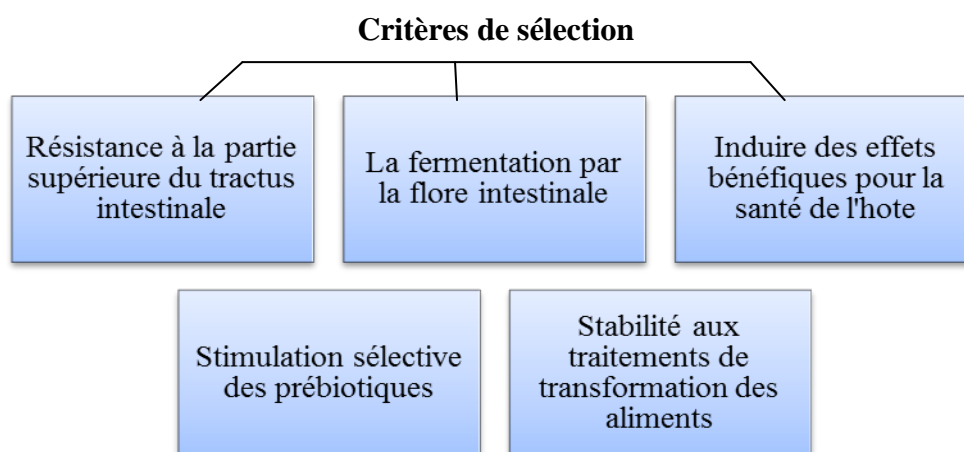


Figure 1: Principaux critères d'acquisition du statut "prébiotique" par les glucides végétaux (Wang, 2009).

I.3. Diversité des prébiotiques et leurs classifications

La majorité des prébiotiques sont des oligosaccharides (enchaînement de 2 à 20 résidus de pentose ou d'hexose) (Delzenne, 2003). On distingue différentes classes de prébiotiques, selon la

taille de la molécule ou suivant leur origine, naturelle ou synthétique à savoir les hexoses tels que le fructose, glucose, galactose et mannose, et les pentoses tels que le ribose, xylose et arabinose sont les monosaccharides prébiotiques les plus importants (**Van immerseel et al., 2003 ; Gibson et al., 2004**). Le galactose est disponible sous forme de disaccharides tels que le lactose. Aussi, le monosaccharide le plus couramment utilisé comme prébiotique est certainement le mannose et les disaccharides naturels les plus utilisés sont le sucrose, le lactose et le maltose (**Conway, 2001**). Les oligosaccharides sont produits la plupart du temps par synthèse ou par hydrolyse enzymatique, soit à partir des hexoses mono-saccharidiques, soit à partir de la paroi de cellules microbiennes ou par fermentation de polysaccharides (**Conway, 2001**). Parmi les oligosaccharides, les fructo-oligosaccharides (FOS) sont produits par hydrolyse d'inuline ou par synthèse à partir de sucrose ou de lactose. Les FOS réduisent la colonisation de l'intestin par *Salmonella*. L'administration de FOS dans les aliments pour volaille semble également réduire la colonisation de l'intestin par *Campylobacter* et les *Salmonelles* (**Gibson et Fuller, 2000 ; Van immerseel et al., 2003**) :

I.3.1. Les prébiotiques reconnus : Le premier groupe est essentiellement constitué de trois familles : les fructo-oligosaccharides (FOS), les galacto oligosaccharides (GOS) et le lactulose ; ces prébiotiques sont aujourd'hui bien reconnus au Japon, en Europe et aux Etats Unis (**Bodinier et Gourbeyre, 2012**).

I.3.1.1. Les FOS : Les FOS sont des oligomères de D-fructose associés par des liaisons α -(1→2) avec un résidu D-glucose en bout de chaîne lié en β -(1→2). Ils sont obtenus par réaction d'hydrolyse enzymatique de l'inuline. L'inuline est un ensemble de polymères de fructose de DP >20, elle est extraite industriellement de la chicorée, mais on la trouve également dans l'ail, l'oignon, la tomate, la banane et l'artichaut de Jérusalem (**Crittenden, 1999**). Ce sont les prébiotiques les plus étudiés et leur aptitude à stimuler la croissance de *Bifidobactérium* a été établie par de nombreuses études tant in vitro que in vivo (**Roberfroid, 1998**). Parmi les principaux prébiotiques FOS commercialisés, on retrouve Les FOS Actilight (950P), sont produits par transfructosylation catalysée par l'enzyme fructosyltransferase (EC 2.4.1.9.) d'*Aspergillus niger* à partir de saccharose et commercialisés par Béghin Meiji Industries (France) (**Bornet et al., 2002**). Les FOS Raftilose (P95) : sont issus de l'hydrolyse enzymatique partielle de l'inuline par l'endo-inulinase (EC 3.2.1.7.) et commercialisés par Orafiti (Belgique) (**Roberfroid et al., 1998**). Ce sont des polymères de fructose de longueur variable qui peuvent être dérivés de simples polymères de fructose ou d'éléments de fructose attachés à une molécule de saccharose par liaison β -(2→1), et ils existent à l'état naturel dans un certain nombre de plantes dont l'oignon, la chicorée, l'artichaut, l'ail, le topinambour et l'endive (**Grizard et Barthomeuf, 1999 ; Bornet, 2001**).

I.3.1.2. L'inuline : est considérée comme le prébiotique le plus utilisé comme ingrédient dans de nombreuses préparations alimentaires et la plus efficace pour de nombreuses espèces de probiotiques (Cardarelli *et al.*, 2008). L'inuline n'est pas digérée par les enzymes de l'hôte et atteint le côlon, où elle agit sur le microbiote intestinal et ses activités métaboliques. Elle a donc des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, comme la modulation du métabolisme des lipides, l'amélioration de l'absorbabilité du calcium, l'amélioration du système immunologique et la modification de la fonction intestinale (Marteau *et al.*, 2011). L'inuline est reconnue comme un ingrédient alimentaire naturel dans toute l'Union européenne et a obtenu le statut "Generally Recognized as Safe" (GRAS) aux États-Unis (Abed *et al.*, 2016). On la trouve aussi dans les artichauts, les asperges, les topinambours, le blé, les oignons, l'ail, le poireau et la banane. L'inuline peut être utilisée soit pour ses avantages nutritionnels, soit pour ses propriétés technologiques et fonctionnelles, mais elle est souvent appliquée pour offrir un double avantage : amélioration des propriétés sensorielles, substitut de graisse, substitut de sucre, émulsion, faible teneur en calories et stabilisateur de mousse (Franck, 2007 ; González-Herrera *et al.*, 2015). L'inuline est un mélange d'oligo- et de polysaccharides essentiellement composés de fructose. C'est un fructane dont la liaison β (2-1) qui unit les radicaux fructosyl entre eux n'est pas hydrolysable par les enzymes digestives de l'homme. Elle l'est, au contraire, par l'enzyme β fructosidase, présente chez les bifidobactéries (Quigley, 2010).

I.3.1.3. Les Galacto-oligosaccharides (GOS) : sont des oligomères d'hexoses. Ce sont des produits alimentaires avec des propriétés nutritionnelles intéressantes. Ils peuvent être naturellement présents dans la nourriture, surtout dans les fruits, les légumes ou les céréales, ou produits par biosynthèse à partir de sucres ou de polysaccharides naturels et additionnés à des produits alimentaires pour leurs caractéristiques organoleptiques ou leurs propriétés nutritionnelles (Conway, 2001). Les oligosaccharides résistent aux réactions enzymatiques se produisant dans l'estomac et la partie supérieure de l'intestin. Ils deviennent ainsi les substrats d'espèces bactériennes intestinales capables d'hydrolyser spécifiquement les oligosaccharides en acides gras à chaînes courtes (acétate, lactate, propionate, butyrate) par fermentation (Rycroft, 2001).

Comme avec les FOS, les tests *in vitro* mettent en évidence un effet bifidogène mais ils accroissent également la population des lactobacilles (Tanaka, 1983). Sur des rats porteurs d'une microflore humaine, Rowland *et al.* (1993) a montré que les transgalacto oligosaccharides augmentaient le nombre de *bifidobactéries* et de *lactobacilles* mais en outre diminuaient le nombre d'entérobactéries. De plus ces oligomères réduisent les activités enzymatiques néfastes. Chez l'homme plusieurs études aboutissent aux mêmes résultats (Tanaka, 1983 ; Ito, 1990).

I.3.1.4. Les pectines : sont abondantes dans les fruits des Dicotylédones et caractéristiques des espaces intercellulaires (**Bruneton, 2009**). Elles proviennent de la lamelle et de la paroi des cellules des végétaux supérieurs. Elles servent de ciment intercellulaire. Elles constituent également la peau des fruits (orange : 30% ; pomme : 15% ; oignon: 12%) (**Bouquelet, 2008**). Ce sont des polygalacturonanes très hydrophiles qui constituent la matrice au sein de laquelle on retrouve les fibres de cellulose de la paroi (**Bouquelet, 2008**).

Les pectines sont abondantes dans les fruits charnus immatures. D'abord insolubles, elles assurent une certaine rigidité aux tissus, puis sont dégradées en sucres et en acides au cours du mûrissement. Elles sont obtenues par extraction à partir de pulpe résiduelle de citrons et de pommes. L'acide pectique est insoluble dans l'eau et l'hydrosolubilité augmente avec l'accroissement du degré de polymérisation (**Bruneton, 2009**).

I.3.1.5. Le lactulose: est un disaccharide de synthèse utilisé comme médicament dans le traitement de la constipation et de l'encéphalopathie hépatique (**Hallmann, 2000**). Il est connu pour ses effets laxatifs lorsqu'il est pris à fortes doses (supérieures à 20g par jour) (**Salminen, 1997**). Mais à plus faibles doses, il permet en tant que prébiotique d'augmenter le nombre de *bifidobactéries* alors que le nombre de *Clostridium perfringens*, de *Bacteroides*, de *streptocoques* et d'*entérobactéries* décroît en présence de ce dernier (**Salminen, 1997; Terada, 1992 ; Ballongue, 1997 ; Tuohy, 2002**).

I.3.2. Les prébiotiques émergents

Plusieurs causes sont à l'origine du développement de nouveaux prébiotiques : tout d'abord les progrès réalisés dans les processus de production puis les développements des biotechnologies et de la génétique moléculaire et par la suite la recherche de diversification des voies de valorisation de certains produits naturels, déchets de l'agriculture. Parmi ces prébiotiques émergents on peut citer : les isomalto-oligosaccharides (IMO), les oligosaccharides de soja (SOS) et les xylo-oligosaccharides (XOS)(**Gibson, 2000 ; Rabi, 2001 ; Rastall, 2002**).

Les XOS sont constitués de formes oligomériques de résidus xylose liés en β -(1-4), et comportent également les arabinoxylanes (AXOS). Les XOS sont essentiellement obtenus par hydrolyse des hétéroxylanes constituant les parois cellulaires végétales, en particulier celles des céréales comme les sons d'avoine et de blé (**Madhukumar et Muralikrishna, 2010**).

Ces prébiotiques sont naturellement présents dans des aliments tels que les poireaux, les asperges, la chicorée, les topinambours, l'ail, les oignons, le blé, l'avoine et le soja (**Coussement, 1995**).

Les aliments à base de son d'avoine ont fait l'objet de plusieurs investigations, particulièrement en raison de leur contenu en β -glucanes, éléments structuraux d'une fibre soluble présente en grande quantité dans cette céréale. Ces fibres favorisent l'excrétion fécale du cholestérol en diminuant sa synthèse hépatique, ce qui contribue à une réduction significative, de la cholestérolémie par un mécanisme d'action probablement lié à la viscosité du β -glucane, qui interférerait avec la réabsorption des acides biliaires (Truswell, 2002).

Le son d'avoine renferme également des minéraux comme le manganèse, le magnésium, le fer et le sélénium, et il est considéré comme une bonne source de vitamines (vitamine B1 et B5) (Marlett *et al.*, 2002). On retrouve notamment les gluco-oligosaccharides et les pecti-oligosaccharides (Rycroft, 2001 ; Olano-martin, 2002 ; Rastall, 2002).

Il existe également certains légumes comme source de prébiotiques; à savoir la chicorée appartenant à la grande famille des astéracées. Le genre *Cichorium* comprend deux espèces cultivées : *Cichoriumintybus* et *Cichoriumendivia*. Les principes actifs d'intérêt présents dans ces légumes sont les composés phénoliques, les caroténoïdes et les fructanes. Les phénols et les caroténoïdes sont de puissants antioxydants. La quercétine et le kaempférol sont les principaux flavonoïdes de la chicorée. Elle contient aussi des acides phénoliques (fêrulique et caftarique)(Arabbi *et al.*, 2004).

La consommation d'aliments riches en caroténoïdes serait reliée à un risque moindre de développer certains cancers. La chicorée sauvage, crue ou cuite, contient des quantités intéressantes de lutéine et de bêta-carotène (Sies et Stahl, 2005).

L'**artichaut**(*Cynarascolymus*) est également un légume riche en polyphénols. Il renferme aussi de l'inuline; ce qui lui confère un rôle favorable sur le plan de la santé intestinale, du système immunitaire et de la synthèse ou l'absorption de plusieurs nutriments (Lopez-Molina et Navarro-Martinez, 2005 ; Schutz et Persike, 2006).

I.4. Aspect réglementaire des prébiotiques

Les prébiotiques sont classés au niveau européen en tant qu'ingrédient alimentaire ou additif alimentaire (Franck, 2002). Tout comme pour les fibres alimentaires, la non-digestibilité des prébiotiques est une des caractéristiques principales. La question se pose donc de savoir s'il faut classer ou non les prébiotiques en tant que fibres alimentaires. Pour l'instant, seuls les FOS Actilight et Raftilose ont obtenu les confirmations réglementaires du statut de fibres solubles depuis 2002(Champ, 2003).

I.5. Mécanisme d'action des prébiotiques:

Les prébiotiques ne sont pas des organismes vivants mais les nutriments servant de « nourriture » aux probiotiques (flore intestinale bénéfique) (**Roberfroid, 2001**). En ingérant des fibres prébiotiques spécifiques, on peut ainsi favoriser le développement de certaines bactéries bénéfiques. En effet, ils peuvent être utilisés de manière indirecte comme substrat pour certaines bactéries commensales et les produits de cette fermentation ce qui permet d'augmenter la production de certains acides organiques et acides gras volatils qui peuvent ensuite influencer les différents processus moléculaires et cellulaires des tissus de l'hôte (**Roberfroid, 2007**).

Les mécanismes d'action des prébiotiques ne sont pas tous bien compris. La recherche suggère deux modes d'action (**Figure-02**) :

- Certains prébiotiques favoriseraient la multiplication et l'activité des microorganismes bénéfiques pour l'hôte;
- D'autres prébiotiques, tels que les mannane-oligosaccharides, modifieraient l'écosystème microbien intestinal en neutralisant les récepteurs des bactéries pathogènes présents sur l'épithélium intestinal. Les prébiotiques préviendraient ainsi la colonisation et la multiplication de certaines bactéries pathogènes (**Huyghebaert et al., 2011; Vondruskova et al., 2010**).

De nouvelles recherches suggèrent que les prébiotiques peuvent agir de manière directe en se fixant sur les récepteurs des cellules cibles (**Figure 03**)(**Selle et al., 2018**). De nombreux compléments alimentaires contiennent à la fois des prébiotiques et des probiotiques afin d'optimiser l'action de chacun (**Tableau-02**)(**WGO., 2011**).

Les prébiotiques agissent en amont des probiotiques où le probiotique va fournir directement un micro-organisme aux actions bénéfiques pour l'hôte, alors que le prébiotique se contente d'apporter une source nutritive sélective d'une flore bénéfique pour l'hôte (**Marteau et al., 2004**).

Le mode d'action des prébiotiques est donc à rapprocher de celui des probiotiques, ils échappent à la digestion dans l'intestin grêle et sont des substrats potentiels pour l'hydrolyse et la fermentation par les bactéries intestinales. Les prébiotiques doivent agir comme substrat sélectif d'une ou d'un nombre restreint de souches bactériennes bénéfiques qui résident dans le côlon et en stimuler la croissance. Les *bifidobactéries* et les lactobacilles sont les micro-organismes du microbiote intestinal les plus fréquemment ciblés (**Marteau et al., 2004**).

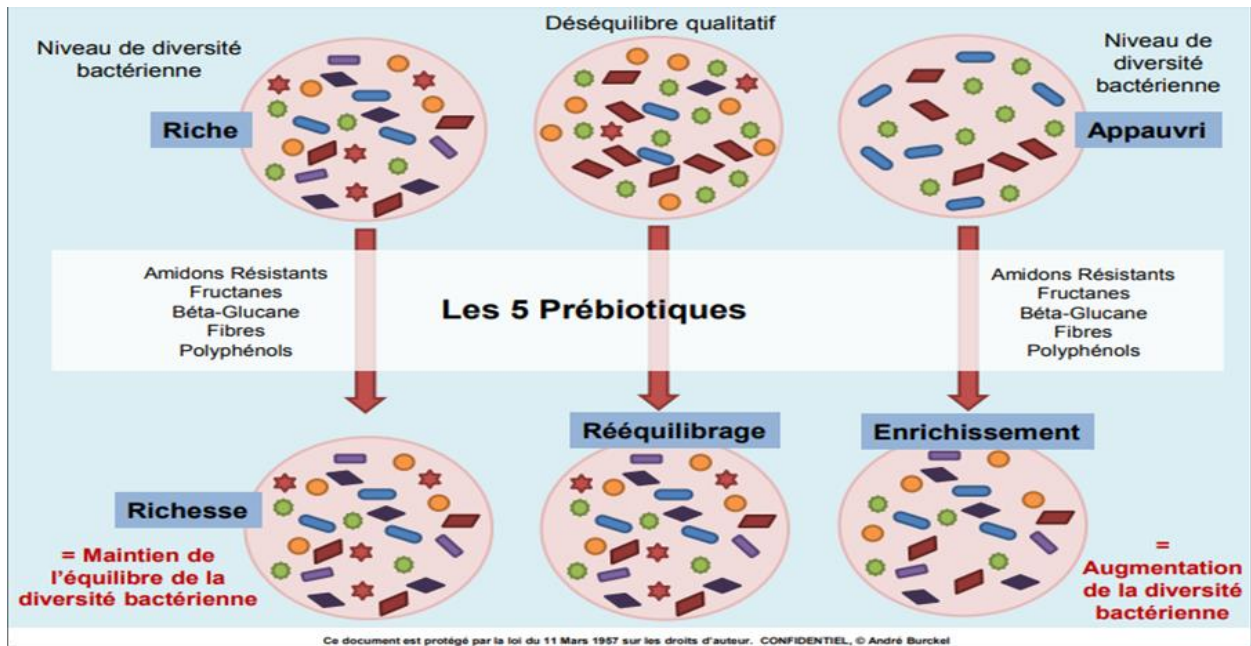


Figure 2: Différents modes d'action des prébiotiques selon André Burckel (Ce document est protégé par la loi du 11 Mars 1957 sur les droits d'auteur. confidentiel, © André Burckel)

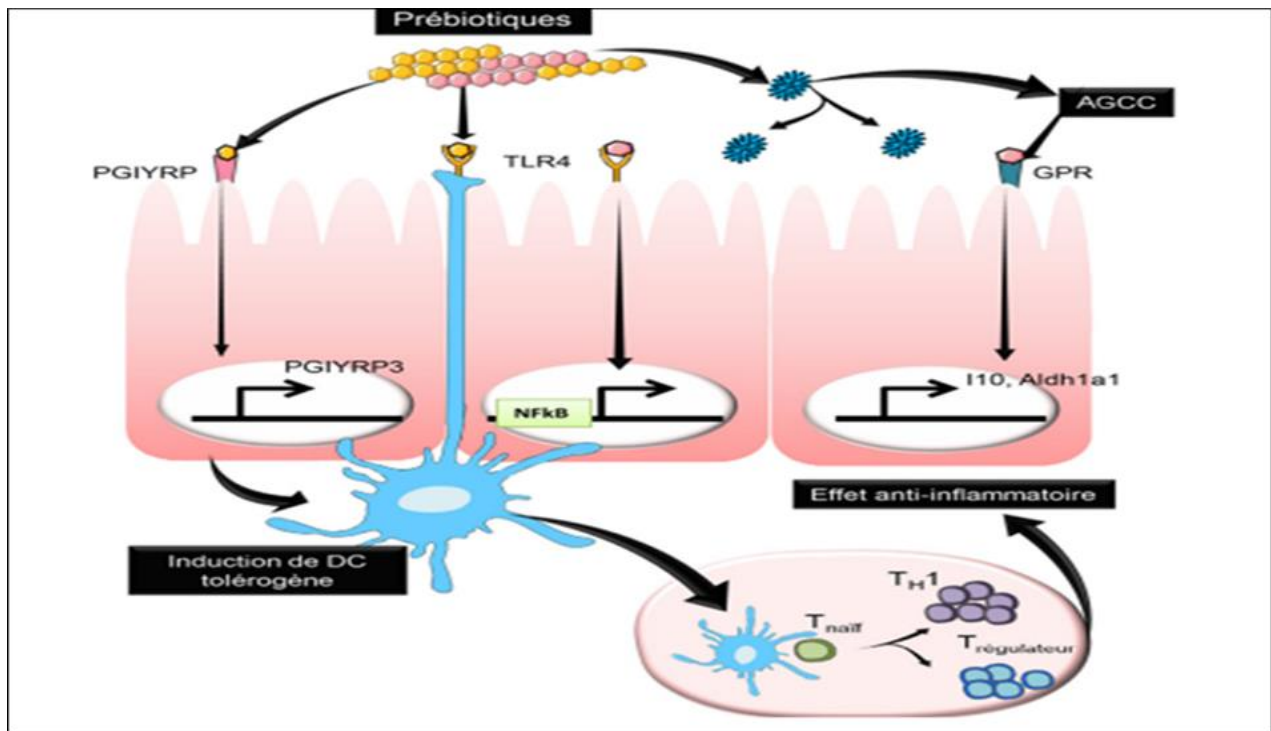


Figure 3: Effets direct et indirect des prébiotiques sur l'épithélium intestinale et le système Immunitaire (Selle *et al.*, 2018).

Tableau 2: Mécanisme des interactions probiotiques et prébiotiques/hôte (WGO, 2011).

Probiotiques
<p>Effets immunologiques positifs</p> <ul style="list-style-type: none"> • Activation des macrophages locaux pour augmenter la présentation des antigènes aux lymphocytes B et augmenter la production d'immunoglobulines sécrétées A (IgA) à la fois sur un plan local et systémique • Modulation du profil des cytokines • Induction d'une tolérance aux antigènes alimentaires <p>Effets non immunologiques</p> <ul style="list-style-type: none"> • Digestion de la nourriture et compétition avec les pathogènes pour les nutriments • Modification du pH local de manière à créer un environnement défavorable aux pathogènes • Production de bactériocines pour inhiber les pathogènes • Éliminer les radicaux superoxydes • Stimulation de la production de mucus par l'épithélium • Amélioration de la fonction de la barrière intestinale • Compétition pour l'adhésion avec les pathogènes • Modification des toxines dérivées des pathogènes positifs
Prébiotiques
<p>Effets métaboliques</p> <ul style="list-style-type: none"> • Production d'acides gras à chaîne courte, absorption de ions (Ca, Fe, Mg) • Renforcement de l'immunité de l'hôte (production d'IgA, modulation des cytokines, etc.)

Les probiotiques affectent l'écosystème intestinal en stimulant les mécanismes immunitaires muqueux et en stimulant les mécanismes non immunitaires par antagonisme et par compétition avec les pathogènes potentiels (**Tableau-02**). Ces phénomènes induisent la plupart des effets positifs, y compris la réduction de l'incidence et de la sévérité des diarrhées, pathologie la plus universellement reconnue pour bénéficier de l'usage des probiotiques. Les probiotiques réduisent le risque de cancer du côlon dans des modèles animaux, probablement en supprimant l'activité de certaines enzymes bactériennes qui pourraient augmenter le niveau des procarcinogènes, mais ceci n'a pas été démontré chez l'humain (WGO, 2011). La symbiose entre le microbiote et l'hôte peut être optimisée par une intervention pharmacologique ou nutritionnelle sur l'écosystème microbien de l'intestin en utilisant des probiotiques ou des prébiotiques (WGO, 2011).

I.6. Interaction prébiotiques-bactéries

Les probiotiques et les prébiotiques peuvent être combinés pour former des produits synbiotiques qui profiteront davantage aux consommateurs tout en étant bénéfiques pour la santé car les formulations synbiotiques contenant des produits alimentaires sont très utilisées pour le développement d'aliments thérapeutiques (**Frost et Sullivan, 2003**).

Les bactéries intestinales sont capables de digérer les fibres alimentaires et de les décomposer. Cette digestion libère des composés bénéfiques à l'organisme (dont le propionate et le butyrate, des acides gras à chaîne courte). Ainsi, les bactéries, bien « nourries » grâce aux fibres, vont croître plus rapidement et en plus grand nombre, peuplant ainsi l'intestin de bactéries bénéfiques à la santé. Il y a donc un double effet de l'interaction entre les aliments prébiotiques et les bactéries intestinales (**Denver, 2017**).

- Libération de molécules favorables à la santé (dont les acides gras à chaîne courte).
- Développement des « bonnes » bactéries intestinales, au détriment des « mauvaises »

Les bonnes bactéries sont des bactéries protectrices sans lesquelles nous ne pourrions pas vivre, et qui confèrent à l'organisme de nombreux bénéfices pour la santé. Leur croissance est notamment favorisée par les fibres alimentaires. Les mauvaises bactéries sont quant à elles pathogènes et peuvent entraîner des pathologies en libérant des toxines. La croissance de ces dernières est favorisée par les aliments sucrés (sucre simple)(**Denver, 2017**).

I.7. Effet bénéfique des prébiotiques sur la santé

De nombreux effets bénéfiques des prébiotiques sur la santé de l'homme ont été mis en évidence grâce à des études sur modèles animaux puis sur l'homme et révèlent l'importance de l'utilisation des prébiotiques pour promouvoir les bienfaits pour la santé (**Gibson et Roberfroid, 1995 ; Schrezenmeir et De Vrese, 2001**). L'intérêt principal des prébiotiques est donc de servir de substrat à certaines bactéries du côlon et ainsi favoriser leur croissance et/ou leur activité. Les prébiotiques peuvent aussi empêcher la dégradation de la génistéine (**Steer, 2003**).

- **Action sur les MICI et sur l'inflammation de l'intestin:** dans le traitement de la trouble colite, il y a quelques indications expérimentales quant aux effets bénéfiques de l'inuline dans l'amélioration de la colite distale chez le rat (**Videla et al., 2001**). Chez les porcelets, **Tang et al., (2005)** ont rapporté que la supplémentation alimentaire par 0,12% galacto-oligosaccharide mannane a été en mesure d'augmenter les performances de croissance et de réduire la diarrhée.
- **Action sur l'obésité avec une réduction de la satiété,** de la masse grasse et des possibles complications liées à cette pathologie en particulier dans le métabolisme des lipides. En effet, les prébiotiques agissent sur la diminution des facteurs de risques associés à l'obésité et sur la

perte du poids; ils réduisent également la glycémie (**Roberfroid et al., 2010; Johnston et al., 2010**).

- **Action sur le développement et la croissance des bifidobactéries** : effet bifidogène, qui permet d'éviter l'implantation des bactéries pathogènes. Les prébiotiques sont principalement connus pour leur impact sur la modulation du microbiote intestinal. En effet, il a été démontré que la gomme d'acacia produisait une augmentation plus importante des *bifidobactéries* et des lactobacilles qu'une dose égale d'inuline et entraînait moins d'effets secondaires gastro-intestinaux, tels que des gaz et des ballonnements (**Calame et al., 2008**).
- **Amélioration de l'absorption des minéraux**: tels que le Mg, Zn, Fe et Ca (par diminution du pH). L'usage de prébiotiques augmente aussi l'absorption des minéraux. Cet effet est mesurable pour le magnésium, le calcium, le fer et le zinc. Lorsqu'elles utilisent les prébiotiques, les bactéries bénéfiques fabriquent des acides faibles (acides lactiques, butyrique) (**Scholz-Ahrens et al., 2001; Scholz-Ahrens et Schrezenmeir, 2002**).

Chez l'homme, les prébiotiques, notamment inuline et FOS, stimuleraient l'absorption colique du calcium en faveur de l'abaissement du pH colique et d'une solubilisation accrue, via peut-être les AGCC qui pourraient induire une absorption calcique jusque dans le côlon distal (**Trinidad et al., 1996; Van Loo et al., 1999**). Chez les jeunes adolescents, la consommation quotidienne d'une combinaison de prébiotique à courte et à longue chaîne, fructanes de type inuline de manière significative, augmente l'absorption du calcium et favorise la minéralisation osseuse pendant la croissance pubertaire et l'absorption peut être modulée par des facteurs génétiques spécifiques, y compris vitamine D polymorphismes du gène du récepteur (**Abrams et al., 2005**). Les prébiotiques agissent sur l'absorption du calcium et du magnésium ce qui améliorerait la minéralisation osseuse et diminuerait donc le risque d'ostéoporose (**Scholz-ahrens, 2000**).

En outre, des études sur des modèles animaux ont montré une disponibilité d'augmentation du calcium avec de l'inuline et de l'oligofructose dans l'alimentation (**Scholz-Ahrens et Schrezenmeir, 2007**). Par ailleurs, chez le porcelet anémique, une alimentation riche en inuline déclenche une régulation des gènes codant pour des transporteurs de fer dans les entérocytes (**Tako et al., 2008**).

- **Augmentation du transit intestinal**: un des tous premiers effets établi par la consommation des prébiotiques est l'accroissement de la masse fécale par la biomasse formée, ce qui a comme impact, l'amélioration du péristaltisme intestinal qui augmente la fréquence d'excrétion fécale, paramètre essentiel dans la lutte contre la constipation (**Alli et al., 2007**). Aussi, les prébiotiques sont des substances qui favorisent la régularité du système digestif en encourageant la prolifération des bactéries bénéfiques dans les intestins. Les recherches semblent indiquer qu'un avantage numérique de bonnes bactéries aide le système digestif à préserver sa santé normale,

car cela signifie que les bactéries potentiellement nuisibles sont en position d'infériorité et qu'elles sont moins en mesure de causer des problèmes (Joanne Slavin, 2013). La capacité de modifier favorablement la microflore intestinale a été démontrée par un certain nombre d'autres sources de fibres et d'aliments végétaux (Tableau-02)(Bonatti, M. et al., 2008)

- **Favorisation de l'élimination des pro-carcinogènes:** dans une étude *in vitro* sur des lignées coliques HT29 L97 (qui représente le début et le stade final de cancer du côlon), les fractions de surnageant de la fermentation de inuline a montré une importante croissance d'inhibition et induction de l'effet apoptose dans les cellules tumorales du côlon humain. (Munjaj et al., 2009). L'acide butyrique est utilisé par les cellules épithéliales de la muqueuse du côlon comme source d'énergie, étant en outre un facteur de croissance (Bugautet et Bentéjac, 1993). De récentes études précliniques ont rapporté que le butyrate pourrait être dans la chimio-prévention de la carcinogenèse (Scheppach et Weiler, 2004) ou agent protecteur contre le cancer du côlon par la promotion de la différenciation des cellules (Kim et al., 1982). Un régime supplémenté d'inuline ou d'oligofructose abaisse l'incidence des tumeurs du sein chez les rates et les souris et inhibe les métastases dans le poumon (Taper et Roberfroid, 2002). En outre, la combinaison des probiotiques *Lb. rhamnosus* et *Bifidobacterium animalis subsp lactis* avec de l'inuline enrichie en oligofructose s'est révélée efficace contre le développement de tumeurs au niveau du côlon chez le rat (Femia et al., 2002).
- **Production d'acides gras à chaînes courtes et Action sur l'immunité de l'hôte:** La production d'IgA et modulation des cytokines par une combinaison de prébiotiques tels que le polydextrose et le lactitol affecte l'écosystème microbien du tractus gastro-intestinal de rat et améliore la réponse immunitaire en augmentant la sécrétion d'immunoglobulines A (IgA) (Peuranen et al., 2004). En effet, lors de l'ingestion de prébiotiques, les oligosaccharides pénètrent dans l'intestin. Ils entrent alors en contact direct avec les cellules épithéliales. Lors de l'étude *in vitro* de l'effet anti-inflammatoire des prébiotiques sur des lignées d'entérocytes, Marwa Zenhom et al. (2011) ont mis en évidence la fixation des oligosaccharides aux récepteurs peptidoglycane recognition protein (PGIYRP). Cette liaison inhibe l'expression de cytokines pro-inflammatoires et la translocation du facteur NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) dans le noyau et cela suggère que l'effet immunomodulateur induit par les prébiotiques est médié par les molécules sécrétées par les cellules épithéliales (Selle A. et al., 2018).

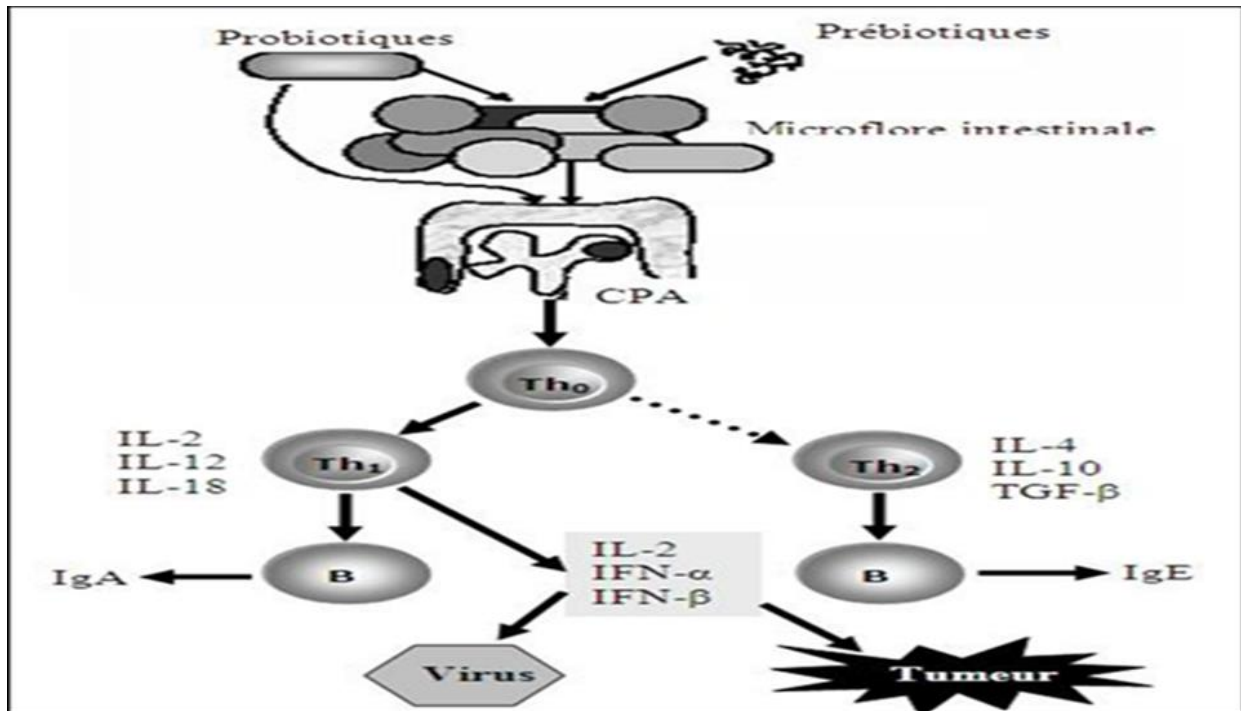


Figure 4: Action des synbiotiques sur le système immunitaire de l'intestin (Ouwehand *et al.*, 2002).

Tableau 3: Principaux prébiotiques et leurs effets (Bonatti, M. *et al.*, 2008).

Traitement	Effets prébiotiques
Dextrine de blé	Augmentation des bactéroïdes /Diminution de <i>Clostridium perfringen</i> (Lefranc-Millot C., 2012)
Inuline	Bifidogène (Costabile A., <i>et al.</i> , 2010 ; Ramnani P., <i>et al.</i> , 2010)
GOS	Bifidogène (Eli M., <i>et al.</i> , 2008)
Gomme d'Acadie	Bifidogène (Tucker LA. et Thomas K.S., 2009)
Psyllium	Potentiel prébiotique (Lanza E., <i>et al.</i> , 2007)
Polydextrose	Bifidogène (Howarth NC. <i>et al.</i> , 2006 ; Let R.E., <i>et al.</i> , 2006)
Céréales pour petit déjeuner WG	Potentiel prébiotique (Lanza E., <i>et al.</i> , 2007 ; Ramnani P., <i>et al.</i> , 2010)
Banane	Microbiote fécale (Calame W. <i>et al.</i> , 2008)

II. Les bactéries lactiques

II.1. Généralités

Le groupe des bactéries lactiques ou bactéries productrices de l'acide lactique a été défini en 1919 par Orla-Jensen. Les nombreux genres (*Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Alloicoccus* et *Carnobacterium*) et espèces qui constituent ce groupe présentent une grande diversité de caractéristiques morphologiques et physiologiques. Cela se traduit par l'existence au sein des espèces de nombreuses souches possédant des propriétés technologiques différentes. **(Desmazeaud, 1998).**

Ce sont des cellules vivantes, procaryotes, gram-positives, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles sont le plus souvent immobiles, jamais sporulées, catalase négative, oxydase négative, anaérobies facultatives, micro aérophiles, et sont dites homofermentaires lorsque l'acide lactique est le seul produit formé; par contre elles sont hétérofermentaires lorsque d'autres composés comme l'éthanol et le CO₂ sont produits en même temps. **(Tailliez, 2001).**

Le genre *Lactobacillus sp* est le plus large parmi les bactéries lactiques avec plus de 145 espèces reconnues **(Euze'by, 1997)**. C'est un genre très diversifié, avec une taxonomie qui est généralement considérée comme peu satisfaisante **(Canchaya et al., 2006; Makarova et al, 2006 ; Felis et Dellaglio, 2007)**. On les retrouve notamment dans différentes niches écologiques comme les plantes, le tractus gastro-intestinal (homme et animaux: traditionnellement associés à *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. salivarius* et *L. reuteri*), les plantes (*L. plantarum*, *L. brevis*, *P. pentosaceus* et *Leuconostoc mesenteroides*), la viande (*L. plantarum*, *L. brevis*, *L. pentosaceus* et *L. sakei*) et les produits laitiers (*L. helveticus*, *L. bulgaricus* et *L. casei*) **(Leveau et Bouix, 1993 ; Hassan et Frank, 2001)**.

Les lactobacilles sont des cellules allongées, régulières en forme de bâtonnets ou coccobacilles isolés ou en chaînettes de taille variable, asporogènes, immobiles ou mobiles grâce à des flagelles péritriches, anaérobies facultatifs. Leurs exigences nutritionnelles complexes et leurs températures de croissance (2 à 53°C) sont très variables d'une espèce à l'autre mais elles sont toutes acidophiles avec un pH optimal de croissance de 5,5 à 6,2. La diversité des espèces est due à la variation en contenu guanine/cytosine (G/C%) qui varie entre 30 à 55% selon les espèces **(De Vos et al., 2009)**.

Certaines espèces de bactéries lactiques associées au tractus gastro-intestinal (GI) sont considérées comme des probiotiques, qui confèrent des avantages de santé à l'hôte. Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité suffisante, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte. Cette définition ne se limite pas aux seules bactéries comme agent

probiotique, mais inclue tous les micro-organismes, dont les levures. De plus, elle spécifie que les microorganismes contenus dans les suppléments alimentaires doivent être viables, de façon à pouvoir exercer leurs effets bénéfiques (FAO, 2001).

Les bactéries lactiques peuvent prévenir les maladies gastro-intestinales, les diarrhées (Marteau *et al.*, 1998) et ils ont une activité anti-cholestérol (Ziar, 2013 ; Gilliland, 1985). Cependant depuis quelques années l'usage des bactéries lactiques dans d'autres écosystèmes (vaginal, mammaire) est évalué, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives thérapeutiques (contre les mammites)(Bouchard, 2013), également dans l'élaboration des vaccins (Calvez *et al.*, 2009).

II.2. Optimisation de la croissance des bactéries lactiques par les prébiotiques

La stimulation des probiotiques par les prébiotiques entraîne la modulation de l'activité métabolique dans l'intestin avec le maintien de la biostructure intestinale, le développement d'un microbiote équilibré et l'inhibition des agents pathogènes potentiels présents dans le tractus gastro-intestinal (De Vrese et Schrezenmeir, 2008). En effet, des expériences récentes sur les animaux ont montré une symbiose par l'application de lactulose à une cultures de *Lactobacillus reuteri* prévient la colite chez les souris déficientes en interleukine 10(Doyle *et al.*, 1999). Par ailleurs, cette symbiose entre le prébiotique et probiotique entraînent une réduction des concentrations de métabolites indésirables, ainsi que l'inactivation des substances cancérigènes et l'augmentation significative de cétones, de sulfure de carbone et d'acétates de méthyle, ce qui peut avoir un effet positif sur la santé de l'hôte (Manigandan *et al.*, 2012).

Une étude récente de Bartosch *et al.* (2005) réalisée sur un groupe de volontaires âgés (> 62 ans) dont le contenu intestinale en *bifidobactéries* est fortement réduit par l'âge, a démontré que l'ingestion d'un symbiotique à base de *Bifidobacterium bifidum* et *Bifidobacterium lactis* (probiotique) et de l'inuline (prébiotique) a augmenté significativement la taille et la diversité des population de bifidobactéries dans les matières fécales par rapport au groupe contrôle placebo (Amrouche, 2005).

Différentes stratégies ont été utilisées pour obtenir des taux de survie plus élevés des probiotiques dans le TIG, comme la co-administration avec des prébiotiques, d'autres probiotiques et/ou l'utilisation d'une matrice alimentaire (Su *et al.*, 2007 ; Martinez *et al.*, 2011).

Un nombre important de combinaisons synbiotiques confirme l'effet synergique du prébiotique pour améliorer la survie et la croissance des probiotiques *in vitro* et *in vivo*, les preuves bibliographiques sont encore limitées (Duncan et Flint, 2013). En ce qui concerne leur efficacité thérapeutique, les propriétés souhaitables de ce type de symbiose entre probiotique et prébiotique, comprennent les

effets antibactériens, anti-cancérogènes et anti-allergiques (**Tan et al., 2014**). En effet, une étude (**Roberfroid, 2007**) a testé l'efficacité d'un synbiotique (*Bifidobacterium longum* + inuline) dans l'évolution de paramètres associés à la RCH (Réctolite Héorragique) (**Roberfroid, 2007**).

Les prébiotiques aident à surmonter la gastro-entérite aiguë en stimulant la croissance des *bifidobactéries* et des lactobacilles, qui agissent comme une barrière contre l'invasion de micro-organismes pathogènes alimentaires. Les bactéries probiotiques se combinent pour la nutrition et les sites de colonisation, produisent des acides gras à chaîne courte, abaissent le pH et sécrètent des agents antimicrobiens contre les bactéries pathogènes, réduisant ainsi leur invasion dans l'intestin (**Englyst et Cummings, 1987**).

Les prébiotiques, comme l'oligofructose, l'inuline, le xylo-oligosaccharide et le lactulose, jouent un rôle important dans la réduction de la constipation (**Panesar et Kumari, 2011**).

D'autres effets bénéfiques de la synergie des probiotiques avec les prébiotiques sont à noter à savoir, un effet anti caries, où des prébiotiques tels que le nystose ont été signalés comme présentant de faibles propriétés cariogènes et peuvent servir d'édulcorants de remplacement avec une réduction des problèmes dentaires (**Panesar, et Bali, 2016**).

Les prébiotiques, comme le GOS, le xylo-oligosaccharide, et l'isomalto-oligosaccharide, ont été signalés comme ayant un rôle significatif dans la réduction du cholestérol et des triglycérides sériques (**Delzenne et al., 2002**).

Il existe aussi de nombreuses théories concernant la relation entre la consommation de fibres et le diabète de type II. Par exemple, la consommation régulière de la quantité recommandée de fibres peut atténuer le taux d'absorption du glucose, prévenir la prise de poids et augmenter la charge en nutriments bénéfiques et en antioxydants dans l'alimentation, ce qui peut contribuer à prévenir le diabète (**Joanne Slavin, 2013**).

Partie II:

Matériel et Méthodes

III. Matériel et méthodes

Dans cette partie est détaillé le protocole prévu pour notre étude, mais malheureusement nous n'avons pas pu entamer les manipulations à cause de la situation pandémique du Covid-19 qui a tout annulé. Le plan de travail était établi ainsi:

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel biologique

Les huit souches lactiques qui devait être testées dans ce travail ont été isolées et identifiées génétiquement dans le cadre du doctorat en science de notre Promotrice (**Tableau-04**).

Tableau 4: Les souches lactiques

Souches	Identification Moléculaire PCR16s/ BLAST	Origine
LbN05	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de vache
LbN09	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de vache
LbN10	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de vache
LbN11	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de vache
LbN12	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de vache
LbN13	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de vache
LbN14	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de vache

III.1.2. Milieux de cultures

- **Le milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe)** (De Man et al., 1960) : Le milieu MRS est constitué de 10 g.L-1 de peptone, 5 g.L-1 d'extrait de levure, 10 g.L-1 d'extrait de viande, 5 g.L-1 d'acétate de sodium, 2 g.L-1 de citrate de sodium, 5g.L-1 de glucose, 2 g.L-1 KH₂PO₄, 0.25 g.L-1 Mg SO₄, 0.005 g.L-1 MnSO₄, 1mL de Tween 80, 1000 ml d'eau distillée, le pH final est de 6.5 ±0.2.
- Le milieu MRS (bouillon et gélose) pH 6.5 sans Glucose ni extrait de viande, additionné de 2% (P/V) de différents substrats prébiotiques (inuline, lactulose, cellulose et pectine) comme seule

source de carbone, sera utilisé comme milieu pour tester leur effet sur la croissance des isolats de lactobacilles.

III.2. Méthodes

III.2.1. Préparation des souches lactiques : Les souches conservées à -20°C dans du glycérol, seront réactivées sur des milieux MRS et incubées en anaérobiose à 37°C pendant trois jours successifs. Par la suite, $200\mu\text{L}$ de cultures jeunes (de 18 à 24h) des différentes souches servent à inoculer 10ml de MRS liquide pendant trois jours successifs, afin d'obtenir une concentration initiale de 1.109 UFC/mL . Les tubesensemencés par des monocultures sont toujours incubés en anaérobiose à 37°C (Keddari, 2014).

III.2.2. Procédure de fermentation des substrats prébiotiques

Selon le protocole de Su *et al.* (2007). brièvement, les milieux MRS en présence (contrôle positif) ou en absence (contrôle négatif) de glucose, additionnés de différents substrats prébiotiques (effet prébiotique) sont répartis chacun dans des flacons à raison de 100 mL/flacon puisensemencés en monoculture par les différentes souches bénéfiques à raison de 1% (V/V) de façon à avoir une concentration finale de 1.107 UFC/mL . Les flacons sont incubés en anaérobiose à 37°C pendant 48 h (Su *et al.*, 2007).

III.2.3. Détermination de la cinétique de croissance et suivi du pH : La cinétique de croissance des souches bénéfiques (*Lactobacilles plantarum*) est déterminée par la mesure de la densité optique (DO) à 600 nm au spectrophotomètre et l'acidité développée dans les milieux de cultures sera suivie par la mesure du pH à l'aide d'un pH mètre: Un échantillon est recueilli au démarrage de la fermentation (0h); puis des prélèvements sont effectués régulièrement (après 3h, 6h, 9h, 12h, 24h et 48h) pour suivre la biomasse produite et mesurer le pH (Su *et al.*, 2007).

III.2.4. Le pouvoir acidifiant

Il s'agit de doser l'acide lactique titrable par la soude (NaOH, N/9) en présence d'un indicateur coloré de pH la phénolphthaléine (Larpen, 1997). L'acidité titrable mesurée est assimilée à des degrés Dornic ($^{\circ}\text{Dornic}$) où 1°Dornic équivaut à 0.1g d'acide lactique/l de lait. Pour réaliser ce test, les souches serontensemencées à raison de 1% dans des tubes contenant 10ml de MRS stérile additionné des différentes source prébiotique, Après agitation, les mesures sont prises à intervalles de temps 0h, 2h, 4h, 6h et 24h d'incubation à 30°C . L'acidité est déterminée par la formule :

Acidité(°D) = $V_{NaOH} \times 10 / V_{NaOH}$: Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans 10ml de milieu MRS.)

III.2.5. Effet des substrats prébiotiques sur la croissance des souches lactiques en conditions gastro-intestinales simulées

III.2.5.1. Préparation des cultures lactiques fraîche

Selon le protocole de **Bedani et al. (2013)**, une souche de probiotique commerciale a été cultivée en Bouillon MRS (Oxoid) à 37 °C pendant 18 h. Les cellules ont été récoltées par centrifugation (Sorvall Instruments modèle RC 5C, Wilmington, USA) à 10000 tr / min, à 4 °C, pendant 10 min et remis en suspension dans une solution stérile à 0,5% (p /v) Solution de NaCl. Cette suspension a été utilisée comme témoin, pour déterminer la survie des souches lactiques dans les différents conditions gastro-intestinale simulé.

III.2.5.2. Détermination de la tolérance des souches lactiques aux conditions gastro-intestinales simulées en présence des substrats prébiotiques

Selon le protocole de **Liserre et al. (2007)**, avec les modifications suggérées par **Buriti et al. (2010)** et ajusté de **Bedani et al. (2013)**; par Des solutions de pepsine (de porcine estomac mucosa, Sigmae Aldrich) et de lipase (Amano lipase G, de Penicilium camemberti, Sigmae Aldrich) ont été ajoutées aux échantillons pour atteindre une concentration de 3 g / L et 0,9 mg / L, respectivement. Les flacons ont été incubés à 37 °C, sous agitation à 150 tr / min (Metabolic Water Bath Dubnoff MA-095, Marconi, Piracicaba, Brésil) pendant 2 h, conduisant à la phase gastrique simulée. Dans l'étape suivante, le pH des échantillons a été augmenté à 4.5, 5, et 7 en utilisant une solution alcaline [150 mL de NaOH 1 N (Synth, Diadema, Brésil) et 14 g de $PO_4H_2Na \cdot 2H_2O$ (Synth) et de l'eau distillée jusqu'à 1 L]. De la bile (bile bovine, Sigmae Aldrich) et de la pancréatine (pancréatine de pancréas porcin, Sigmae Aldrich) ont été ajoutées pour atteindre une concentration de 10 g / L et de 1 g / L, respectivement. Les échantillons ont été incubés à nouveau à 37 °C pendant 2 h sous agitation, conduisant à une phase entérique simulée 1. Dans la dernière étape, le pH a été augmenté pour utiliser la même solution alcaline, la bile et la pancréatine ont été ajustées à maintenir la concentration de 10 g / L et 1 g / L, respectivement, et les échantillons ont été à nouveau incubés à 37 °C pendant 2 h sous agitation, conduisant à une phase entérique simulée 2 et atteignant 6 h de dosage. Le dénombrement des souches lactiques sera effectué dans des aliquotes prélevées sur des échantillons en triple après 2 h, 4 h et 6 h (trois flacons différents du même essai à chaque fois). Des aliquotes de 1 mL seront versées dans de la gélose MRS modifiée par substitution du glucose par le

substrat prébiotique et la gélose MRS pour le dénombrement des souches (**Liserre *et al.*, 2007; Buriti *et al.*, 2010 ; Bedani *et al.*, 2013**).

Partie III :

Résultats et discussion:

IV. Résultats et Discussion

Dans le but d'étudier l'effet de quelques prébiotiques sur la croissance de *Lactobacillus planatrum* isolées de lait de vache, une sélection de quelques articles liés à ce sujet ont été choisis et discutés dans cette partie.

IV.1. Liste des articles sélectionnés

- Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 viability in a fermented soy product (FSP) and probiotic survival under in vitro simulated gastro-intestinal conditions (Bedani R., *et al.*, 2013).
- Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei ssp* (Pimentel *et al.*, 2012).
- Effect of Fruit Pectin on Growth of Lactic Acid Bacteria (Chatterjee, *et al.*, 2016).
- Effect of incorporation of inulin on the survivability of *Lactobacillus acidophilus* in symbiotic ice cream (Pandiyan *et al.*, 2012).
- Growth Pattern of Starter Cultures and Antifungal Activity of some Bacteriocins and Inulin in Skim Milk Yoghurt (Eissa *et al.*, 2018).
- Effect of Oligosaccharides on the Growth of *Lactobacillus delbrueckii Subsp. Bulgaricus* Strains Isolated from Dairy Products (Ignatova *et al.*, 2009).
- Prebiotics enhance survival and prolong the retention period of specific probiotic inocula in an *in vivo* murine model (Su *et al.*, 2007).

IV.2. Discussion Générale

L'étude de **Bedani R., *et al.* (2013)** concerne la détermination de l'effet de l'inuline et/ou de la farine d'okara sur la viabilité et la résistance de *Lactobacillus acidophilus* La-5 et *Bifidobacterium animalis* Bb-12 incorporés dans un produit de soja fermenté (FSP) et sur la survie des probiotiques dans des conditions gastro-intestinales simulées in vitro qui a été étudié pendant 28 jours de stockage à 4 C. (**Bedani *et al.*, 2013**).

Les viabilités des probiotiques ont varié de 8 à 9 log ufc/g pendant les 28 jours de stockage, et l'inuline et/ou la farine d'okara n'ont pas affecté la viabilité de La-5 et Bb-12. Aussi, il semble que la période de stockage réfrigéré (28 jours) n'ait pas été un facteur déterminant pour la survie de *L. acidophilus* La-5, puisque la réduction de la population de *L. acidophilus* La-5 de 0 à 6 h de dosage a été similaire pour tous les produits de soja dans les périodes de stockage évaluées. La farine d'okara a amélioré la survie de *L. acidophilus* La-5 dans la phase gastrique (2 h), en particulier aux jours 7, 14 et 21 de stockage.

Ensuite, la résistance aux jus gastro-intestinaux artificiels bien qu'élevée pour *B. animalis Bb-12*, maintenant des populations moyennes supérieures à 7 ou 8 log ufc/g, était faible pour *L. acidophilus La-5* (moins de 5 log ufc/g) (Bedani *et al.*, 2013).

Les résultats montrent que la résistance du *Bb-12* aux jus gastro-intestinaux artificiels était plus élevée que celle du *La-5*, puisque les populations de *Bb-12* et de *La-5* ont diminué d'environ 0,6 log ufc/g et 3,8 log ufc/g, respectivement, pendant toute la période de stockage. Malgré que l'effet protecteur de l'inuline et/ou de la farine d'okara sur les micro-organismes probiotiques n'était pas important, par rapport à une culture fraîche, la matrice FSP a amélioré la survie de *Bb-12* au premier jour de stockage peut être considérée comme un bon véhicule pour *Bb-12* et pourrait jouer un rôle important dans la protection probiotique contre les sucs gastro-intestinaux (Bedani *R., et al.*, 2013).

L'okara est un sous-produit de l'industrie du lait de soja. L'okara brut est une matière blanche jaunâtre constituée des parties insolubles des graines de soja, qui restent dans le sac filtre lorsque les graines de soja en purée sont filtrés pour la production de lait de soja et même si l'okara est fréquemment traité comme un déchet industriel, il pourrait être une bonne source de nutriments pour la consommation humaine (Jiménez-Escrig *et al.*, 2008).

Tableau 5: Valeurs moyennes du pH des produits de soja fermenté pendant le stockage réfrigéré ($4 \pm 1C^\circ$) (Bedani *et al.*, 2013).

Temps (jours)	Produits			
	FSP	FSP-1	FSP-O	FSP-IO
1	4.56± 0.05 ^{Ca}	4.70± 0.06 ^{Aa}	4.61± 0.03 ^{Bb}	4.73± 0.04 ^{Aa}
7	4.50± 0.03 ^{Ba}	4.55± 0.08 ^{ABa}	4.43± 0.12 ^{Bab}	4.59± 0.04 ^{Ab}
14	4.33± 0.12 ^{Bb}	4.57± 0.01 ^{Aab}	4.38± 0.12 ^{Bb}	4.55± 0.04 ^{Ab}
21	4.28± 0.08 ^{Db}	4.43± 0.06 ^{Ac}	4.37± 0.02 ^{Cb}	4.52± 0.06 ^{Abc}
28	4.31± 0.06 ^{Cb}	4.40± 0.05 ^{Bbc}	4.32± 0.03 ^{Cb}	4.46± 0.06 ^{Ac}

Les valeurs sont exprimées sous forme de DD moyen. A,B,C Différentes lettres majuscules en exposant dans une ligne indiquent différences significatives entre les essais ($P < 0,05$) ; a,b,c Différentes lettres minuscules en exposant dans une colonne indiquent différences significatives pendant la période de stockage ($P < 0,05$). FSP : produit de soja fermenté (contrôle) ; FSP-1 : FSP avec inuline ; FSP-O : FSP avec la farine d'okara ; FSP-IO : FSP avec inuline et farine d'okara. (Bedani *et al.*, 2013).

Tableau 6: Survie de *L. acidophilus La-5* et de *B. animalis Bb-12* dans la culture fraîche ABT-4 en bouillon de MRS à 37 °C pendant 18 h avant (0 h) et pendant l'exposition à des conditions gastriques (2 h) et entériques (4 h et 6 h) simulées *in vitro* (Bedaniet *et al.*, 2013).

Temps d'exposition(h)	Microorganismes (log ufc/g)	
	<i>L. acidophilus La-5</i>	<i>B. animalis Bb-12</i>
0	8.70 ± 0.12	8.85 ± 0.18
2	5.86 ± 0.12	6.13 ± 0.38
4	2.76 ± 0.35	3.90 ± 0.14
6	3.68 ± 0.29	4.62 ± 0.17

L'étude de **Pimentel *et al.* (2012)**, démontre la capacité de l'inuline à longue chaîne à améliorer la viabilité et la survie d'une souche probiotique de *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* et l'impact de l'inuline seules sur les caractéristiques organoleptique (texture) du yaourt.

A cet effet, **Pimentel, *et al.* (2012)** ont préparés cinq formulations de yaourt (formulation normale écrémée, prébiotique, probiotique et synbiotique) : dans les formulations sans addition d'inuline (entier, normal écrémé et probiotique), 35 g/L de LEP (Lait entier et écrémé en poudre) ont été ajoutés. Dans les formulations avec inuline (prébiotique et synbiotique), 15 g/L de LEP et 20 g/L d'inuline ont été ajoutés (**Akalin *et al.*, 2004**).

Les mélanges ont été chauffés à 85 °C pendant 30 minutes et refroidis à 42 °C (**Akalin *et al.* 2004**), puis 0,1 U/L de la culture de départ a été utilisé pour inoculer les mélanges de lait. Les formulations probiotiques et synbiotiques ont été additionnés avec 0,1 g/L du probiotique *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*. La base de yaourt a été mise dans des gobelets en plastique de 80 ml et incubée à 42 °C jusqu'à ce qu'elle atteigne un pH de 4,5.

Les yaourts ont été conservés à 4 C pendant 28 jours (**Donkor *et al.*, 2007**). Après, ils ont fait l'objet d'analyse microbiologique et physicochimique (l'analyse des teneurs en humidité, protéines, graisses, cendres et lactose) et texturales du yaourt.

Tableau 7: Plan d'expérience des formulations de yaourt (**Pimentel et al., 2012**).

Formulations	Type de lait en poudre	Lait écrémé en poudre (g/L)	Inuline longue chaîne (g/L)	<i>Lactobacillus paracasei ssp. Paracasei</i> (g/L)
Lait entier	Entier	35	–	–
Lait normal écrémé	Ecrémé	35	–	–
Prébiotique	Ecrémé	15	20	–
Probiotique	Ecrémé	35	–	0.1
Synbiotique	Ecrémé	15	20	0.1

Les résultats de cette étude, montrent que la formulation entière contenait une teneur en matière grasse plus élevée (3,54 %) que toutes les formulations non grasses (écrémé normal, prébiotique, probiotique et synbiotique ; 0,1 %).

Les niveaux de protéines totales, de lactose et de cendres étaient plus élevés dans les formulations normales écrémées et probiotiques, en raison de la quantité plus importante de LEP ajoutée dans ces formulations lorsque la teneur en solides était ajustée alors que les valeurs les plus faibles de ces paramètres ont été observées dans les formulations entières en raison des niveaux plus faibles de ces composants sur la poudre de lait entier (**Pimentel et al., 2012**).

Pendant le stockage en réfrigération, ils ont observé une diminution du pH et de la teneur en lactose ainsi qu'une augmentation de l'acidité titrable et de la synérèse ($P \leq 0,05$) des yaourts. En effet, la fermentation continue du lactose par les bactéries lactiques entraîne la production d'acide lactique et une acidité plus élevée dans les produits (**Lourens Hattingh et Viljoen, 2001**), ce qui entraîne une contraction de la matrice de micelles de caséine, augmentant ainsi l'expulsion du lactosérum (**Achanta et al., 2007**).

Les différences observées entre les formulations en ce qui concerne l'acidité et le pH peuvent être liées aux différentes compositions chimiques des formulations. La protéine peut interférer avec le pH en raison du pouvoir tampon des protéines. Le lactose est le substrat préféré des microorganismes, ce qui entraîne la formation d'acides organiques. L'étendue de la synérèse a été

affectée ($P \leq 0,05$) par l'ajout d'inuline et de bactéries probiotiques. Le yaourt probiotique est celui qui présente la plus forte synérèse ($P \leq 0,05$), ce qui pourrait être lié à la production probable d'EPS (Pimentel *et al.*, 2012).

Tableau 8: Caractéristiques physicochimiques des yaourts pendant leur stockage à 4 °C^a (Pimentel *et al.*, 2012).

Physicochemical characteristics	Storage time (Days)	Formulation ^b				
		Whole	Normal skimmed	Prebiotic	Probiotic	Synbiotic
Lactose content (g/100g)	1	5.84 ± 0.04 ^{Ad}	8.22 ± 0.06 ^{Aa}	7.01 ± 0.05 ^{Ac}	7.03 ± 0.54 ^{Ab}	7.07 ± 0.02 ^{Ac}
	7	5.88 ± 0.10 ^{Bd}	7.96 ± 0.12 ^{Ba}	6.90 ± 0.21 ^{Bc}	6.94 ± 0.19 ^{Bb}	6.80 ± 0.06 ^{Bc}
	14	5.83 ± 0.05 ^{B,Cd}	7.81 ± 0.12 ^{B,Ca}	6.74 ± 0.10 ^{B,Cc}	7.01 ± 0.01 ^{B,Cb}	6.70 ± 0.10 ^{B,Cc}
	21	5.80 ± 0.10 ^{Cd}	7.78 ± 0.13 ^{Ca}	6.63 ± 0.15 ^{Cc}	6.91 ± 0.13 ^{Cb}	6.78 ± 0.08 ^{Cc}
	28	5.50 ± 0.09 ^{Dd}	7.60 ± 0.15 ^{Da}	6.45 ± 0.14 ^{Dc}	6.96 ± 0.19 ^{Db}	6.58 ± 0.05 ^{D,c}
pH	1	4.47 ± 0.01 ^{Aa}	4.44 ± 0.01 ^{Ac}	4.45 ± 0.01 ^{Ab}	4.44 ± 0.01 ^{Ac}	4.45 ± 0.01 ^{Ab}
	7	4.40 ± 0.01 ^{Ba}	4.37 ± 0.01 ^{Bc}	4.38 ± 0.01 ^{Bb}	4.37 ± 0.01 ^{Bc}	4.38 ± 0.01 ^{Bb}
	14	4.35 ± 0.01 ^{Ca}	4.33 ± 0.01 ^{Cc}	4.33 ± 0.01 ^{Cb}	4.32 ± 0.01 ^{Cc}	4.33 ± 0.01 ^{Cb}
	21	4.28 ± 0.01 ^{Da}	4.26 ± 0.01 ^{Dc}	4.26 ± 0.01 ^{Db}	4.25 ± 0.01 ^{Dc}	4.26 ± 0.01 ^{Db}
	28	4.26 ± 0.01 ^{Ea}	4.24 ± 0.01 ^{Ec}	4.24 ± 0.00 ^{Eb}	4.23 ± 0.01 ^{Ec}	4.24 ± 0.01 ^{Eb}
Titratable acidity (% lactic acid)	1	0.99 ± 0.07 ^{Bc}	1.23 ± 0.06 ^{Ba}	1.07 ± 0.03 ^{Bb}	1.25 ± 0.03 ^{Ba}	1.10 ± 0.03 ^{Bb}
	7	1.04 ± 0.08 ^{Bc}	1.23 ± 0.04 ^{Ba}	1.10 ± 0.05 ^{Bb}	1.30 ± 0.01 ^{Ba}	1.10 ± 0.01 ^{Bb}
	14	1.07 ± 0.13 ^{Ac}	1.28 ± 0.03 ^{Aa}	1.11 ± 0.03 ^{Ab}	1.31 ± 0.03 ^{Aa}	1.14 ± 0.06 ^{Ab}
	21	1.09 ± 0.12 ^{Ac}	1.27 ± 0.05 ^{Aa}	1.13 ± 0.02 ^{Ab}	1.31 ± 0.03 ^{Aa}	1.13 ± 0.03 ^{Ab}
	28	1.08 ± 0.09 ^{Ac}	1.27 ± 0.04 ^{Aa}	1.15 ± 0.03 ^{Ab}	1.31 ± 0.04 ^{Aa}	1.16 ± 0.03 ^{Ab}
Syneresis (mL/100g)	1	25.24 ± 1.83 ^{Db}	23.41 ± 1.67 ^{Dc}	29.07 ± 3.31 ^{Da}	20.76 ± 1.23 ^{Dd}	24.42 ± 2.44 ^{Db}
	7	28.84 ± 1.24 ^{Cb}	23.54 ± 0.28 ^{Cc}	29.98 ± 2.09 ^{Ca}	22.38 ± 1.66 ^{Cd}	27.39 ± 2.86 ^{Cb}
	14	28.47 ± 0.20 ^{Bb}	25.82 ± 0.74 ^{Bc}	32.53 ± 2.30 ^{Ba}	24.34 ± 4.29 ^{Bd}	28.89 ± 3.01 ^{Bb}
	21	28.91 ± 2.16 ^{Bb}	26.02 ± 1.71 ^{Bc}	33.30 ± 3.69 ^{Ba}	22.99 ± 1.55 ^{Bd}	31.70 ± 1.68 ^{Bb}
	28	34.48 ± 2.65 ^{Ab}	26.94 ± 0.53 ^{Ac}	33.92 ± 3.30 ^{Aa}	25.87 ± 0.56 ^{Ad}	31.14 ± 2.21 ^{Ab}
Inulin content (g/100g)	1	-	-	2.01 ± 0.01 ^{Aa}	-	2.00 ± 0.01 ^{Aa}
	7	-	-	2.00 ± 0.00 ^{Aa}	-	2.00 ± 0.00 ^{Aa}
	14	-	-	2.00 ± 0.00 ^{Aa}	-	2.00 ± 0.00 ^{Aa}
	21	-	-	1.98 ± 0.00 ^{Ba}	-	1.98 ± 0.01 ^{Ba}
	28	-	-	1.96 ± 0.01 ^{Ca}	-	1.96 ± 0.01 ^{Ca}

^aMeans ± SD in the same column with different capital letters superscripts indicating significant difference at $P \leq 0.05$ for each formulation affected by storage. Means ± SD in the same row with different small letters superscripts indicating significant difference at $P \leq 0.05$ among yoghurt formulations for the same day of storage ($n = 9$, excepted for syneresis $n = 6$).

^bFormulation: whole; normal skimmed; prebiotic (skimmed + inulin); probiotic (skimmed + *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); synbiotic (skimmed + inulin + *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*).

Tableau 9: Texture profile des formulations de yaourts pendant le stockage à 4 C^a (Pimentel et al., 2012).

Table 3 Texture profile of yoghurt formulations during storage at 4 °C^a

Texture profile parameters	Storage time (Days)	Formulation ^b				
		Whole	Normal skimmed	Prebiotic	Probiotic	Synbiotic
Firmness (N)	1	1.82 ± 0.59 ^{Bb,c}	1.87 ± 0.32 ^{Bb}	1.84 ± 0.16 ^{Bc}	2.52 ± 0.16 ^{Ba}	1.99 ± 0.33 ^{Bb}
	7	1.90 ± 0.71 ^{Ab,c}	2.25 ± 0.22 ^{Ab}	1.87 ± 0.17 ^{Ac}	2.51 ± 0.31 ^{Aa}	2.09 ± 0.22 ^{Ab}
	14	1.92 ± 0.29 ^{Ab,c}	2.20 ± 0.07 ^{Ab}	1.88 ± 0.17 ^{Ac}	2.64 ± 0.28 ^{Aa}	2.05 ± 0.20 ^{Ab}
	21	2.21 ± 0.28 ^{A,Bb,c}	2.09 ± 0.19 ^{A,Bb}	1.77 ± 0.14 ^{A,Bc}	2.29 ± 0.12 ^{A,Ba}	2.00 ± 0.28 ^{A,Bb}
	28	2.10 ± 0.13 ^{A,Bb,c}	2.06 ± 0.35 ^{A,Bb}	1.88 ± 0.21 ^{A,Bc}	2.41 ± 0.39 ^{A,Ba}	2.01 ± 0.25 ^{A,Bb}
Cohesiveness	1	0.41 ± 0.03 ^{Aa}	0.42 ± 0.02 ^{Aa}	0.40 ± 0.01 ^{Aa}	0.41 ± 0.02 ^{Aa}	0.41 ± 0.02 ^{Aa}
	7	0.41 ± 0.05 ^{Aa}	0.41 ± 0.01 ^{Aa}	0.40 ± 0.04 ^{Aa}	0.42 ± 0.04 ^{Aa}	0.40 ± 0.02 ^{Aa}
	14	0.39 ± 0.01 ^{Ba}	0.40 ± 0.02 ^{Ba}	0.40 ± 0.01 ^{Ba}	0.39 ± 0.02 ^{Ba}	0.38 ± 0.01 ^{Ba}
	21	0.40 ± 0.01 ^{Aa}	0.43 ± 0.03 ^{Aa}	0.42 ± 0.03 ^{Aa}	0.40 ± 0.01 ^{Aa}	0.41 ± 0.04 ^{Aa}
	28	0.39 ± 0.01 ^{Ba}	0.40 ± 0.04 ^{Ba}	0.39 ± 0.01 ^{Ba}	0.40 ± 0.04 ^{Ba}	0.40 ± 0.04 ^{Ba}
Adhesiveness (Ns)	1	1.15 ± 0.41 ^{Bb}	1.08 ± 0.13 ^{Ba}	1.03 ± 0.08 ^{Bb}	1.24 ± 0.37 ^{Ba}	0.99 ± 0.09 ^{Bb}
	7	0.94 ± 0.23 ^{A,Bb}	1.19 ± 0.28 ^{A,Ba}	1.06 ± 0.18 ^{A,Bb}	1.32 ± 0.25 ^{A,Ba}	1.09 ± 0.20 ^{A,Bb}
	14	1.05 ± 0.21 ^{Ab}	1.57 ± 0.16 ^{Aa}	1.07 ± 0.14 ^{Ab}	1.30 ± 0.34 ^{Aa}	1.09 ± 0.15 ^{Ab}
	21	1.19 ± 0.23 ^{A,Bb}	1.33 ± 0.20 ^{A,Ba}	0.97 ± 0.07 ^{A,Bb}	1.18 ± 0.19 ^{A,Ba}	1.06 ± 0.18 ^{A,Bb}
	28	1.18 ± 0.17 ^{A,Bb}	1.32 ± 0.49 ^{A,Ba}	1.14 ± 0.19 ^{A,Bb}	1.24 ± 0.24 ^{A,Ba}	1.10 ± 0.21 ^{A,Bb}
Gumminess (N)	1	0.79 ± 0.22 ^{Ac}	0.78 ± 0.08 ^{Ab}	0.75 ± 0.05 ^{Ac}	1.07 ± 0.05 ^{Aa}	0.79 ± 0.14 ^{Ac}
	7	0.72 ± 0.24 ^{Ac}	0.85 ± 0.12 ^{Ab}	0.73 ± 0.07 ^{Ac}	1.02 ± 0.13 ^{Aa}	0.78 ± 0.07 ^{Ac}
	14	0.78 ± 0.12 ^{Ac}	1.00 ± 0.05 ^{Ab}	0.73 ± 0.06 ^{Ac}	1.08 ± 0.15 ^{Aa}	0.76 ± 0.06 ^{Ac}
	21	0.76 ± 0.30 ^{Ac}	0.89 ± 0.06 ^{Ab}	0.76 ± 0.04 ^{Ac}	0.93 ± 0.04 ^{Aa}	0.82 ± 0.07 ^{Ac}
	28	0.81 ± 0.04 ^{Ac}	0.86 ± 0.16 ^{Ab}	0.75 ± 0.12 ^{Ac}	0.96 ± 0.15 ^{Aa}	0.78 ± 0.04 ^{Ac}

^aMeans ± SD in the same column with different capital letters superscripts indicating significant difference at $P \leq 0.05$ for each formulation affected by storage. Means ± SD in the same row with different small letters superscripts indicating significant difference at $P \leq 0.05$ among yoghurt formulations for the same day of storage ($n = 9$).

^bFormulation: whole; normal skimmed; prebiotic (skimmed + inulin); probiotic (skimmed + *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); synbiotic (skimmed + inulin + *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*).

L'étude de Chatterjee et al. (2016), concerne l'extraction de la pectine des écorces de *Citrus limetta*, *Citrulluslanatus*, *Musa acuminata* et des fractions putréfiées de *Solanaum lycopersicum* et *Psidium guajava*, puis à déterminer le potentiel prébiotique des différents extraits de pectines sur la croissance des bactéries lactiques.

Chatterjee et ses collaborateurs ont tenté d'observer l'amélioration de la croissance des bactéries lactiques (LAB-*Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*) en introduisant les échantillons de pectine provenant des déchets de fruits. Pour l'extraction de la pectine, les matières suivantes : des extraits de fruits de l'écorce de *Musa acuminata*.v. banane, *Citrus limetta*.v. (des agrumes), sweet lime (lime douce), *Citrullus lanatus*.v. , pastèque, *Malus domestica*.v., pomme et les fruits putréfiés de *Solanum lycopersicum*.v., tomate et *Psidium guajava*.v. *guava* ont été homogénéisés à l'aide d'eau ionisée (1:1,5 w/v). Du jus de citron a été ajouté à l'homogénéat pour ajuster le pH à 2-2,5. L'homogénéat a ensuite été bouilli à 80°C pendant 15 minutes. L'homogénéat bouilli a été filtré à travers un filtre en tissu, puis un filtre Whatman ou sous vide. Le filtrat a ensuite été traité avec de l'isopropanol (1:1) pour précipiter la pectine. La pectine précipitée a ensuite été récupérée du filtrat et séchée en vue d'une utilisation ultérieure (**Tableau-10**) (**Chatterjee et al., 2016**).

Les souches probiotiques ont été maintenues individuellement dans un bouillon de MRS (Himedia) stérile (De Man, Rogosa et Sharpe) à 37°C pendant 4 heures, puis réfrigérées à 4°C. La sous-culture a été effectuée dans des milieux de MRS tous les 7 jours et pour la croissance LAB, les cultures probiotiques ont été cultivées dans un bouillon de MRS et ont été incubées à 37°C pendant 48 heures. La croissance a été mesurée à 48 heures et 60 heures par des mesures de densité optique (660 nm). L'effet de la pectine sur la croissance des BL a été évalué par l'ajout de pectine (0,4 %) provenant de différents déchets de fruits au bouillon de MRS maintenu à différentes dilutions. Les dilutions ont été plaquées sur le milieu de gélose MRS. Toutes les expériences ont été réalisées en trois exemplaires (**Chatterjee et al., 2016**).

Enfin, ils ont étudiés l'acidité titrable des échantillons qui a été déterminée selon la méthode AOAC. Les échantillons de lait (lait écrémé pasteurisé) ont été caillés (6 heures) en utilisant les souches LAB ci-dessus avec de la pectine (0,4%). Le caillé a été dilué et titré avec de l'hydroxyde de sodium 0,1 N, en utilisant la phénolphthaléine comme indicateur d'un point final faiblement rose (**Chatterjee et al., 2016**).

Il a été observé que la pectine était capable d'améliorer considérablement la croissance des bactéries et l'acidité titrable. Pour *L. acidophilus*, ils ont constaté qu'elle était de 0,8 à 48 heures d'incubation et de 0,77 à 60 heures d'incubation à 37°C. Alors que la valeur de la densité optique de *B. bifidum* était de 0,6 à 48 heures et de 0,56 à 60 heures d'incubation. Il n'y a pas eu de changement significatif dans la croissance des LAB lors de l'incubation pendant 60 heures, la DO de *L. casei* était de 1,004 à 48 heures et de 0,985 à 60 heures (**Tableau-12**). Une réduction de l'absorbance a été observée lorsque les cultures ont été incubées pendant plus de 48 heures. Il a été observé que *L.*

casei présentait la croissance maximale (2,4 DO à 660 nm) avec la pectine de *S. lycopersicum* par rapport à *L. acidophilus* et *B. bifidum* (Chatterjee *et al.*, 2016).

L'acidité titrable (en pourcentage d'acide lactique) du produit synbiotique varie entre 0,45 et 0,9 % selon le type de culture. Une acidité titrable élevée (0,94-0,95 %) a été observée lorsque les trois BL ont été cultivés avec les échantillons de pectine. Ils ont constaté une augmentation de l'acidité titrable de chaque culture de BL par rapport au témoin (sans pectine).

L'acidité titrable de chaque culture de BL variait entre 0,52 et 0,57 % avec la pectine. Les résultats correspondaient à l'étude de Gomes et Malcata (Gomes AMP. et Malcata FX., 1999) sur la tolérance à l'acide de *L. acidophilus*, qui variait de 0,3 % à 1,9 % d'acidité titrable, avec un pH optimal de $5,5 \pm 6,0$ (Chatterjee *et al.*, 2016).

Tableau 9: Croissance des BL à un pH = 6,0 (Chatterjee *et al.*, 2016).

Echantillons	Formation de colonies Unit/mL(10^{-4}) Moyenne \pm SD	Formation des colonies Unit/mL(10^{-5}) Moyenne \pm SD	Formation des colonies Unit/mL(10^{-7}) Moyenne \pm SD
<i>L. acidophilus</i>	226 \pm 8	34 \pm 6.24	2 \pm 1
<i>B. bifidum</i>	281.66 \pm 8.08	20.33 \pm 8.50	2 \pm 1
<i>L. casei</i>	TNTC*	45 \pm 7.00	2 \pm 1

*TNTC = Trop nombreux à compter

Tableau 10: Croissance des BL à 48 et 60 heures d'incubation (Chatterjee *et al.*, 2016).

Echantillons	OD à 660nm à 48 heures d'incubation	OD à 660nm à 60 heures d'incubation
<i>L. acidophilus</i>	0.8	0.77
<i>B. bifidum</i>	0.6	0.56
<i>L. casei</i>	1.004	0.985

Tableau 11: Effet de la pectine sur la croissance des BL (Chatterjee *et al.*, 2016).

Echantillon de pectine	Culture probiotique	DO à 660nm après 48 heures d'incubation
Nil	caillebotte commerciale	0.6
<i>Musa sp</i>	<i>L. acidophilus</i>	1.8
	<i>L. casei</i>	2.2
	<i>B. bifidum</i>	0.9
<i>C. lanatus</i>	<i>L. acidophilus</i>	1.9
	<i>L. casei</i>	1.8
	<i>B. bifidum</i>	0.7
<i>S. lycopersicum</i>	<i>L. acidophilus</i>	1.9
	<i>L. casei</i>	2.4
	<i>B. bifidum</i>	1.2
<i>Psidium sp</i>	<i>L. acidophilus</i>	1.7
	<i>L. casei</i>	2
	<i>B. bifidum</i>	0.9

L'étude de **Pandiyan *et al.*, (2012)**, concerne, la détermination de l'effet de l'incorporation d'inuline sur la capacité de survie de *Lactobacillus acidophilus* dans une crème glacée préparée en incorporant *Lactobacillus acidophilus* et de l'inuline.

La viabilité de *L.acidophilus* a été analysée lors du stockage. Un concentré de protéines de lactosérum (CPL) a été incorporé dans le mélange de crème glacée pour améliorer la texture et la qualité nutritionnelle de la crème glacée (la préparation d'échantillons de crème glacée, les propriétés chimiques et microbiologiques et l'évaluation sensorielle).L'incorporation d'inuline dans le mélange de crème glacée a amélioré de manière significative (P<0,01) la croissance de *Lactobacillus acidophilus*. La congélation de la préparation pour crème glacée a entraîné une réduction de 0,61 à 0,77 log du nombre de *L. acidophilus*. Une réduction significative (P<0,01) du nombre de *L. acidophilus* a été observée pendant le stockage. (**Pandiyan *et al.*, 2012**).

Selon **Pandiyan *et al.* (2012)**, l'augmentation significative (P<0,01) de la teneur en protéines peut être attribuée à l'utilisation de concentré de protéines de lactosérum. L'utilisation du CPL permettrait de maintenir des niveaux élevés de protéines avec des avantages nutritionnels et fonctionnels éventuels. L'ajout de CPL aux desserts glacés permet non seulement d'augmenter la teneur en protéines de la crème glacée, mais aussi d'améliorer les qualités sensorielles et texturales (**Antunes *et al.*, 2005 ; Pardo *et al.*, 2009**). Aussi, la qualité de fonte des échantillons de crème

glacée contenant du concentré de protéines de lactosérum a augmenté de manière significative ($P < 0,01$) avec l'augmentation du niveau de CPL. Les différences dans le comportement de fonte des échantillons de crème glacée additionnés de cultures probiotiques peuvent être attribuées aux différences de points de congélation et de viscosité (Pandiyani *et al.*, 2012 ; Akalin et Erisir, 2008 ; Trindade *et al.*, 2007).

La croissance de *L. acidophilus* était meilleure dans les mélanges de crème glacée additionnés d'inuline (T3). Cela pourrait être dû à l'effet stimulateur de croissance des prébiotiques. Le comptage de *L. acidophilus* lors de la congélation initiale de la glace a entraîné une réduction de 0,61 à 0,77 log et la diminution du nombre de bactéries, due à l'étape de congélation, est très probablement due à la mort des cellules sensibles. Cependant, les contraintes mécaniques du mélange, du processus de congélation et de l'incorporation d'oxygène dans le mélange ont entraîné une nouvelle diminution du nombre de bactéries (Pandiyani C., *et al.*, 2012).

Tableau 12: Survie de *L. acidophilus* dans les échantillons de crème glacée pendant le stockage (Pandiyani C., *et al.*, 2012).

Groupes	Compter log ₁₀ ufc/ml (Moyenne ± SE)			
	Mélange de crème glacé	Crème glacée pendant le stockage		
		Jour 0	Jour 7	Jour 15
T 1	8.47 0.02	7.75 0.09	7.28 0.05	7.05 0.05
T 2	8.51 0.04	7.90 0.14	7.33 0.12	7.11 0.04
T 3	9.60 0.08	8.83 0.08	8.53 0.17	8.38 0.12

Les moyens portant ($n=4$) différents exposants entre les traitements différent de manière significative ($P < 0,01$).

L'étude d'Eissa *et al.* (2018), concerne l'évaluation des potentialités des bactériocines de *Lactobacillus acidophilus* et/ou *Lactobacillus rhamnosus* avec 3 % d'inuline dans l'inhibition de la croissance d'*Aspergillus niger* et de *Saccharomyces cerevisiae* dans le yaourt au lait écrémé. A cet effet, les échantillons de yaourt fabriqués ont été examinés pour le comptage des cultures de départ, *Aspergillus niger* et *Saccharomyces cerevisiae* tous les 3 jours jusqu'à l'apparition de la détérioration fongique.

Le travail se résume à la préparation des cultures, l'extraction de bactériocines brutes, la préparation des cultures d'*Aspergillus niger* et *Saccharomyces cerevisiae*, la fabrication de yaourts,

ensuite, l'examen microbiologique du yaourt et l'analyse statistique. Pour la préparation des cultures le *Lactobacillus acidophilus* DSMZ 20079 et le *Lactobacillus rhamnosus* ATCC7469 ont tous deux été obtenus auprès du MIRCEN (Centre de ressources microbiologiques) du Caire, Faculté d'agriculture, Université Ain Shams, Le Caire, Égypte. Chacun a été activé dans un bouillon de MRS stérile obtenu auprès de Biolife, Italie, incubé à 37°C pendant la nuit en anaérobiose dans un bocal sous atmosphère de CO₂ et de H₂ (GasPak System) (Okuro *et al.*, 2013 ; Eissa *et al.*, 2018). Les échantillons de yaourt ont été examinés microbiologiquement à des intervalles appropriés jusqu'à l'apparition d'une détérioration fongique visible. La préparation du yaourt et les examens ont été répétés trois fois (Eissa *et al.*, 2018):

- Préparation des dilutions en série (APHA, 2001).
- Dénombrement des bactéries de la culture de démarrage du yaourt *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* ont été dénombrées par la méthode de la plaque de coulée (Kodaka *et al.*, 2005). *L. bulgaricus* a été compté dans une gélose MRS (pH 5,4) en incubation aérobie à 37°C pendant 48 heures. Alors que *Streptococcus thermophilus* a été compté sur la gélose M17 à 42°C/48 heures (Santo *et al.*, 2012).
- Dénombrement d'*Aspergillus niger* et de *Saccharomyces cerevisiae* à partir des dilutions en série déjà préparées, un ml a été transféré dans des boîtes de Petri en double et soigneusement mélangé avec du milieu de gélose Sabouraud dextrose additionné de chloramphénicol (0,01%) comme décrit par la FIL (1990). Les boîtes ont été incubées à 25°C pendant 5-7 jours.

Les résultats obtenus par Eissa *et al.* (2018), ont montré que *Aspergillus niger* n'a pas été détecté dans les échantillons de yaourt contenant (*L. acidophilus* bacteriocin et 3 % d'inuline + *A. niger* 4 log₁₀cfu/g) et (*L. rhamnosus* bacteriocin et 3 % d'inuline + *A. niger* 4 log₁₀cfu/g) pendant toute la période de stockage. Le nombre de *Saccharomyces cerevisiae* a été réduit par l'effet des deux bactériocines. En outre, la bactériocine *L. acidophilus* a montré une activité antifongique plus élevée que la bactériocine *L. rhamnosus* avec 3 % d'inuline (Eissa *et al.*, 2018).

Ce résultat prouve que la bactériocine *Lactobacillus acidophilus* pouvait être utilisée comme agent antifongique naturel dans le yaourt. En effet, il est indiqué que la bactériocine *Lactobacillus acidophilus* et la bactériocine *Lactobacillus rhamnosus* ont une activité antifongique mais que la bactériocine *Lactobacillus acidophilus* est la meilleure (Eissa *et al.*, 2018). En outre, *Aspergillus niger* était plus sensible aux bactériocines que *Saccharomyces cerevisiae*. La supplémentation en inuline a conduit à une stimulation remarquable de la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* (Eissa *et al.*, 2018).

La réduction du nombre de *L. bulgaricus* peut être due à une température de stockage basse, à l'acidité produite par la croissance des LAB et à d'autres métabolites tels que la bactériocine contre les cultures de starter de yaourt (**Donker et al., 2007; Eissa et al., 2018**).

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

La viabilité du *Streptococcus thermophilus* a diminué progressivement jusqu'à la fin de la durée de conservation de tous les échantillons de yaourt. Cela pourrait être attribué à la production d'acide lactique qui a rendu l'environnement défavorable à la croissance des espèces de streptocoques (**Güler-Akın et al., 2016; Eissa et al., 2018**).

Selon Eissa et al. (2018), l'activité antifongique semble donc être plus forte dans les pH bas ; cela pourrait expliquer l'activité antifongique de la bactériocine *L. acidophilus* et de la bactériocine *L. rhamnosus* en milieu acide de yaourt (**Rouse et al., 2008**). L'excellent effet antifongique de *L. acidophilus* est probablement dû soit aux acides organiques, soit à d'autres composés antifongiques dépendant du pH (**De Muynck et al., 2004**). L'effet antimicrobien de la bactériocine peut être attribué au mécanisme de colonisation des peptides protéiques et/ou à l'inhibition directe de la croissance des agents pathogènes (**Dobson et al., 2012**).

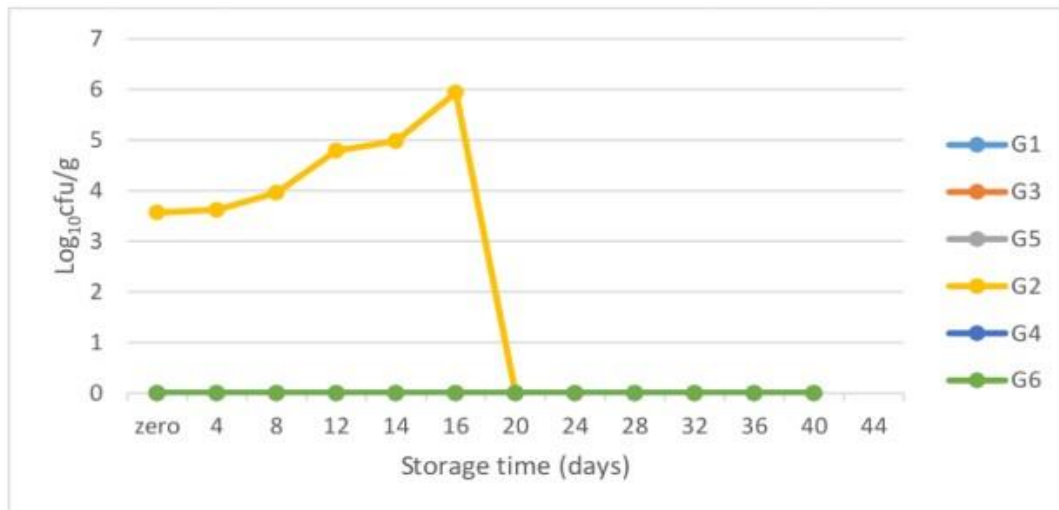


Figure (1) Count of *Aspergillus niger* (log₁₀ cfu/g) for the examined yoghurt groups during their refrigeration storage (4°C).
 G1: 2% yoghurt starter cultures 1:1 (control).
 G2: 2% yoghurt starter cultures 1:1 + *Aspergillus niger* (4 log₁₀cfu/g).
 G3: 1% yoghurt starter cultures 1:1 + 1% *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin + 3% inulin.
 G4: 1% yoghurt starter cultures 1:1 + 1% *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin + 3% inulin + *Aspergillus niger* (4 log₁₀cfu/g).
 G5: 1% yoghurt starter cultures 1:1 + 1% *Lactobacillus rhamnosus* bacteriocin + 3% inulin.
 G6: 1% yoghurt starter cultures 1:1 + 1% *Lactobacillus rhamnosus* bacteriocin + 3% inulin + *Aspergillus niger* (4 log₁₀cfu/g).

Figure 5: Nombre d'*Aspergillus niger* (log₁₀ ufc/g) pour les groupes de yaourts examinés pendant leur conservation au réfrigérateur (4°C) (Eissa *et al.*, 2018).

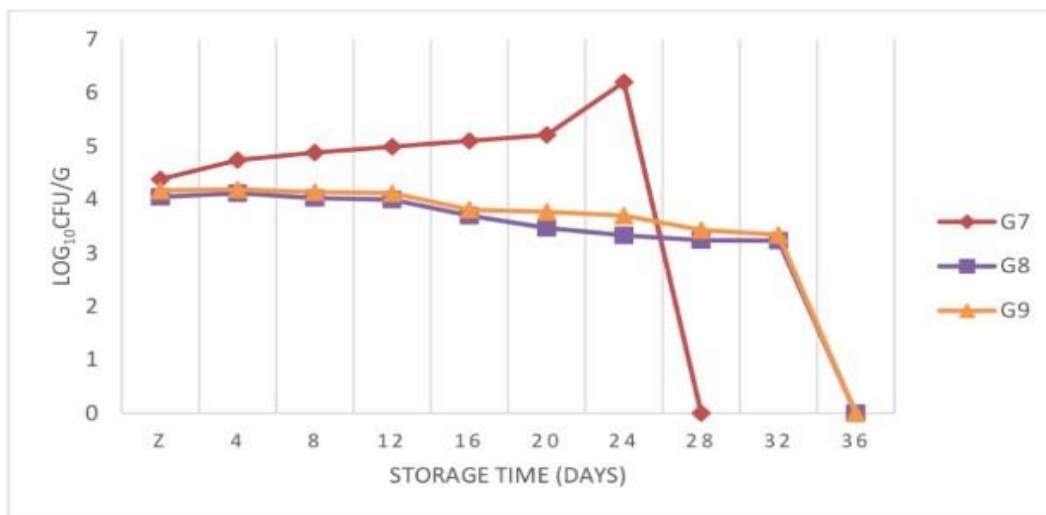


Figure (2) Count of *Saccharomyces cerevisiae* (log₁₀ cfu/g) for the examined yoghurt groups during their refrigeration storage (4°C).
 G1: 2% yoghurt starter cultures 1:1 (control).
 G3: 1% yoghurt starter cultures 1:1 + 1% *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin + 3% inulin.
 G5: 1% yoghurt starter cultures 1:1 + 1% *Lactobacillus rhamnosus* bacteriocin + 3% inulin.
 G7: 2% yoghurt starter cultures 1:1 + *Saccharomyces cerevisiae* (4 log₁₀cfu/g).
 G8: 1% yoghurt starter cultures 1:1 + 1% *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin + 3% inulin+ *Saccharomyces cerevisiae* (4 log₁₀cfu/g)
 G9: 1% yoghurt starter cultures 1:1 + 1% *Lactobacillus rhamnosus* bacteriocin + 3% inulin+ *Saccharomyces cerevisiae* (4 log₁₀cfu/g)

Figure 6: Dénombrement de *Saccharomyces cerevisiae* (log₁₀ ufc/g) pour les groupes de yaourts examinés pendant leur stockage au réfrigérateur (4°C) (Eissa *et al.*, 2018).

L'étude d'**Ignatova et al. (2009)**, concerne la détermination de l'effet des oligosaccharides sur la croissance des souches de *Lactobacillus delbrueckii Subsp. bulgaricus* isolées des produits laitiers. Dix-huit (18) souches de bactéries lactiques (LAB) isolées de produits laitiers, toutes identifiées comme *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, ont été testées pour leur capacité à se développer sur trois oligosaccharides différents : les fructo-oligosaccharides (FOS), les gluco-oligosaccharides (GOS) et les galacto-oligosaccharides (GalOS) (**Ignatova et al., 2009**).

La croissance des LAB sur différents oligosaccharides a été très différente. L'étude des activités antimicrobiennes de ces LAB a indiqué que le système d'absorption de sucres inhabituels influençait de manière spécifique la production de substances antimicrobiennes (bactériocines) spécifiques contre les bactéries Gram-négatives. Les oligosaccharides ajoutés induisent les LAB à former des produits finaux d'une fermentation acide mixte typique. L'utilisation de différents types d'oligosaccharides peut contribuer à expliquer la capacité des souches de *Lactobacillus* à concurrencer d'autres bactéries dans l'écosystème du tractus gastro-intestinal humain (**Ignatova et al., 2009**). Il a été démontré dans cette étude qu'en présence de différents oligosaccharides tels que les FOS, GOS et GalOS, les souches étudiées ont montré des préférences très différentes. La croissance la plus importante a été obtenue dans le cas du *Lb. delbrueckii subsp. Bulgaricus B5* et du *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus B8* isolés à partir de yaourt (**Ignatova et al., 2009**).

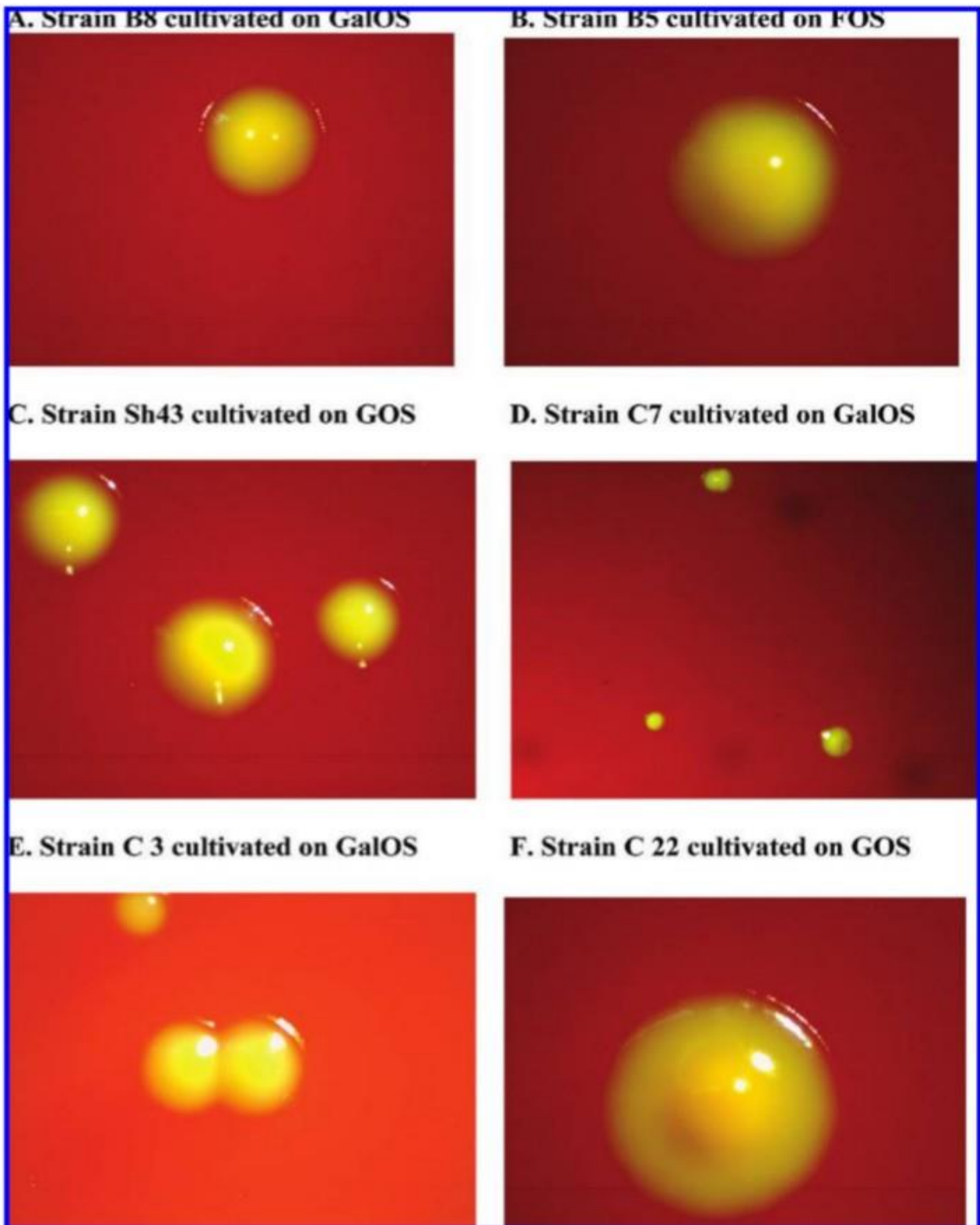


Figure 7: Analyse microscopique des souches de Lactobacillus. *Les images sont prises avec un stéréomicroscope Zoom (OLYMPUS, modèle SZ61TR) : configuration de base avec oculaire à grand champ avec grossissement 10 et numéro de champ 22(Ignatova et al., 2009).*

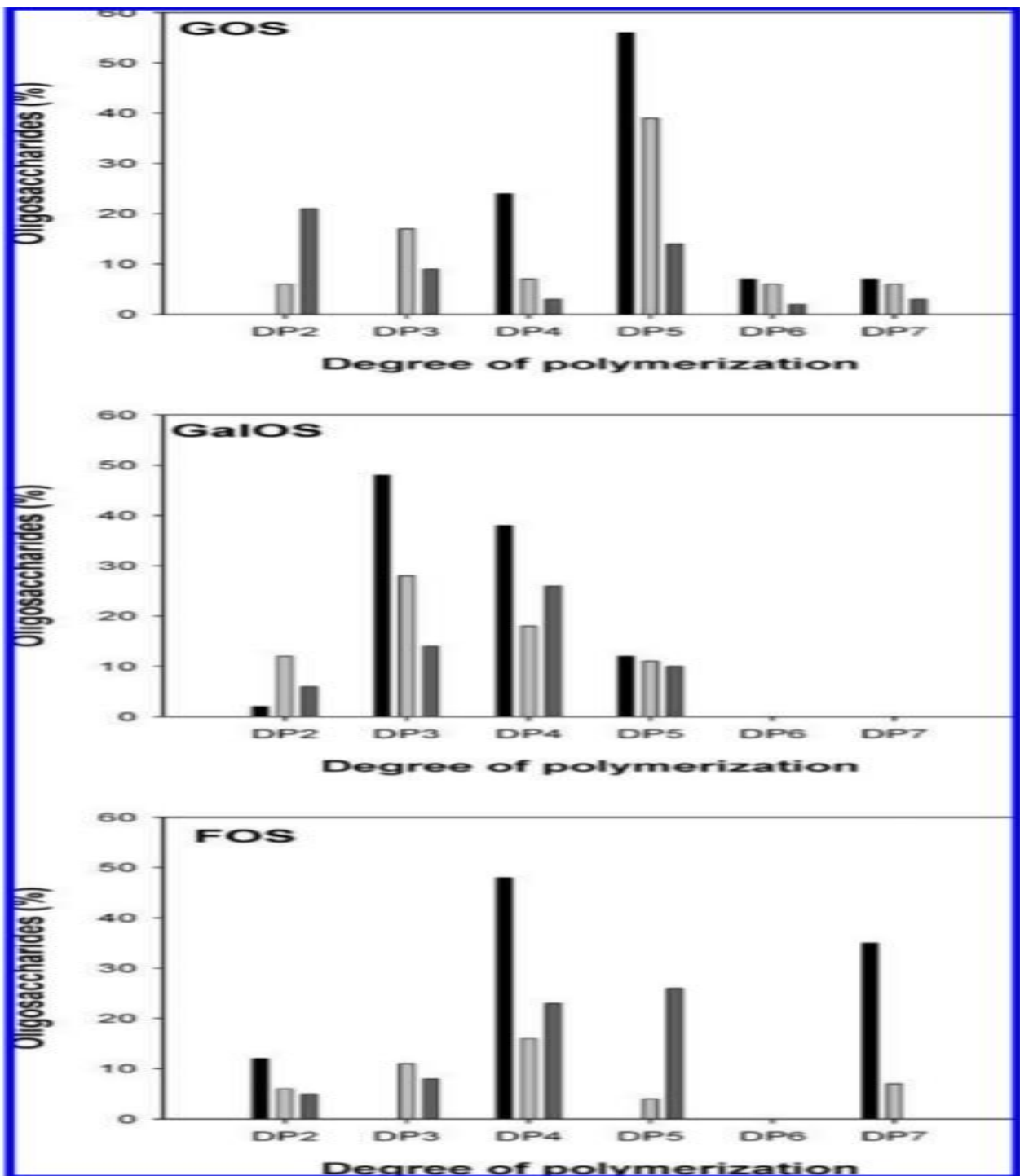


Figure 8: Utilisation des oligosaccharides par fermentation des souches B5 et B8 de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* sur la MRS avec 2% d'oligosaccharides (**composition à t0, noir ; B5, gris ; B8, gris foncé**) (Ignatova *et al.*, 2009).

L'étude de Su *et al.* (2007), concerne l'identification de nouveaux prébiotiques qui pourraient être utilisés pour améliorer la survie et maintenir la persistance de trois souches probiotiques représentatives dans un modèle murin *in vivo*. A cet effet, les souris testées ont été traitées avec des

prébiotiques oligosaccharides de soja (SOS), fructooligosaccharides (FOS) ou inuline, suivis des probiotiques *Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10 (L10), *Bifidobacterium lactis* LAFTI B94 (B94) ou *Lactobacillus casei* L26 LAFTI (L26) (Su *et al.*, 2007).

Des échantillons de matières fécales ont ensuite été collectés et analysés à l'aide d'un milieu sélectif et d'une analyse PCR pour déterminer la présence des souches probiotiques. Contrairement aux groupes de contrôle, chez les souris nourries de prébiotiques, la survie et le temps de rétention des probiotiques testés ont été largement augmentés. SOS et FOS ont prolongé la période de rétention de L10 de 24 à 30 h. Parmi les trois prébiotiques, FOS a donné le meilleur résultat avec B94, prolongeant la période de rétention de 3 à 10 jours. L'Inuline a donné le meilleur résultat pour la L26, prolongeant la période de rétention de 2 à 6 jours. Les prébiotiques SOS, FOS et inuline significativement améliorent la survie et prolongent la période de rétention de L10, B94 et L26 *in vivo* (Su *et al.*, 2007).

Les résultats de cette étude, démontrent l'utilisation potentielle des FOS, de l'inuline et des SOS comme prébiotiques en conjonction avec les souches probiotiques L10, B94 et L26 comme de nouveaux produits synbiotiques. La détection a été soigneusement contrôlée tout au long de l'étude, par exemple des échantillons de matières fécales de souris nourries de prébiotiques et de *Lact. acidophilus* L10 (milieu sélectif MGC) ont été contrôlés au hasard sur des milieux sélectifs RBP (pour Bif. lactis B94) et MGV (pour *Lact. casei* L26) ; cependant, aucune colonie de type B94 ou L26 n'a été détectée. En outre, après 48 heures, les colonies de type L10 ont disparu dans tous les groupes testés, bien que les souris aient continué à suivre le régime prébiotique. Cela indique que le milieu sélectif distingue efficacement *L. acidophilus* L10 des *lactobacilles* indigènes des souris qui peuvent également être stimulées par un régime prébiotique (des tests similaires ont également été effectués pour Bif. lactis B94 et *Lact. casei* L26) (Su *et al.*, 2007).

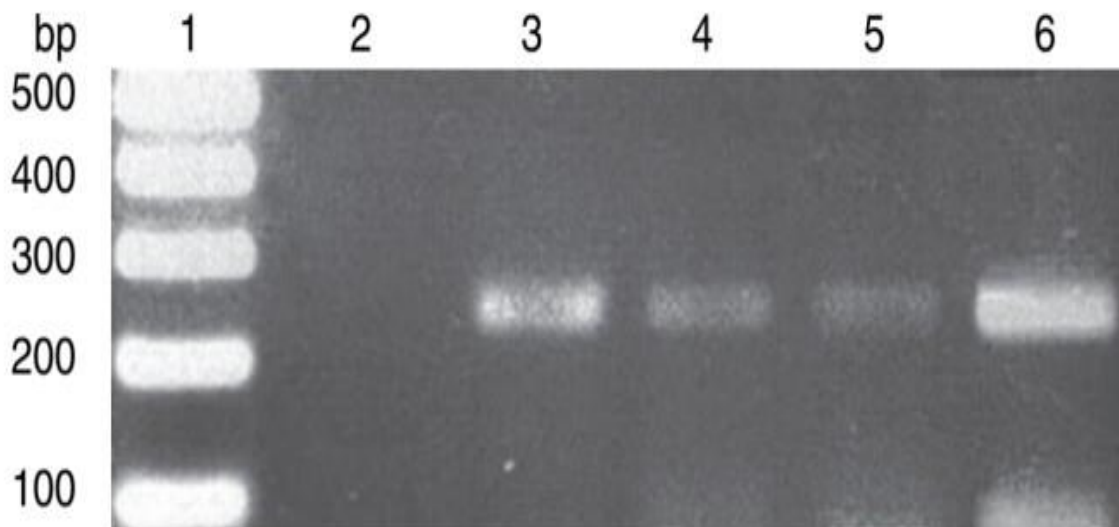


Figure 9: Analyse PCR de colonies de *Lactobacillus acidophilus* de type L10 (Su, et al., 2017).

Voie 1, marqueur de taille de 100 pb ; *voie 2*, ADN extrait des fèces d'une souris non traitée ; *voie 3*, ADN extrait d'une colonie de type L10 obtenue à partir des fèces d'une souris test nourrie au FOS ; *voie 4*, ADN extrait d'une colonie de type L10 obtenue à partir des fèces d'une souris test nourrie au SOS ; *voie 5*, ADN extrait d'une colonie de type L10 obtenue à partir des fèces d'une souris test nourrie au glucose ; *voie 6*, produit de la PCR de l'ADN L10.

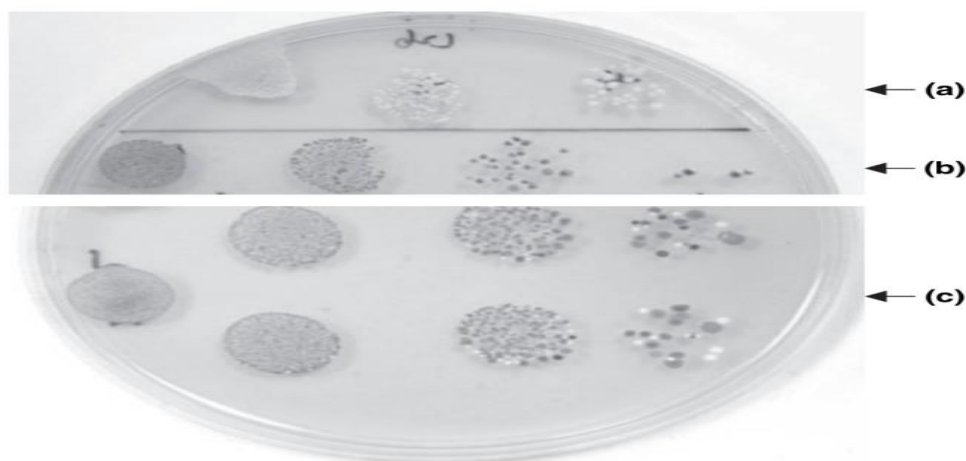


Figure 10: Comptage viable des colonies de *Lactobacillus casei* L26 sur un milieu sélectif (Su, et al., 2017).

Les colonies blanches sont des colonies de *Lact. casei* L26. Les échantillons de matières fécales ont été recueillis 48 heures après l'inoculation de *Lact. casei* L26.

(a) Contrôle positif - culture nocturne de *Lact. casei* L26 (10)³-10⁶).

(b) Échantillon fécal provenant d'une souris non traitée (10)¹-10⁴).

(c) Échantillon fécal d'une souris traitée à l'inuline (10)¹-10⁴, en double).

L'étude *in vivo* de **Su et al. (2017)**, a montré que le traitement des souris avec différents prébiotiques augmente non seulement le nombre de probiotiques *Lact. acidophilus* L10, *Bif. lactis* B94 et *Lact. casei* L26 présents dans les fèces des souris par rapport à celles qui sont nourries au glucose, mais aussi, les prébiotiques examinés augmentent le temps de rétention de ces souches par rapport à celles qui sont nourries au glucose. Le SOS stimulait la croissance optimale de *Bif. lactis* B94 tout en favorisant une excellente croissance de *Lact. acidophilus* L10 et de *Lact. casei* L26. En revanche, dans l'étude *in vivo* suivante, par rapport aux autres prébiotiques testés, aux FOS et à l'inuline, le SOS n'a stimulé que modérément la croissance de *Bif. lactis* B94 avec une augmentation du temps de rétention de près de la moitié de celui observé avec les FOS et l'inuline. Cette différence peut être due au fait que le SOS utilisé contenait un pourcentage inférieur (16%) de sucre polymérisé (DP > 2) par rapport au FOS (95%) et à l'inuline (≈90%). Par conséquent, la quantité réelle de sucre polymérisé est plus faible dans le régime SOS. (**Su et al., 2007**).

Des recherches antérieures aussi ont montré que *Bifidobacteria* pousse bien dans un extrait de soja contenant du raffinose et du stachyose et que le SOS peut augmenter la population de *Bifidobacteria* *in vitro* (**Rycroft et al., 2001**). En outre, **Masai et al. (1987)** ont montré qu'un régime alimentaire de SOS combiné à *Bif. longum* améliorait la croissance de *Bifidobacteria* dans les intestins de six hommes en bonne santé et réduisait l'activité d'enzymes nocives (**Masai et al., 1987**).

CONCLUSION

Conclusion

A la lumière des différentes études analysées, on peut déduire, que l'inuline reste parmi les prébiotiques les plus utilisés. En effet, l'inuline, l'oligofructose et les FOS ont été largement étudiés en tant que prébiotiques mais l'inuline est considérée comme la plus utilisée et la plus efficace pour de nombreuses espèces de probiotiques (**Cardarelli et al., 2008**).

Elle a donc des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, comme la modulation du métabolisme des lipides, l'amélioration de l'absorption du calcium, l'amélioration du système immunologique et la modification de la fonction intestinale (**Marteau et al., 2011**). Elle est reconnue comme un ingrédient alimentaire naturel dans toute l'Union européenne et a obtenu le statut "Generally Recognized as Safe" (GRAS) aux États-Unis (**Abed et al., 2016**).

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

En effet, les ingrédients prébiotiques comme l'inuline peuvent exercer un effet protecteur, améliorant la survie et l'activité des bactéries probiotiques pendant le stockage des produits alimentaires probiotiques, ainsi que pendant le passage dans la TIG (**Donkor et al., 2007c ; Buriti et al., 2010 ; Hernandez-Hernandez et al., 2012**). D'autres ingrédients de la matrice alimentaire, tels que les protéines de lactosérum, l'amidon résistant, le β -glucane, le stachyose, raffinose, et les fructo-oligosaccharides peuvent augmenter la résistance aux conditions gastro-intestinales simulées (**Perrin et al., 2000 ; Charalampopoulos et al., 2003 ; Martinez et al., 2011**).

Les fibres ayant des propriétés prébiotiques peuvent également être recommandées dans le cadre de l'apport en fibres, bien que les études manquent sur les avantages de l'apport en prébiotiques pour les personnes en bonne santé (**Slavin , 2013**). En effet, des travaux ont montré que les produits à base de soja, en particulier le yaourt de soja, peuvent être de bons véhicules pour les micro-organismes probiotiques (**Donkor et al., 2007a,b ; Farnworth et al., 2007 ; Champagne et al., 2009 ; Wang et al., 2009**). Les souches de *Lactobacillus acidophilus* présentaient la capacité de métaboliser les oligosaccharides pendant la fermentation du lait de soja (**Donkor et al., 2007a**). De nombreuses souches probiotiques possèdent une activité α -galactosidase, qui permet leur croissance dans le lait de soja (**Fung et Liang, 2010**). **Yeo Siok-Koon. (2010)** a également indiqué que les prébiotiques sous forme de produits de soja sont capables d'améliorer de manière significative la croissance de *L. acidophilus*.

Un autre prébiotique, qui est la pectine, est aussi utilisée et les différentes réponses de croissance des bactéries aux échantillons de pectine sont étudiées. En effet, **Palframan et al., (2002)** ont évalué la croissance des bactéries à différents pH, et déclarent que le pH auquel la fermentation est effectuée a un effet direct sur le métabolisme du substrat en raison du changement de l'activité enzymatique à différents pH. Il a été aussi constaté que les échantillons de pectine augmentaient la croissance des *bifidobactéries* (**Palframan et al., 2002**).

Des résultats similaires ont également été rapportés par **Olano-Martin et al., (2003)**, qui ont démontré l'effet de diverses pectines et pectinoligosaccharides sur l'amélioration de la croissance des *bifidobactéries* en présence de pectine prébiotique. Ils ont observé que *L. casei* présentait la croissance maximale (2,4 DO à 660 nm) avec la pectine de *S. lycopersicum* par rapport à *L. acidophilus* et *B. bifidum* (**Olano-Martin et al., 2003**).

La pectine peut également être un prébiotique potentiel. Pour qu'un ingrédient alimentaire soit classé comme prébiotique, il ne doit être ni hydrolysé ni absorbé dans la partie supérieure du tractus gastro-intestinal ; être un substrat sélectif pour une ou un nombre limité de bactéries commensales potentiellement bénéfiques dans le côlon, stimulant ainsi la croissance des bactéries, leur activation métabolique, ou les deux ; et être capable de modifier la microflore du côlon vers une composition plus saine (**Gibson et Collins, 1999**).

Une meilleure compréhension des mécanismes de protection conférés par les prébiotiques vis-à-vis des probiotiques permettra d'améliorer encore leurs nombreux effets bénéfiques sur la santé de l'homme, et en perspective, ils seraient intéressants de mettre en évidence l'effet des prébiotiques les plus connues (inuline, pectine) ou d'autres sources de fibre alimentaires (farine de soja ou d'autres graines) par des tests *in vitro* sur la survie de la souche *Lactobacillus plantarum* nouvellement isolée à partir du lait de vache afin de comparer les résultats aux différents travaux de recherches analysés.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

-A-

- **Abed, S.M., Ali, A.H., Noman, A., Sobia Niazi, Alfarga Ammar, Bakry, A.M. (2016).** Inulin as Prebiotics and its Applications in Food Industry and Human Health; A Review. IJAIR. 5(1): 88-97.
- **Abrams, S.A.; Griffin, I.J.; Hawthorne, K.M.; Liang, L.; Gunn, S.K.; Darlington, G.; Ellis, K.J. (2005).** A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. Am. J. Clin. Nutr. 82, 471–476.
- **Abram S.A., Griffin I.J. et Hawthorne K.M. (2007),** Effect of prebiotic supplementation and Ca intake on BMI, J. pediatr. 151, 293-298.
- **AFSSA. (2003).** Alimentation infantile et modification de la flore intestinale. Rapport du groupe de travail. <http://www.afssa.fr>.
- **AFSSA. (2005).** Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore de l'immunité de l'homme adulte.
- **Alli P., Scholtens P., Raes, M., Hensen, K., Jongen, H., Rummens, J. L. (2007).** Effect of prebiotic galacto-oligosaccharide, long-chain fructooligosaccharide infant formula on serum cholesterol and triacylglycerol levels. Nutrition; 23:719-723.
- **Aly Savadogo et Alfred Traore. (2011).** La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. International Formulae Group : International Journal of Biological and Chemical Sciences. 5(5) : 2057-2075.
- **Amara S. (2012).** Effets probiotiques des bactéries lactiques sur le poulet e chair. Thèse de Magister en Biotechnologie Ecosystème Microbiens Complexes. Univer. Oran.
- **Anonyme (2017).** Les bénéfices des prébiotiques sur la santé. Université du Colorado parue dans la revue scientifique et médicale : Frontiers in Behavioral Neuroscience.
- **Arabbi P.R., Genovese, M. I., Lajolo F.M. (2004).** Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. Journal of Agric. Food Chem; 52: 1124-1131.

-B-

- **Bali, V., Panesar, P. S., and Bera, M. B. (2015)** Fructo-oligosaccharides: production, purification and potential applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 55(11): 1475–11490.

- **Bäckhed, F., Fraser, C., Ringel, Y., Sanders, M. E., Sartor, R. B., Sherman, P. M., et al. (2012).** Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host Microbe*;12:611–22.
- **Bedani, R., Rossi, E. A., et Isay Saad, S. M. (2013).** Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *Food Microbiology* 34(8) : 382e389.
- **Benyahya, R. H., (2014).** Activité antimicrobienne de la pulpe de la farine de caroube par interaction prébiotiques-pathogènes. Mémoire de Master, Alimentation et Nutrition. Univer. Tlemcen.
- **Bornet, F., Brouns, F., Tashiro, Y., et Duvillier, V. (2002).** Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides : natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Digestive and Liver Disease* 34(suppl2):111-120.
- **Bouquelet S. (2008).** « Les polysaccharides alimentaires. » In : Univ. Sci. Technol. Lille [En ligne]. [s.l.] : [s.n.]. Disponible sur : < http://biochim-agro.univ-lille1.fr/polysaccharides/co/Contenu_1_1.html > (consulté le 11 juin 2014)
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. (4e édition). [s.l.] : Lavoisier, 1289 p. ISBN : 978-2-7430-1904-4.
- **Calame, W. ; Weseler, A.R. ; Viebke, C. ; Flynn, C. ; Siemensma, A.D. (2008).** Gum arabic establishes prebiotic functionality in healthy human volunteers in a dose-dependent manner. *Br. J. Nutr*, 100, 1269–1275.

-C-

- **Canchaya C, Claesson MJ, Fitzgerald GF, Van Sinderen D, O’Toole PW. (2006).** Diversity of the genus *Lactobacillus* revealed by comparative genomics of five species. *Microbiol.*, 152: 3185– 3196.
- **Cardarelli, H.R., Buriti, F.C.A., Castro, I.A., Saad, S.M.I. (2008).** Inulin and Oligofructose Improve Sensory Quality and Increase the Probiotic Viable Count in Potentially Synbiotic Petit Suisse Cheese. *LWT - Food Sci. Technol.* 41(6): 1037-1046.
- **Chatterjee M., Manuel GAS., et Hassan SS. (2016).** Effect of Fruit Pectin on Growth of Lactic Acid Bacteria. *Journal of Probiotics & Health* (4: 147).
- **Champ M., (2003),** Les fibres alimentaires : définitions et aspects analytiques. *La lettre scientifique de l’Institut Français pour la nutrition* 91:1-11.

- **Cherbut C. (2003).** Prébiotiques et fonctions gastro-intestinales : revue des effets et des perspectives. *Cahier de Nutrition et de Diététique*; 38 : 346-54.
- **Conway P.L. (2001).** Prebiotics and human health : The state-of-the-art and future perspectives. *Scand. J. Nutr.*, 45 :13-21.
- **Costabile, A.; Kolida, S.; Klinder, A.; Gietl, E.; Bauerlein, M.; Frohburg, C.; Landschutze, V.; Gibson, G.R. (2010).** A double-blind, placebo-controlled, cross-over study to establish the bifidogenic effect of a very-long chain inulin extracted from globe artichoke (*Cynara scolymus*) in healthy subjects. *Br. J. Nutr.*, 104, 1007–1017.
- **Crittenden R.G. (1999).** Prebiotics. Dans: Tannock G. (Ed); *Probiotics: a critical review*. HorizonScientificPress, Wymondham.
- **Cummings J.H. et MacFarlane G. (2002).** Gastrointestinales effects of prebiotics. *British Journal of Nutrition* 87(suppl2):145-151.
- **Cummings JH., Pomare EW., Branch WJ., Naylor CP., Macfarlane GT. (1987).** Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 28:1221–1227.

-D-

- **Delzenne, N. M., Daubioul, C., Neyrinck, A., Lasa, M., & Taper, H. S. (2002).** Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals, review of biological events and future prospects. *British Journal of Nutrition*;87(Suppl. 1) :255-259.
- **Desmazeaud M. (1998).** Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine : utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures* 5 : 331-343.
- **Desmond C., Corcoran B.M., Coakley M., Fitzgerald G.F., Ross R.P. et Stanton C. (2005).** Development of dairy-based functional foods containing probiotics and prebiotics. *Australian Journal of Dairy Technology*, 60: 121–126.
- **Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2007a).** α -Galactosidase and proteolytic activities of selected probiotic and dairy cultures in fermented soymilk. *Food Chemistry* 104, 10e20.
- **Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2007b).** Rheological properties and sensory characteristics of set-type soy yogurt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 9868e9876.
- **Donkor, O.N., Nilmini, S.L.I., Stolic, P., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2007c).** Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal* 17, 657e665.

-E-

- **Eli, M.; Cattivelli, D.; Soldi, S.; Bonatti, M.; Morelli, L. (2008).** Evaluation of prebiotic potential of refined psyllium (*Plantago ovata*) fiber in healthy women. *J. Clin. Gastroentero*, 42, S174–S176.
- **Eissa S.A., Elbarbary H.A., Ekbal, M. A. Ibrahim, et Hamdi, A. Mohammed. (2018).** Growth Pattern of Starter Cultures and Antifungal Activity of Some Bacteriocins and Inulin in Skim Milk Yoghurt. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences (AGVS)* Vol. 59 (2).

-F-

- **FAO. (2004).** Agriculture mondial horizon, 2015-2030. Rapport FAO abrégé.
- **FAO/WHO. (2001).** Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Expert consultation report: Córdoba, Argentina: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization.
- **Femia A. P., Luceri C., Dolara P., Giannini A., Biggeri A., et Salvadori, M. (2002).** Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethaneinduced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis*; 23: 1953-1960.
- **Frank A. (2002).** Prébiotiques. In *Aliments fonctionnels*, Roberfroid M (coordonnateur) Editions Tec& Doc, Collection Sciences & Techniques Agroalimentaires, Lavoisier, Paris, 105-123.
- **Franck, A. (2007).** Technological Functionality of Inulin and Oligofructose. *Br. J. Nutr.* 87(2): 287-291.
- **Franck A. (2008).** Food application of prebiotics. In : Gibson, G.R, Roberfroid, M.B. (Eds), *Hand book of prebiotics*. CRC Press, Boca Ration, pp. 437-448.

-G-

- **Gibson, G. R., and Roberfroid, M. B. (1995).** Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* ;125:1401–12. 7.
- **Gibson, G. R., and Fuller, R. (2000).** Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. *J Nutr* 130, 391S-395S.
- **Gibson G.R., Probert M.H., Loo V.J., Rastall A.R and Roberfroid B.M. (2004).** Dietary modulation of the human clonic microbiata : updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews.*, 17 :259-275.

- **Gilliland S.E. Nelson C.R. and Maxwell C. (1985).** Assimilation of Cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 49 : 377-38.
- **González-Herrera, M.S., Rodríguez Herrera, R., López, M.G., Rutiaga, O.M., Aguilar, C.N., Esquivel, J.C.C., Martínez, L.A.O. (2015).** Inulin in Food Products: Prebiotic and Functional Ingredient. *Brit. Food J.* 117(1): 371-387.
- **Grizard D., et Barthomeuf C. (1999).** Non-digestible oligosaccharides used as prebiotic agents: mode of production and beneficial effects on animal and human health. *Reproduction, Nutrition, Development* 39(5-6):563-588.

-H-

- **Hassan, A.N., et Frank, J.F. (2001).** Starter Cultures and their use. In: *Applied Dairy Microbiology* (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 151-205.
- **Howarth, N.C.; Saltzman, E.; Roberts, S.B. (2006).** Dietary fiber and weight regulation. *Nutr. Rev.* 2001, 59, 129–139. 36. Ley, R.E.; Turnbaugh, P.J.; Klein, S.; Gordon, J. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444, 1027–1031.

-I-

- **Ignatova T., Iliev I., Kirilov N., Vassileva T., Dalgalarondo M., Haertle T., Chobert J.M., et Ivanova I. (2009).** *Journal Agricultural and Food Chemistry* Vol. 57, No. 20.
- **Ito M., Deguchi Y. et Miyamori A. (1990).** Effects of administration of galactooligosaccharides on the human fecal microflora, stool weight and abdominal sensation. *MicrobEcol Health Dis* 1990;3:285–92.

-J-

- **Johnston K. L., Thomas E. L., Bell J. D., Frost G. S., et Robertson M. D. (2010).** Resistant starch improves insulin sensitivity in metabolic syndrome. *Diabetic Medicine*. 27(4), pp. 391-397.

-K-

- **Keddari S., (2014).** Substances prébiotiques et aptitudes fermentaires des bifidobactéries. Thèse de doctorat, Nutrition humaine. Univer. Mostaganem.
- **Kim Y. S., Tsa O. D., Morita A., et Bella A. (1982).** Effect of sodium butyrate and three human colorectal adenocarcinoma cell lines in culture. *Falk Symposium*, 31, 317e323.

-L-

- **Ladjal C. et Elmeddah Z. (2017).** Etude de l'activité antimicrobienne de souches de bactéries lactiques isolées du lait de vache. Mémoire de Master, Nutrition et Santé. Université de Mostaganem.
- **Lanza, E.; Yu, B.; Murphy, G.; Albert, P.S.; Chan, B.; Marshall, J.R.; Lance, P.; Paskett, E.D.; Weissfeld, J.; Slattery, M.; et al. (2007).** The polyp prevention trial continued follow-up study: No effect of a low-fat, high-fiber, high-fruit and vegetable diet on adenoma recurrence eight years after randomization. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 16, 1745–1752.
- **Larouci S. (2013).** Contribution à l'étude des probiotiques et prébiotiques comme alternatives aux antibiotiques en avicultures. Mémoire de Magister. Biologie moléculaire et génétiques des microorganismes, Université. Oran.
- **Leach, J.D.; Sobolik, K.D. (2010).** High dietary intake of prebiotic inulin-type fructans in the prehistoric Chihuahuan desert. *Br. J. Nutr.* 103, 1158–1561.
- **Lefranc-Millot, C.; Gruerin-Deremaux, L.; Wils, D.; Neut, C.; Miller, L.E.; Saniez-Degrave, M.H. (2012).** Impact of a resistant dextrin on intestinal ecology: How altering the digestive ecosystem with NUTRIOSE, a soluble fiber with prebiotic properties, may be beneficial for health. *J. Int. Med. Res.* 40, 211–224.
- **Lopez-Molina D. et Navarro-Maetinez M.D. (2005).** Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry*; 66: 14761484.

-M-

- **Madhukumar M. S., et Muralikrishna G. (2010).** Structural characterisation and determination of prebiotic activity of purified xylo-oligosaccharides obtained from Bengal gram husk (*Cicer arietinum* L.) and wheat bran (*Triticum aestivum*). *Food Chemistry* ; 118: 215–223.
- **Macfralane S. et Dilon J.F. (2006).** Microbial biofilms in the human gastrointestinal tract. *J. Appl. Microbial.* 102, 1187-1196.
- **Marlett J.A., Mc Burney M.I., et Slavin J.L. (2002).** Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *Journal American Diet Association*; 102: 993-1000.
- **Marteau P., DeVrese M., Cellier C. et Schrezenmeir J. (2001).** Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *American Journal of Clinical Nutrition* 73(2Suppl):430S-436S.

- **Marteau P., Lepage P., Mangin I., Suau A., Doré J., Pochart, P., et Seksik, P. (2004).** Review article: gut flora and inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol Ther.* 20 (4): 18-23.
- **Marteau P., Rambaud J.C. (1998).** Probiotiques en gastroentérologie : bases rationnelles, effets démontrés et perspectives. *Hepato. Gastro.*, 5 : 267-73.
- **Marteau P., Seksik P., Lepage P., Dore J. (2004).** Cellular and physiological effects of probiotics and prebiotics *Mini Rev. Med Chem.* 4 : 889-896.
- **Marteau, P., Jacobs, H., Cazaubiel, M., Signoret, C., Prevel, J.-M., Housez, B. (2011).** Effects of Chicory Inulin in Constipated Elderly People: A Double-blind Controlled Trial. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 62: 164-170.
- **Munjal, U., Gleib, M., Pool-Zobel, B. L., et Scharlau D. (2009).** Fermentation products of inulin-type fructans reduce proliferation and induce apoptosis in human colon tumour cells of different stages of carcinogenesis. *British Journal of Nutrition*, 27, 1e9. Murphy Cowan M., (1999), Plant products as Antimicrobial Agents.

-O-

- **Olano-Martin E., Gibson G.R., et Rastall R.A. (2002).** Comparison of the in vitro bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides. *Journal of applied Microbiology*; Vol. 93, pp 505-511.

-P-

- **Palframan, R. J., Gibson, G. R., and Rastall, R. A. (2002).** Effect of pH and dose on the growth of gut bacteria on prebiotic carbohydrates in vitro. *Anaerobe* 8, 287-292.
- **Palframan, R., Gibson, G., and Rastall, R. (2003).** Development of a quantitative tool for the comparison of the prebiotic effect of dietary oligosaccharides. *Lett Appl Microbiol* 37, 281-284.
- **Pandiyan C., Annal Villi R., Kumaresan G., Murugan B., et Rajarajan G. (2012).** Effect of incorporation of inulin on the survivability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic ice cream. *International Food Research Journal (IFRG)* 19(4): 1729-1732.
- **Panersar PS., et Bali V. (2016).** Prebiotics. Sant Longowal Institute of Engineering and Technology, Longowal, India. Elsevier Ltd.
- **Panesar PS., and Kumari S. (2011).** Lactulose: production, purification and potential applications. *Biotechnology Advances* 29: 940-948.

- **Pimentel T.C., Garcia S., et Prudencio H.S. (2012).** Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* in set yoghurts during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, Vol (65), No 1.

-Q-

- **Quigley EM. (2011).** Therapies aimed at the gut microbiota and inflammation: antibiotics, prebiotics, probiotics, synbiotics, anti-inflammatory therapies. *Gastroenterol Clin North Am*, 40:207–22. doi: 10.1016/j.gtc.2010.12.009. PubMed PMID: 21333908.

-R-

- **Rabiu BA., Jay AJ., Gibson GR., Rastall RA. (2001).** Synthesis and fermentation properties of novel galacto-oligosaccharides by beta-galactosidases from *Bifidobacterium species*. *Appl Environ Microbiol*;67:2526–30.
- **Ramnani, P.; Gaudier, E.; Bingham, M.; van Bruggen, P.; Tuohy, K.M.; Gibson, G.R. (2010).** Prebiotic effect of fruit and vegetable shots containing Jerusalem artichoke inulin: A human intervention study. *Br. J. Nutr*, 104, 233–240. 41.
- **Rastall R.A., et Maitin V. (2002).** Prebiotics and synbiotics: Towards the next generation, *Curr. Opin. Biotechnol.* 13 490–496.
- **Roberfroid, M. B. (2001).** Prebiotics: preferential substrates for specific germs, *American Journal of Clinical Nutrition* 73(suppl):406S-409S.
- **Roberfroid, M. B., Van Loo, J. A., and Gibson, G. R. (1998).** The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 128, 11-19.
- **Roberfroid, M. B. (2007).** Prébiotiques, probiotiques, synbiotiques et inflammation intestinale. *Objectif Nutrition : la lettre de l'institute Danone*. N°85.
- **Roberfroid, M. B., Gibson G. R., Hoyles L., McCartney A. L., Rastall R., Rowland I. (2010).** Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition* ; 104(Suppl. 2) :1-63.
- **Rycroft C.E., Jones M.R., Gibson G.R. et Rastall R.A. (2001).** A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. *J Appl Microbiol*; 91: 878 – 887.

-S-

- **Salminen S., et Salminen E. (1997).** Lactulose, lactic acid bacteria, intestinal microecology and mucosal protection. *Scan J Gastroenterol .*, Vol 32, pp. S 45 – S 48.

- **Selle A., Brosseau C., Barbarot S., and Bodinier M. (2018).** Les prébiotiques : une stratégie nutritionnelle pour prévenir des allergies. *Revue française d'allergologies*.
 - **Scheppach, W., and Weiler, F. (2004).** The butyrate story: old wine in new bottles? Butyrate appears to be essential for a wide range of intestinal mucosal health benefits; however, the mechanisms behind this remain to be determined. *Current Opinion in Clinical Nutrition Metabolic Care*, 7, 563e567.
 - **Scholz-Ahrens, K. E., Schaafsma, G., van den Heuvel, E. G., and Schrezenmeir, J. (2001).** Effects of prebiotics on mineral metabolism. *Am J Clin Nutr* 73 (Suppl), 459S-463S.
 - **Scholz-Ahrens, K. E. and Schrezenmeir, J. (2002).** Inulin, oligofructose and mineral metabolism - experimental data and mechanism. *Br J Nutr* 87 (Suppl 2), S179-S186.
 - **Scholz-Ahrens, K. E., and Schrezenmeir, J. (2007).** Inulin and oligofructose and mineral metabolism: the evidence from animal trials. *Journal of Nutrition*, 137(11 Suppl.), 2513Se2523S.
 - **Schrezenmeir J., and De Verse M. (2001).** Probiotics approaching a definition. *Am.J. Clin. Nutr.*, 73(2) : 361-364.
 - **Schutz K., et Persike M. (2006).** Characterization and quantification of anthocyanins in selected artichoke (*Cynara Scolymus L.*) cultivars by HPLC-DAD-ESI-MS. *Anal Bioanal Chem.*; 22: 54-58.
 - **Slavin J. (2013).** Fiber and Prebiotic : Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients* : 5, 1417-1435.
 - **Stahl W., et Sies H. (2005).** Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim Biophys Acta*; 1740: 101-107.
 - **Su P., Henriksson A., et Mitchell H. (2007).** Prebiotics enhance survival and prolong the retention period of specific probiotic inocula in an in vivo murine model . *Journal compilation. The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology* 103 : (9) 2392–2400.
 - **Su P., Henriksson A., et Mitchell H. (2007).** Selected prebiotics support the growth of probiotic mono-cultures in vitro. *Anaerobes*; 13:134:139.
- T-**
- **Tanaka R., Takayama H., Morotomi M., Kuroshima T., Ueyama S. et Matsumoto K. (1983).** Effects of administration of TOS and *Bifidobacterium breve* 4006 on the human faecal flora. *BifMicroflora.*, Vol. 2, pp. 17-24.

- **Tako E., Glahn R. P., Welch R. M., Lei X., Yasuda K., et Miller D. D. (2008).** Dietary inulin affects the expression of intestinal enterocyte iron transporters, receptors and storage protein and alters the microbiota in the pig intestine. *British Journal of Nutrition*, 99, 472-480.
- **Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thornburn, A.N., Mackay, C.R., Macia, L. (2014).** The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv. Immunol.* 121, 91-119.
- **Tang, Z. R., Yin, Y. L., Nyachoti, C. M., Huang, R. L., Li, T. J., Yang, C. B., et al. (2005).** Effect of dietary supplementation of chitosan and galacto-mannan oligosaccharide on serum parameters and the insulin-like growth factor-I mRNA expression in early-weaned piglets. *Domestic Animal Endocrinology*, 28, 430-441.
- **Terada A., Hara h., Kataoka M. et Mitsuoka T. (1992).** Effect of lactulose on the composition and metabolic activity of the human faecal microbiota. *Microb Ecol Health Dis.*, Vol. 5, pp. 43 - 50.
- **Truswell A.S. (2002).** Cereal grains and coronary heart disease. *Eur J. Clin Nutr.* 56:1-14.
- **Tuohy, K. M., Ziemer, C. J., Klinder, A., Knöbel, Y., Pool-Zobel, B., and Gibson, G. R. (2002).** A human volunteer study to determine the prebiotic effects of lactulose powder on human colonic microbiota. *Microbial Ecol Health Dis* 14, 165-173.
- **Tucker, L.A.; Thomas, K.S. (2009).** Increasing total fiber intake reduces risk of weight and fat gains in women. *J. Nutr.* 139, 576–581.

-V-

- **Van Loo, J.; Coussement, P.; de Leenheer, L.; Hoebregs, H.; Smits, G. (1995).** On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 35, 525–552.
- **Van Loo, J., Cummings, J., Delzenne, N., Englyst, H., Franck, A., Hopkins, M., Kok, N., Macfarlane, G., Newton, D., Quigley, M., Roberfroid, M., van Vliet, T., van den Heuvel, E. (1999).** Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). *Br J Nutr* 81, 121-132.
- **Van Immerseel F., De Buck J., Pasmans F., Haesebroek F., Ducatelle R. (2003).** Stratégies nutritionnelles pour réduire les agents pathogènes chez la volaille. Cinquièmes journées de la recherche avicole. Tours.
- **Videla, S., Vilaseca, J., Antolin, M., Garcia-Lafuente, A., Guarner, F., Crespo, E. et al. (2001).** Dietary inulin improves distal colitis induced by dextran sodium sulfate in the rat. *American Journal of Gastroenterology*, 96, 1486-1493.

-W-

- **Wang Y. (2009).** Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Res. Int.*, 42, 8–12.
- **WGO. (2011).** Probiotiques et Probiotiques. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines.
- **WGO. (2017).** Probiotiques et Probiotiques. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines.

-Y-

- **Yeo Siok-Koon. (2010).** Effect of prebiotics on viability and growth characteristics of probiotic in soymilk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(2): 267-75.

-Z-

- **Zergoug A. (2017).** Effets des probiotiques et Bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des interactions urinaires. Thèse de doctorat, Microbiologie Appliquée. Univer. Mostaganem.
- **Ziar H. (2013).** Les bactéries lactiques : Survies et Assimilation de Cholestérol. Thèse de doctorat, Univer. Mostaganem.
- **Zenhom Marwa, Hyder Ayman, De Vrese Michael , Heller Knut J., Roeder Thomas and Schrezenmeir Jürgen. (2011).** Prebiotic Oligosaccharides Reduce Proinflammatory Cytokines in Intestinal Caco-2 Cells via Activation of PPAR γ and Peptidoglycan Recognition Protein 31–3. *The Journal of Nutrition* : 141: 971–977.