

Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou  
Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques



# *Mémoire de fin d'études*

En vue d'obtention du diplôme de Master en Sciences Alimentaires  
Spécialité : Agro-alimentaire et contrôle qualité

## *Thème*

**Effet d'un extrait de pulpe de caroube sur la croissance de  
*Bifidobacterium animalis ssp lactis* dans un lait fermenté**

*Réalisé par :*

Kahina DJEMAI

*Encadré par :*

Pr Tahar AMROUCHE

*Co-encadré par :*

Djamila AGGUINI

*Devant le jury*

*Présidente du jury : Mme LAMMI Sarah. Maitre de conférences à l'UMMTO*

*Examinatrice : Mme REMANE Yakout. Maitre assistante à l'UMMTO*

Promotion 2020

## *Remerciements*

*Je dois l'aboutissement de cette thèse à de nombreuses personnes.*

*J'aimerais en tout premier lieu remercier Madame Djamila AGGUINI et Monsieur Salah AGGUINI pour m'avoir accueillie au sein de leur laboratoire Ovolab.*

*je vous remercie infiniment pour toutes les heures, les jours et les mois que vous avez passés avec patience extrême à me diriger, corriger et conseiller, tous au long de mon travail.*

*Je suis vraiment chanceuse, j'ai connu avec vous le vrai sens d'un travail expérimental de qualité. Veuillez trouver ici toutes mes expressions de profonde gratitude et mes sentiments de respect. Je vous serai reconnaissante pour le reste de ma vie.*

*Je remercie également mon promoteur, Pr Tahar AMROUCHE, pour m'avoir proposé le thème et accepté de m'encadrer, je tiens aussi à vous remercier pour vos orientations et vos judicieux conseils que vous m'avais constamment prodigués.*

*J'adresse également mes remerciements à mes professeurs :*

*L'honorable jury composé de la présidente Madame LAMMI Sarah et l'examinatrice Madame REMANE Yakout.*

*Je les remercie d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*En fin un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près et de loin pour la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie cet événement marquant de ma vie*

*A mes chers parents, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur amour, leur encouragement et leur soutien tout au long de mes études, que Dieu les protège et les bénisse.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours pour vous. Merci pour vous être sacrifiée pour que vos enfants grandissent et prospèrent.*

*A mes chères sœurs Thinhinane et Katia, et mon chère frère El vez.*

*A tous les membres de ma famille, à tous mes amis et à tous ceux que j'aime.*

### *Résumé*

La caroube (*Ceratonia siliqua.L*) est fréquemment utilisée par les industries agroalimentaires et pharmaceutiques, et ce pour sa richesse en oligosaccharides et en fibres alimentaires. Ces substances font de la caroube un candidat potentiel au statut prébiotique.

L'objectif de notre étude est de déterminer un effet stimulant éventuel d'un extrait aqueux et d'un extrait hydroalcoolique obtenus à partir de la pulpe de la caroube sur la croissance de *Bifidobacterium animalis ssp lactis* choisi comme souche probiotique. *B. animalis lactis* a été cultivée dans du lait en présence des extraits de caroube à différentes concentrations 3 % 4,5 % et 6 % (v/v). Les résultats obtenus ont montré que les extraits de caroube stimulent significativement à  $P < 0,05$  la croissance de la souche probiotique testée. L'ajout de l'extrait hydroalcoolique aux concentrations de 3 %, 4, 5 % et 6 % conduit à des taux de croissance de l'ordre de 43,75 %, 43,75 % et 39,92 % respectivement, tant dis que l'ajout des mêmes concentrations d'extraits aqueux entraîne des taux de l'ordre de 32,5%, 33,25% et 29,25 % respectivement. Ainsi il en ressort que l'extrait hydroalcoolique stimule la croissance de *B. animalis lactis* plus que l'extrait aqueux.

Cette étude indique que l'extrait de caroube pourrait être ajouté dans la formulation des nouveaux produits appelés aliments fonctionnels, qui outre leurs effets nutritionnels habituels ils exercent un effet bénéfique sur la santé.

Mots clés :

Caroube (*Ceratonia siliqua.L*), extrait de caroube hydroalcoolique et aqueux, prébiotiques, *Bifidobacterium animalis ssp lactis*, probiotiques.

### *Abstract*

Carob (*Ceratonia siliqua.L*) is frequently used by the food and pharmaceutical industries for its richness in oligosaccharides and dietary fibre. These substances make the carob a potential candidate for prebiotic status.

The aim of our study is to determine a possible stimulating effect of an aqueous extract and a hydroalcoholic extract obtained from carob pulp on the growth of *Bifidobacterium animalis ssp lactis* chosen as a probiotic strain. *B. animalis ssp lactis* was grown in milk in the presence of the carob extracts with different concentrations of 3% 4.5% and 6% (v/v).

The results obtained show that the carob extracts significantly stimulate at  $P<0.05$  the growth of the probiotic strain tested. The addition of the hydroalcoholic extract at concentrations of 3%, 4.5%, and 6% leads to growth rates of 43.75%, 43.75%, and 39.92% respectively, while the addition of the same concentrations of aqueous extracts leads to growth rates of 32.5%, 33.25%, and 29.25% respectively. Thus, the hydroalcoholic extract stimulates the growth of *B. animalis lactis* more than the aqueous extract.

This study indicates that the carob extract could be added in the formulation of new products called Functional Foods, which besides their usual nutritional effects, they carry significant benefits for our health and well-being.

Key words:

Carob (*Ceratonia siliqua.L*): hydroalcoholic and aqueous carob extract, prebiotics, probiotics, *Bifidobacterium animalis ssp lactis*.

### Liste des abréviations

**AFSSA** : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

**AGCC** : Acide Gras Courte Chaîne

**ANOVA**: Analysis of the Variance

**CoA**= Coenzyme A

**Cy-Hcl** : chlorohydrate de cystéine

**°D**: Degré dornic

**FAO**: Food and Agriculture Organization

**FOS**: fructooligosaccharide

**HMOs** :(Human Milk Oligosaccharides

**IgA**: immunoglobulines A

**GOS**: galactooligosaccharides

**MRS**: Man Rogosa Sharpe

**OMS**: Organisation mondiale de santé

**SSN** : Société Suisse de Nutrition

**TGI**: tractus gastro-intestinal

**TPY** : milieu trypticase-phytone- extrait de levure

**TSE** Tryptone-Eau-Sel

### Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Classification de caroubier .....	3
<b>Tableau 2.</b> Composition chimique de la caroube .....	5
<b>Tableau 3.</b> Différence principale - Oligosaccharides vs Polysaccharides .....	10
<b>Tableau 4.</b> Effets positifs des prébiotiques sur la santé .....	13
<b>Tableau 5.</b> Composés prébiotiques commercialisés .....	15
<b>Tableau 6.</b> Critères de sélection des probiotiques .....	22
<b>Tableau 7.</b> Effets positifs des probiotiques sur la santé.....	27
<b>Tableau 8.</b> résultats des analyses physicochimiques des extraits.....	45
<b>Tableau 9.</b> Résultats des taux de sucres des extraits .....	46
<b>Tableau 10.</b> pH et acidités des laits fermentés avec 3%, 4.5% et 6% d'extraits de caroube ...	47
<b>Tableau 11.</b> La moyenne de CFU/ml dans le témoin, avec l'extrait aqueux et avec l'extrait hydroalcoolique .....	48

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Centre d'origine et distribution géographique du caroubier dans le monde (Mahdad, et <i>al.</i> , 2017) .....	3
<b>Figure 2.</b> Les mécanismes d'action des prébiotiques. (Roberfroid, 2001) .....	12
<b>Figure 3.</b> Inhibition des bactéries entériques et amélioration de la fonction barrière par les bactéries probiotiques (Ng et <i>al.</i> , 2009).....	25
<b>Figure 4.</b> Modulation de la réponse immunitaire des muqueuses par des bactéries probiotiques (Ng et <i>al.</i> , 2009) .....	26
<b>Figure 5.</b> Présentation des effets bénéfiques des probiotiques sur la santé (Saarela et <i>al.</i> , 2000).....	28
<b>Figure 6.</b> Morphologie dans le genre <i>Bifidobacterium</i> . .....	34
<b>Figure 7.</b> Les gousses de Caroube récoltées, débarrassées de leurs graines et broyées. ....	36
<b>Figure 8.</b> Extraction avec le tube de percolation .....	37
<b>Figure 9.</b> pH-mètre HANNA 211 .....	38
<b>Figure 10.</b> Réfractomètre .....	38
<b>Figure 11.</b> Dosage des sucres méthode de Fehling.....	40
<b>Figure 12.</b> Lait fermenté aux probiotiques de marque le Martinet.....	41
<b>Figure 13.</b> Cultures filles.....	41
<b>Figure 14.</b> Incubation des pots à 37c° pendant 16h.....	42
<b>Figure 15.</b> Outils utilisés .....	43
<b>Figure 16.</b> Boîtes de Petri incubées à l'étuve à 37°C, renversé dans des jarres d'anaérobiose avec des bougies.....	44
<b>Figure 17.</b> Les extraits de caroube.....	46
<b>Figure 18.</b> Dénombrement des colonies de <i>Bifidobacterium</i> .....	49
<b>Figure 19.</b> Observation microscopique de <i>B. animalis ssp lactis</i> .....	49
<b>Figure 20.</b> Résultats de l'analyse statistique sur la croissance de <i>B. animalis ssp lactis</i> en concentration de 3% d'extrait .....	50
<b>Figure 21.</b> Résultats de l'analyse statistique sur la croissance de <i>B. animalis ssp lactis</i> en concentration de 4,5% d'extrait .....	51
<b>Figure 22.</b> Résultats de l'analyse statistique sur la croissance de <i>B. animalis ssp lactis</i> en concentration de 6% d'extrait. ....	52

Table des matières

*Remerciements*

*Dédicaces*

*Résumé*

Liste des abréviations .....	VI
Liste des tableaux .....	VII
Liste des figures .....	VIII
Table des matières .....	IX
Introduction.....	1
I Caroube.....	2
I.1 Origine du caroubier:.....	2
I.2 Distribution géographique: .....	2
I.3 Taxonomie du caroubier: .....	3
I.4 Description de la caroube .....	4
I.5 Composition chimique de la caroube .....	5
I.6 Bienfaits des fibres de la caroube :.....	6
I.7 Applications des polysaccharides de la caroube dans l'industrie alimentaire ..	7
I.8 Aspect économique .....	9
II Prébiotiques.....	10
II.1 Définition .....	10
II.2 Polysaccharides versus oligosaccharides.....	10
II.3 Mécanisme d'action des prébiotiques: .....	11
II.4 Effets physiologiques et les mécanismes induits par les prébitiques .....	12
II.5 Sources naturelles de Prébiotiques .....	14
II.6 Prébiotiques commercialisés.....	14
II.7 Aspect réglementaire .....	15
II.8 Prébiotiques versus fibres alimentaire.....	15
III Microbiote .....	17
III.1 Définition .....	17
III.2 Rôles du microbiote.....	17
III.2.1 Fonctions immunitaires .....	17
III.2.2 Fonctions métaboliques .....	18
III.2.3 Fonction neurologique ( axe intestin-cerveau) .....	18

III.3	Facteurs influençant le microbiote intestinal .....	19
IV	Bifidobactéries : probiotiques par excellence .....	22
IV.1	Probiotiques .....	22
IV.1.1	Histoire des probiotiques .....	22
IV.1.2	Propriétés et critères de sélection des souches probiotiques .....	22
IV.1.3	Mécanismes d'action des probiotiques.....	23
IV.1.4	Effets positifs des probiotiques sur la santé.....	27
IV.1.5	Sources naturelles de probiotiques.....	28
IV.1.6	Aspect règlementaire .....	30
IV.2	Bifidobactéries .....	30
IV.2.1	Histoire des bifidobactéries .....	30
IV.2.2	Taxonomie des bifidobactéries .....	30
IV.2.3	Evidences scientifiques .....	31
IV.2.4	Morphologie des cellules.....	31
IV.2.5	<i>Bifidobacterium animalis</i> .....	35
IV.2.6	Bienfaits de <i>Bifidobacterium animalis ssp lactis</i> .....	35
V	Matériel et méthodes .....	36
V.1	Récolte de la caroube.....	36
V.2	Préparation des extraits de caroube .....	36
V.2.1	Méthode d'extraction .....	36
V.2.2	Extraction hydroalcoolique.....	36
V.2.3	Extraction aqueuse .....	37
V.3	Analyses physico-chimiques de l'extrait .....	37
V.3.1	Mesure de pH.....	37
V.3.2	Mesure de Brix.....	38
V.3.3	Dosage des sucres réducteurs et totaux par la méthode de Fehling .....	39
V.4	Préparation du lait fermenté aux probiotiques .....	40
V.4.1	Culture mère.....	40
V.4.2	Laits fermentés avec ou sans extraits de caroube .....	41
V.5	Analyse physicochimique du lait fermenté.....	42
V.5.1	Mesure du pH.....	42
V.5.2	Mesure d'acidité Dornic .....	42
V.6	Etude de l'effet de l'incorporation des extraits de caroube sur la croissance de <i>B. animalis ssp lactis</i> .....	42
V.6.1	Cultures microbiennes .....	43

## Table des matières

---

V.6.2	Milieu de culture .....	43
V.6.3	Dénombrement.....	43
V.6.4	Analyse statistique.....	44
VI	Résultats et Discussion.....	45
VI.1	Résultats des analyses physicochimiques des extraits.....	45
VI.1.1	Interprétations des résultats : .....	46
VI.2	Résultats des analyses physicochimiques des laits fermentés .....	47
VI.3	Résultats de l'effet de l'incorporation des extraits de caroube sur la croissance de <i>Bifidobacterium animalis ssp lactis</i> .....	48
VI.3.1	Evolution du nombre des colonies <i>B. animalis ssp lactis</i> dans le lait fermenté .	48
VI.3.2	Résultats des analyses statistiques .....	50
VI.3.3	Interprétation des résultats sur l'effet stimulant de l'extrait de caroube sur la croissance de <i>B. animalis ssp lactis</i> .....	52
Conclusion	.....	55
Références		
Annexes		

# ***INTRODUCTION***

---

### Introduction

Ces dernières années, les polysaccharides végétaux de par leur valeur biologique unique suscitent de plus en plus d'intérêt aussi bien chez les nutritionnistes que les industriels. Les polysaccharides présents dans les caroubes ont été largement utilisés non seulement dans l'industrie alimentaire et les applications pédiatriques, mais aussi comme une excellente source de fibres et de composants phénoliques, qui sont à l'origine des différents bienfaits pour la santé humaine (Zhu et *al.*, 2019). Grace à ses richesses la caroube pourrait être exploitée comme un candidat potentiel au statut prébiotique (Benguiar et *al.*, 2015).

Les prébiotiques ont été définis comme des composés non digestibles qui, par leur métabolisation par les microorganismes de l'intestin, modulent la composition et/ou l'activité du microbiote intestinal, conférant ainsi des effets physiologiques bénéfiques sur la santé de l'hôte (Gibson et *al.*, 1995 ; Bindels et *al.*, 2015)

Ces composés (prébiotiques) peuvent atteindre la partie inférieure de l'intestin, étant accessibles aux bactéries intestinales (Al-Sheraji et *al.*, 2013), en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité des bonnes bactéries.

Ces microorganismes du microbiote jouent un rôle essentiel sur la santé humaine (Mayer et *al.*, 2014 ; Rabot, 2015 ; Landman et Quévrain, 2016 ; Sittipo et *al.*, 2019).

Bien que le microbiote intestinal reste remarquablement stable pour chaque individu au cours de sa vie, il existe de nombreux facteurs pouvant perturber sa composition (style de vie, prise de médicaments, alimentation) (Dariche et *al.*, 2020)

Compte tenu de la demande du consommateur pour des produits bénéfiques pour la santé, de nouveaux produits ont vu jour, il s'agit notamment des produits symbiotiques qui contiennent à la fois des prébiotiques et des probiotiques (AFSSA, 2003).

La présence de prébiotiques entraîne un effet bénéfique sur la stabilité des probiotiques dans le produit ainsi que sur sa survie et son implantation dans le tractus gastrointestinal, tant que dure la présence du prébiotique.

C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail, dont l'objectif est de déterminer un effet stimulant éventuel d'un extrait aqueux et d'un extrait hydroalcoolique obtenus à partir de la pulpe de la caroube sur la croissance de *Bifidobacterium animalis ssp lactis* choisi comme probiotique.

# I Caroube

La caroube (*Ceratonia siliqua L*) est un arbre à feuilles persistantes, qui appartient à la famille des légumineuses et est cultivé dans le bassin méditerranéen depuis l'Antiquité. Cette culture a longtemps été oubliée, mais aujourd'hui, elle est considérée comme une culture économiquement importante en raison de sa valeur ajoutée et sa demande pour différents usages industriels.

## I.1 Origine du caroubier:

Le centre d'origine du caroubier demeure obscur, puisqu'il existe plusieurs hypothèses emmenant un désaccord entre différents auteurs.

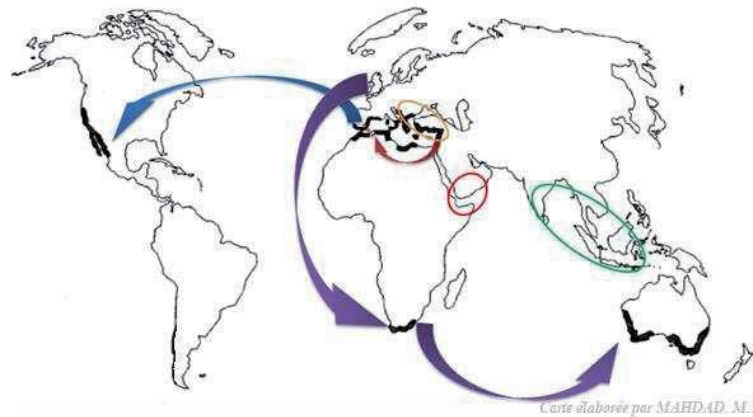
Vavilov (1951) situe l'origine du caroubier dans la région Est de la Méditerranée : (Turquie, Syrie et Palestine), tandis que des études archéobotaniques menées à partir de restes carbonisés de bois et de fruits, ont démontré que le caroubier était présent dans la Méditerranée orientale au Néolithique (4000 ans av. J.-C.), et sa culture extensive date au moins de 2000 ans avant J.C (Battelet et Tous, 1997 ; Gharnit, 2003 ; Berrougui, 2007).

Il était connu dans le Proche Orient et les îles de la Méditerranée, en Égypte les pharaons ont utilisé la farine du fruit pour rigidifier les bandelettes des momies (XVIIe siècle avant J.C).

## I.2 Distribution géographique:

Selon Hillcoat (1980), le caroubier s'étend dans la nature, en Turquie, Chypre, Syrie, Liban, Palestine, le Sud de la Jordanie, Égypte, Arabie, Tunisie et Libye avant d'atteindre la Méditerranée occidentale. Il a été disséminé par les Grecs en Grèce et en Italie, par les Arabes le long de la côte Nord de l'Afrique et du Sud, et à l'est de l'Espagne, ce qui par la suite a permis sa distribution dans le Sud du Portugal et dans le Sud-est de la France. Il fut aussi introduit avec succès par les Espagnols et les Anglais dans d'autres pays à climat méditerranéen notamment, aux États-Unis (Arizona, Sud de la Californie), au Mexique, en Australie et en Afrique du Sud (Estrada et al., 2006).

La distribution géographique du caroubier dans le monde est représentée dans la **Figure 1**, les cercles représentent les différentes hypothèses qui existent sur le centre d'origine de *C.siliqua L* tandis que les flèches symbolisent la distribution de l'espèce par le monde (Mahdad et al., 2017).



**Figure 1.** Centre d'origine et distribution géographique du caroubier dans le monde (Mahdad et al., 2017)

### **I.3 Taxonomie du caroubier:**

Le nom scientifique du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.  $2n = 24$ ) (Barracosa et al., 2007), dérive du grec *Keras* signifiant « petites cornes » en référence à ses gousses en forme de cornes à maturité, et du latin *siliqua* désignant une silique ou gousse, faisant allusion à la dureté et à la forme du fruit (Battle et Tous , 1997). Le caroubier, ou *Cératonia siliqua* L., de la famille des *Fabaceae*, est un arbuste dioïque a feuilles persistantes et de croissance lente (Bouzaouita et al., 2007 ; Biner et al., 2007). Selon (Quezel et al., 1963), la classification botanique de *Ceratonia siliqua* L. est donnée dans le **Tableau 1**

**Tableau 1.**Classification de caroubier (Quezel et al., 1963)

<i>Règne</i>	<i>Plantae</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Tracheobionta</i>
<i>Sous-embranchement</i>	<i>Angiospermes</i>
<i>Classe</i>	<i>Magnoliopsida</i>
<i>Sous classe</i>	<i>Rosidae</i>
<i>Ordre</i>	<i>Fabales (Rosales)</i>
<i>Famille</i>	<i>Fabaceae</i>
<i>Sous famille</i>	<i>Caesalpinioïdae</i>
<i>Genre</i>	<i>Ceratonia</i>
<i>Espèce</i>	<i>Ceratonia siliqua</i> L.

### ***1.4 Description de la caroube***

Le caroubier peut atteindre une taille allant de 8 à 15 m, et vivre jusqu'à 500 ans (Gillet et *al.*, 2014).

Elle tolère bien la sécheresse expliquant sa grande répartition dans les régions arides et semi arides du climat méditerranéen (Gharnit et *al.*, 2009). Souvent employée pour lutter contre la déforestation et la désertification, en limitant l'érosion des sols (Gillet et *al.*, 2014).

Sa gousse est épaisse, coriace, indéhiscente, arquée, épaisses et longue de 10 à 20 cm sur 2 à 3cm de largeur, pendante, contenant de 10 à 16 graines (Eveinoff, 2015).

Cet arbre est connu depuis l'antiquité (Eveinoff, 2015), est cultivé essentiellement pour ses graines. Ces dernières contiennent un endosperme riche en galactomannanes, utilisés notamment dans l'industrie agro-alimentaire, grâce à ses bonnes propriétés texturants (Gillet et *al.*, 2014).

Les caroubes sont très riches en matières nutritives, tel que le sucre environ 500 g/kg, elle en contient plus que la canne à sucre ou la betterave sucrière. Les analyses américaines ont constaté jusqu'à 72,6 % de sucre (saccharose et glucose) et 15,2 % de protéine (Eveinoff, 2015).

Cependant sa teneur en composés chimiques varie beaucoup selon les pays de cultures.

Le grand pourcentage de sucre qui existe dans sa farine donne la possibilité d'avoir un alcool remarquable. Aussi, on peut obtenir 20-25 litres d'alcool pur avec 100 kg de fruits (Eveinoff, 2015).

Des recherches ont montré que la caroube peut constituer un bon candidat pour être utilisé comme un aliment fonctionnel ou comme un ingrédient alimentaire (Beirnack et *al.*, 2017 ; Arribas et *al.*, 2019), du fait qu'elle peut constituer une bonne source de polyphénols, antioxydants et de fibres .

Une fois torréfiée, la pulpe de caroube développe des caractéristiques sensorielles (goût et couleur) similaires à ceux de la poudre de cacao (Durazzo et *al.*, 2014), mais et contrairement au cacao, la caroube ne contient pas de théobromine (stimulants), la caféine et l'acide oxalique qui sont des composés toxiques lorsqu'ils sont consommés en grandes quantités (Biner et *al.*, 2007) .

## I.5 Composition chimique de la caroube

La pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier et représentent respectivement 90% et 10% de son poids total. Selon plusieurs auteurs, la composition chimique de la pulpe dépend en général, du cultivar, de l'origine et parfois de la période de récolte (Gaour, 2011). Le **Tableau 2**, représente la composition chimique de la caroube.

**Tableau 2.** Composition chimique de la caroube (Biner et *al.*, 2007 ; Kamal et *al.*, 2013)

<b>La pulpe 90%</b>	
Glucides	48 à 72%
Cellulose et hémicellulose	18%
Polyphénols	16 à 20%
Pectines et fibres	4,2 à 9,6%
Cendres	1,5 à 2,4%
Protéines	1 à 2%
Matières grasses	0,5 à 0,7%
Minéraux	(Ca, Mg, k, P)
<b>La graine 10%</b>	
L'enveloppe tégumentaire (cuticule)	30-33%
L'endosperme (albumen)	42-46%
L'embryon (germe)	23-25%
<b>Vitamine liposoluble</b>	<b>µg/100 g</b>
A	1 407
E	5 377
D	4,9
<b>Vitamine hydrosoluble</b>	<b>mg/100 g</b>
C	830,08
B2	0,38
B3	185.68
B6	23,80
Acide folique	41,97
B12	1,30
<b>Minéraux</b>	<b>mg/kg</b>
Mn	10,24
Zn	24,71
Fe	381,80
Cu	4,84
Se	9,79
Ca	2123

### ***1.6 Bienfaits des fibres de la caroube :***

Certaines études ont montré que la consommation d'aliments à faible indice glycémique améliore le contrôle de la glycémie, le profil lipidique et les concentrations de lipoprotéines. D'autres avantages sont connus comme la prévention des maladies coronariennes, la prévention du cancer, la promotion d'effets antiallergiques et la vaso-relaxation (Sakakibara et *al.*, 2003).

#### ➤ Prévention de l'obésité

La consommation du régime enrichi en pulpe de caroube, entraînait une réduction du poids corporel, du poids du tissu adipeux et de la glycémie. En outre, l'enrichissement du régime en pulpe de caroube améliore également le profil lipidique et le statut oxydant/antioxydant (Sour et *al.*, 2019). Ce résultat est en accord avec Brennan qui a constaté que les fibres solubles de la poudre de caroube ont montré un avantage potentiel pour la prévention de l'obésité et pour améliorer la perte de poids (Brennan, 2005). De même, El Rabey et Coll, ont montré qu'un régime complété par un extrait méthanolique de caroube pendant huit semaines diminuait le poids corporel chez les rats mâles hypercholestérolémiques (El Rabey et *al.*, 2017).

Différents mécanismes anti-obésité pour la caroube polyphénol de caroube ont été proposés, tels que la suppression de l'absorption des graisses au niveau de l'intestin.

#### ➤ Anti-diarrhéique

C'est l'indication la plus connue et la plus ancienne de la caroube, qui est traditionnellement utilisée pour lutter contre la diarrhée depuis des siècles. Cette action de la caroube a depuis été démontrée par plusieurs études. En tant qu'adjuvant dans la thérapie diététique de la diarrhée infantile aiguë, la farine de caroube est d'une valeur considérable pour accélérer la guérison et le rétablissement. (Pablo, 1952)

Ce sont les fibres solubles contenues dans la pulpe de caroube, qui seraient responsables de ses effets anti diarrhéique et astringents. Par ailleurs, ses tanins auraient la particularité de retenir l'eau dans les selles et d'agir comme un agent liant (Lafaurie, 2020).

#### ➤ Anti-reflux

La farine de caroube est utilisée dans l'industrie des laits infantiles, pour épaissir certains laits destinés aux enfants souffrant de Reflux Gastro Osophagien (RGO). Leur texture épaissie limite les problèmes de régurgitation.

#### ➤ Hypocholestérolémiant

Les fibres de la caroube, très riches en polyphénols, contribueraient à la rendre efficace pour faire baisser le taux de cholestérol des patients hypercholestérolémiques.

La consommation de fibres très riches en polyphénols insolubles montre des effets bénéfiques sur le profil lipidique sanguin de l'homme et peut être efficace dans la prévention et le traitement de l'hyperlipémie. Baltasar met en évidence une baisse des niveaux de cholestérol total et du LDL cholestérol - chez les patients ayant bénéficiés d'une alimentation riche en fibres à forte proportion de polyphénol (Ruiz-Roso et *al.*, 2010).

Par ailleurs, les fibres solubles sont connues pour limiter l'absorption intestinale des graisses en formant un filet autour du bol alimentaire. Elles contribueraient donc à limiter les dyslipidémies.

### ➤ Effet anticancéreux

Des études épidémiologiques et expérimentales ont montré que le cancer colorectal peut être sur-pressé en régulant l'alimentation. Les chercheurs pensent que les divers composés phénoliques présents dans les fruits, les légumes, les céréales, le thé et le vin sont des substances apparentées très prometteuses (Nayak et *al.*, 2015). Le mécanisme consiste à réduire le stress oxydatif en piégeant les radicaux libres ou en chélatant l'activité redox.

Certaines études ont également montré qu'elles peuvent inhiber efficacement la prolifération de divers types de lignées cellulaires cancéreuses. Des études antérieures ont montré que les polyphénols et les fibres alimentaires ont le potentiel de réduire le risque de cancer, tandis que les fibres de caroube se combinent à ces deux nutriments (Ahmed et *al.*, 2013). En conséquence, les fibres de caroube ont un grand potentiel pour la prévention et le traitement du cancer colorectal (Zhu et *al.*, 2019).

### ***I.7 Applications des polysaccharides de la caroube dans l'industrie alimentaire***

La gomme et la fibre de caroube jouent également un rôle unique dans l'industrie alimentaire (Zhu et *al.*, 2019).

### ➤ Films/enrobages comestibles

Récemment, de plus en plus de nouveaux films ou revêtements respectueux de l'environnement ont été conçus, qui sont basés sur des polymères biodégradables. Parmi les polymères naturels comestibles et biodégradables, la gomme de caroube est choisie pour former des films/enrobages comestibles afin de réduire l'impact négatif d'une transformation minimale sur les fruits frais coupés (Rojas-Argudo C, 2009).

### ➤ Produits de boulangerie

Les fibres alimentaires contenues dans les fruits de caroube ont été largement utilisées dans les produits de boulangerie, notamment le pain, les petits pains, les gâteaux et les plats cuisinés. En pratique, le remplacement d'une partie de la farine de blé par des fibres de caroube peut améliorer les propriétés de la farine de blé pour l'optimisation des produits de boulangerie (Miś et *al.*, 2013). Les tests rhéologiques de la farine de blé montrent également que l'absorption d'eau de la pâte peut être augmentée par l'ajout de fibres de caroube (Miś, 2011).

### ➤ Boissons

La gomme de caroube, en tant que polysaccharide naturel comestible, est souvent utilisée comme épaississant et stabilisateur dans les beverages (boisson). Elle a la capacité de former des solutions très visqueuses à des concentrations relativement faibles, qui ne sont pratiquement pas affectées par le pH, les sels ou la température (Alves et *al.*, 1999). La gomme de caroube peut être soluble dans l'eau chaude, et la plupart des boissons doivent être traitées thermiquement, ce qui est très bon pour répondre à l'utilisation de la gomme de caroube, mais aussi, pourrait être largement utilisée dans l'industrie des boissons froides (Zhu et *al.*, 2019).

### ➤ Crèmes Glacées

Lors de la congélation des produits laitiers, l'amélioration de la viscosité et l'inhibition de la recristallisation de la glace sont très importantes (Zhu et *al.*, 2019). La gomme de caroube, en tant qu'additif alimentaire courant, est largement utilisée dans les produits laitiers congelés pour obtenir les propriétés texturales souhaitées (Bahramparvar et *al.*, 2011).

### ➤ Produits à faible teneur en matière grasse

Les consommateurs, les autorités de réglementation et l'industrie alimentaire sont de plus en plus conscients de l'importance cruciale du régime alimentaire pour la santé humaine (Milliron et *al.*, 2012; Chaput et *al.*, 2012). C'est pourquoi les laboratoires de recherche gouvernementaux et industriels ont été activement impliqués dans la formulation d'aliments à teneur réduite en calories, tels que les versions allégées ou sans matières grasses des produits alimentaires traditionnels (Hoefkens et *al.*, 2011). Les hydrocolloïdes alimentaires (tels que l'amidon, les

gommes et les protéines) sont couramment utilisés dans l'industrie alimentaire à faible teneur en matières grasses pour remplacer certaines caractéristiques habituellement obtenues par les gouttelettes de graisse. En outre, l'ajout de gommes polysaccharides aux aliments peut également apporter des avantages nutritionnels souhaitables, tels que ceux associés à la consommation de fibres alimentaires (Chung et *al.*, 2013).

### ***1.8 Aspect économique***

Boublenza, manager général de la SARL Boublenza, spécialisée dans la transformation des graines de caroube en produits dérivés, a indiqué que la poudre de caroube produite localement se veut une alternative à la poudre de cacao à même d'économiser des millions/an en devise à utiliser dans la mise en valeur des terres agricoles pour la plantation de caroubiers, indiqué.

Les importations de l'Algérie de cacao sont passées de 5.000 tonnes en 2015 à 17.000 tonnes en 2019, alors qu'il était possible d'exploiter la poudre de caroube, reconnue mondialement par les experts de la santé et de la nutrition pour ses caractéristiques nutritionnelles, comme matière première dans la production du chocolat.

Boublenza,(2020) a aussi déclaré : "le caroubier constitue une véritable plus-value pour l'économie nationale, s'il est valorisé, sachant que son exploitation économique permet d'économiser de 30 à 35 millions de dollars par an, facture de l'importation de la poudre de cacao, outre la création de postes d'emploi et le renflouement du Trésor public en devises, après le lancement de l'exportation de l'excédent de caroube.

À SARL Boublenza qui a réussi à exporter la poudre de caroube vers 35 pays à travers cinq continents durant la dernière décennie. 118 caroubiers peuvent être plantés par hectare, pouvant produire, après 3 ans, 8 tonnes de poudre de caroube dont la demande mondiale est en hausse d'année en année, étant classée produit naturel "bio" (Boublenza, 2020).

En tant que produit naturel, le caroubier est non seulement bénéfique pour la santé humaine, mais aussi de grande valeur économique.

## II Prébiotiques

C'est sous forme de concept que le mot « prébiotique » a été introduit pour la première fois dans la littérature scientifique, en 1995, dans le titre : Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotic (Roberfroid, 2011).

### II.1 Définition

Les prébiotiques sont des ingrédients alimentaires non digestibles qui affectent de façon bénéfique l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries dans le côlon améliorant ainsi la santé de l'hôte" (Gibson et al., 1995).

Pour qu'un composé soit classé comme prébiotique, il doit remplir trois critères (Gibson et al., 2010) :

- Il est résistant à l'acidité gastrique et à l'hydrolyse par des enzymes de mammifères et à l'absorption gastro-intestinale.
- Il peut être fermenté par le microbiote intestinal.
- Il stimule de manière sélective la croissance et/ou l'activité des bactéries intestinales associées à la santé et au bien-être.

Les prébiotiques les plus communs sont :

- L'oligofructose
- L'inuline
- Les galacto-oligosaccharides
- Le lactulose
- Les oligosaccharides du lait maternel

### II.2 Polysaccharides versus oligosaccharides

Les prébiotiques sont des hydrates de carbone et spécifiquement des oligosaccharides ou des polysaccharides incluant quelques fibres alimentaires (Lamsal et al.; Gibson et al., 2010).

Bien que les oligosaccharides et les polysaccharides appartiennent à la même catégorie de glucides, ils présentent certaines caractéristiques distinctes. La principale différence entre les oligosaccharides et les polysaccharides est leur composition comme il est indiqué dans le **Tableau 3**.

**Tableau 3.** Différence principale - Oligosaccharides vs Polysaccharides. (Sawakinome, 2017)

Oligosaccharides versus polysaccharides	
<b>Les oligosaccharides sont des glucides composés de quelques unités de monosaccharides</b>	Les polysaccharides sont de grosses molécules composées d'un grand nombre de monosaccharides.
<b>composés de 2 à 6 unités (rarement 10) de monosaccharides</b>	composé d'environ 200 monosaccharides
<b>agissent comme des molécules de transport</b>	agissent comme des molécules de structure ou de stockage d'énergie
<b>solubles dans l'eau</b>	insolubles dans l'eau
<b>goût sucré</b>	n'ont pas de goût sucré

Les polysaccharides appartiennent à une classe structurellement diversifiée de macromolécules, des polymères de résidus de monosaccharides joints l'un à l'autre, par des liaisons glycosidiques. Il est à noter qu'en comparaison avec d'autres biopolymères tels que les protéines et les acides nucléiques, les polysaccharides offrent la plus grande capacité de transport d'informations biologiques car ils présentent le plus grand potentiel de variabilité structurelle. Les nucléotides dans les acides nucléiques et les acides aminés dans les protéines peuvent s'interconnecter d'une seule manière alors que les unités monosaccharidiques dans les polysaccharides peuvent s'interconnecter en plusieurs points pour former une grande variété de structures ramifiées ou linéaires. Les polysaccharides jouent des rôles multiples et ont des activités importantes dans le processus de la vie et un immense potentiel dans les industries de la santé, de l'alimentation et des cosmétiques, en raison de leurs effets thérapeutiques et de leur toxicité relativement faible (Boual, 2020).

### ***II.3 Mécanisme d'action des prébiotiques:***

Un prébiotique agit essentiellement via les modifications sélectives de la microflore intestinale indigène. C'est cette microflore sélectivement modifiée qui directement/indirectement est à l'origine des effets des prébiotiques (Roberfroid, 2001) (**Figure2**).



**Figure 2.** Les mécanismes d'action des prébiotiques. (Roberfroid, 2001)

La fermentation des prébiotiques dans le gros intestin devrait entraîner des changements dans l'ensemble de l'écosystème (Schwiertz, 2016), à savoir :

- Amélioration des fonctions intestinales (accumulation de selles, régularité des selles, consistance des selles)
- Stimulation de l'absorption des minéraux et amélioration de la densité osseuse
- Régulation de l'appétit et la stimulation de la sécrétion de peptides de l'intestin
- Amélioration de l'intégrité des barrières intestinales
- Régulation du métabolisme des lipides et du glucose
- Modulation des fonctions immunitaires

#### ***II.4 Effets physiologiques et les mécanismes induits par les prébiotiques***

Les prébiotiques constituent en effet la nourriture des bactéries intestinales, elles n'en ont pas besoin pour vivre, mais ils favorisent la croissance des bactéries et leur permettent d'exercer plus efficacement leurs fonctions bénéfiques sur la santé de l'hôte. (**Tableau 4**)

## Chapitre II : Prébiotiques

**Tableau 4.** Effets positifs des prébiotiques sur la santé (Bornet, et *al.* ; Franck, 2002; AFSSA, 2003)

<b>EVIDENCES SCIENTIFIQUES FORTES</b>	
<b>EFFETS DES PREBIOTIQUES</b>	<b>MECANISMES DES PREBIOTIQUES</b>
Faible valeur calorique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• non digestibilité et fermentation colique complète en lactate, acides gras à chaîne courte (acétate, propionate et butyrate) et gaz (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>)</li> </ul>
Modulation de la flore intestinale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• fermentation sélective par la flore positive endogène au détriment de la flore pathogène</li> </ul>
Amélioration de la motilité intestinale et soulagement de la constipation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• augmentation de la pression osmotique</li> <li>• production de butyrate fournissant de l'énergie aux colonocytes</li> <li>• production de gaz</li> <li>• accroissement de la biomasse bactérienne</li> </ul>
<b>EVIDENCES SCIENTIFIQUES PROMETTEUSES</b>	
Stimulation de l'absorption des minéraux et réduction des risques d'ostéoporose	<ul style="list-style-type: none"> <li>• acidification du milieu améliorant la solubilisation du calcium et du magnésium</li> </ul>
Effet hypolipidémique, effet hypoglycémique et prévention du diabète	<ul style="list-style-type: none"> <li>• production d'acétate et de propionate modulant la lipogénèse hépatique</li> <li>• production de propionate modulant la gluconéogenèse hépatique</li> <li>• libération d'hormones intestinales (incrétines)</li> </ul>
Diminution des diarrhées	<ul style="list-style-type: none"> <li>• fermentation sélective par la flore positive endogène au détriment de la flore pathogène</li> <li>• production d'acides gras à chaîne courte stimulant l'absorption d'eau par le côlon</li> </ul>
Diminution du risque du cancer du colon	<ul style="list-style-type: none"> <li>• modulation du système immunitaire via la flore endogène</li> <li>• production de butyrate régulant la prolifération des cellules altérées</li> <li>• modulation de la flore positive exhibant une faible activité enzymatique carcinogénique</li> </ul>
Prévention des infections intestinales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• fermentation sélective par la flore endogène positive</li> <li>• production d'acides gras à chaîne courte induisant un environnement acide</li> <li>• modulation du système immunitaire via la flore endogène</li> </ul>

### II.5 Sources naturelles de Prébiotiques

Il existe des sources naturelles faciles de prébiotiques à intégrer dans notre alimentation, avant de tourner vers des solutions pharmaceutiques ou industrielles

➤ La pectine des fruits

On en trouve dans les pommes bien sûr, les pêches, les abricots, les raisins, les cerises. Certains consomment même de la pectine en poudre directement, mais les consommer sous la forme de fruits de saison, c'est largement meilleur pour la santé (Bernard, 2018).

➤ FOS (Fructo-Oligo-Saccharides)

On en trouve dans l'ail, l'oignon, le poireau, les artichauts, l'asperge et la banane.

➤ L'inuline

Il va falloir regarder dans les racines des plantes, car l'inuline est une forme de stockage d'énergie dans la plante (Bernard, 2018).

- Chicorée (*Cichorium intybus*) : la racine de chicorée, peut en contenir jusqu'à 60% du poids sec d'inuline.
- Pissenlit (*Taraxacum officinale*) : racine de pissenlit qui peut contenir jusqu'à 40% d'inuline en automne.

Ces deux plantes ont d'autres propriétés thérapeutiques en stimulant l'évacuation des déchets du corps.

➤ Spiruline et algues

Les algues et cyanobactéries (spiruline, chlorelle, nori, etc.) possèdent des bienfaits qui ne sont plus à prouver. Ces aliments ont la capacité de favoriser la présence des lactobacilles et des bifidobactéries dans le système digestif. En effet, en tant que superaliments, elles contiennent des minéraux et des vitamines aux vertus alcalinisantes, idéales pour maintenir l'équilibre digestif. Les algues et la spiruline possèdent des propriétés anti-inflammatoires et détoxifiantes indispensables pour lutter contre la fatigue, l'hypertension, les problèmes vasculaires et le diabète (Force Natura, 2020) .

➤ Chocolat noir

Pour en être une bonne source, il doit toutefois contenir au moins 70 % de cacao. Consommer du chocolat noir permet de restaurer la flore intestinale et la repeupler en bonnes bactéries. Par conséquence, un meilleur équilibre du système digestif (Force Natura, 2020).

### II.6 Prébiotiques commercialisés

Quelques exemples des prébiotiques commercialisés sont illustrés dans le **Tableau 5**.

**Tableau 5.** Composés prébiotiques commercialisés (Grizard et *al.*, 1999 ; Franck, 2002)

<i>Prébiotiques</i>	<i>Nom</i>
<i>Oligofructoses</i>	<i>Raftilose</i>
<i>Fructo-oligosaccharides</i>	<i>Actilight</i>
<i>Galactooligosaccharides</i>	<i>Oligomate</i>
<i>Lactulose</i>	<i>MLS-50</i>
<i>oligosaccharides de soja</i>	<i>Soya-Oligo</i>
<i>Isomaltooligosaccharides</i>	<i>IMO 900</i>
<i>Glucooligosaccharides</i>	<i>Bioecolia</i>
<i>Mannooligosaccharides</i>	<i>Bio-MOS</i>
<i>Xylooligosaccharides</i>	<i>Xylo-oligo</i>

### **II.7 Aspect réglementaire**

Les prébiotiques sont classés au niveau européen en tant qu'ingrédient alimentaire ou additif alimentaire (Frank, 2002).

Prudente, la réglementation européenne ne permet pas de mentionner les prébiotiques sur les emballages. Même si certains ont fait leurs preuves, l'autorité européenne ne souhaite pas que leurs effets soient extrapolés à tous les prébiotiques et pour tous les consommateurs. Il faut donc repérer, parmi les ingrédients, leurs dénominations biochimiques.

### **II.8 Prébiotiques versus fibres alimentaire**

À ce jour, tous les prébiotiques connus sont des carbohydrates qui peuvent également être classés comme fibres alimentaires. Alors, les fibres sont-elles toutes prébiotiques ?

En effet, les composés alimentaires qui exercent un effet fibre ou un effet prébiotique doivent, l'un comme l'autre, être résistants à la digestion et à la résorption dans la partie haute du tractus digestif pour pouvoir arriver largement intacts dans le côlon où ils exercent leurs effets. Mais là s'arrête la comparaison des deux concepts.

Par ailleurs, contrairement au concept de « fibre » qui implique de nourrir la majorité des composants de la microflore de façon à garantir sa croissance et son activité dans sa globalité sans que cela entraîne de modification significative de sa composition, le concept de prébiotique implique comme condition, que ce nourrissage soit sélectif pour un ou un nombre limité de groupes et de genres, avec comme conséquence un changement significatif de composition en faveur de plus de normobiose. Ces deux concepts recouvrent donc des réalités différentes même

si elles sont complémentaires. La réponse à la question est donc, sans aucune ambiguïté ; *non*, toutes les fibres ne sont pas des prébiotiques (Roberfroid, 2011).

## III Microbiote

À l'état naturel, et ce, depuis notre naissance, le tube digestif est colonisé par des centaines de milliards de bonnes bactéries, ainsi que par des levures bénéfiques appartenant à la grande famille des ferments lactiques. Ces micro-organismes vivants, forment ce que l'on nomme le microbiote ou encore la flore. Son étude s'est beaucoup développée ces dernières années et son développement a bénéficié de nombreux progrès technologiques (Inserm, 2016)

### III.1 Définition

Le microbiote est l'ensemble des micro-organismes vivant en symbiose avec notre corps.

Le microbiote se trouve principalement sur la peau, dans la bouche, le long de l'intestin et dans le vagin. Celui de l'intestin fournit de nombreux bénéfices à son hôte aussi bien au niveau immunitaire que métabolique. Une altération de la diversité des espèces (la dysbiose), en revanche, est associée avec diverses pathologies comme l'obésité, des maladies métaboliques ou des pathologies mentales (El Kaoutari et *al.*, 2014).

Il existe de nombreux facteurs pouvant influencer sa composition (style de vie, prise de médicaments, alimentation, ...), parmi eux, l'alimentation semble être un facteur majeur d'influence sur la composition du microbiote intestinal.

Les aliments d'origine végétale (fruits, légumes, légumineuses, oléagineux, céréales complètes) sont souvent mis en avant dans les campagnes de prévention de santé (Hayer, 2016) (SSN, 2015). Ils contiennent des fibres alimentaires, des vitamines, des minéraux et des substances végétales secondaires qui semblent être bénéfiques pour l'hôte mais aussi pour la croissance du microbiote intestinal.

### III.2 Rôles du microbiote

Le microbiote intestinal vit en symbiose avec le corps humain. Il se développe à partir de substrats apportés par l'alimentation (glucides non digérés, lipides, protéines), mais aussi de substrats sécrétés par les cellules intestinales de l'hôte comme les mucines (El Kaoutari et *al.*, 2014), en retour, il offre un soutien bénéfique à la survie de l'hôte de diverses manières.

#### III.2.1 Fonctions immunitaires

Tout d'abord, il joue un rôle immunitaire sur l'organisme. Le microbiote se comporte comme une barrière physique en proliférant sur la surface des cellules intestinales empêchant alors les bactéries pathogènes de s'infiltrer dans l'organisme. De plus, il sécrète et stimule la sécrétion de substances antimicrobiennes par les cellules intestinales (entérocytes). Enfin, il participe au développement et à la maturation du système immunitaire (Landman et Quévrain., 2016).

### III.2.2 Fonctions métaboliques

Le microbiote a aussi des fonctions métaboliques : les bactéries utilisent les macronutriments non digérés issus de l'alimentation (notamment les fibres alimentaires) ou d'autres substrats présents dans l'intestin pour produire différents métabolites, qui vont agir sur le microbiote lui-même ou sur l'hôte (Sittipo et *al.*, 2019).

#### 1) Synthèse d'acides gras à chaînes courtes à partir des fibres alimentaires

De nombreux métabolites microbiens sont formés à partir de substrats d'origine alimentaire. Par exemple : les acides gras à chaînes courtes (AGCC) tels que :

- L'acétate qui est utilisé pour la synthèse de cholestérol endogène et pour la lipogenèse,
- Le propionate quant à lui, peut être transformé en propionyl-CoA, précurseur de la néoglucogenèse.
- le butyrate joue un rôle dans la régulation des gènes ainsi que dans l'immunorégulation.

#### 2) Synthèse de vitamines

Le microbiote intestinal peut utiliser des métabolites issus de l'alimentation pour produire certaines vitamines telles que les vitamines K, B8 et B12. Celles-ci jouent des rôles divers pour l'hôte :

- **La vitamine K** : est essentielle à la coagulation sanguine et joue un rôle dans la constitution osseuse (SSN, 2015).  
Dans l'intestin, ce sont principalement les *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides thetaiotaomicron* et *Streptococcus thermophilus* qui la produisent (Sittipo, et al., 2019).
- **La vitamine B8** : entre en jeu dans le métabolisme énergétique et est importante pour la santé dermatologique (peau, ongles et cheveux) (SSN, 2015).
- **La vitamine B12** : enfin, est importante pour l'érythrocythèse, la croissance et la régénération cellulaire, les cellules nerveuses ainsi que pour l'activation de la vitamine B9 (SSN, 2015).

### III.2.3 Fonction neurologique (axe intestin-cerveau)

Le microbiote intestinal aurait une influence non négligeable sur le développement et la fonction du système nerveux central (Mayer et *al.*, 2014; Rabot, 2015).

D'après Rabot, le microbiote peut agir de manière directe ou indirecte sur le cerveau. Les bactéries vont sécréter différents métabolites (comme les AGCC) ou des macromolécules (ex: les lipopolysaccharides, les peptidoglycanes) qui seront utilisés de différentes manières: certains métabolites rejoignent directement le cerveau par la circulation sanguine, tandis que d'autres l'influencent en stimulant la production de neuropeptides par les cellules entéro-endocrines, de cytokines par les cellules immunitaires intestinales ou stimulent des neurones du système nerveux entérique. Ces métabolites agissent notamment sur la réponse au stress et à l'anxiété en la modulant.

### ***III.3 Facteurs influençant le microbiote intestinal***

Au cours de la vie, le microbiote intestinal est en permanence influencé par des facteurs biologiques et environnementaux (Turroni et *al.*, 2016).

#### ➤ Naissance

Tout d'abord, le microbiote intestinal est influencé dès la naissance. La première colonisation bactérienne du nouveau-né se fait par le biais de l'accouchement lorsqu'il entre en contact avec des bactéries vaginales, fécales et cutanées de la mère. Dans le cas d'une césarienne, le nourrisson n'est pas exposé à ces bactéries (El Kaoutari et *al.*, 2014).

#### ➤ Alimentation chez le nourrisson

Un enfant allaité aura une colonisation intestinale de bifidobactéries plus importante qu'un enfant allaité artificiellement (Campeotto et *al.*, 2007), bien qu'à l'âge de 2-3 ans le microbiote devient mature, il continue d'être influencé par les habitudes alimentaires.

#### ➤ Habitudes alimentaires au cours de la vie

Diverses études ont démontré un lien entre la consommation de certains groupes d'aliments et une modification de la population microbienne (Simpson, et al., 2015; Torres, et al., 2017).

Le régime alimentaire modifie rapidement la composition du microbiote intestinal, souvent en fonction de la durée du régime et de sa composition en macronutriments (Carlson, et al., 2018). De plus, l'alimentation spécifique d'une zone géographique influencerait également la composition du microbiote intestinal. Une étude comparative du microbiote intestinal d'enfants de 2 zones géographiques distinctes (Europe occidentale et Afrique centrale) a montré des différences significatives dans les populations microbiennes en fonction du régime alimentaire (De Filippo et *al.*, 2010).

### ➤ Traitements médicamenteux

Les traitements antibiotiques peuvent perturber de manière importante le microbiote intestinal. Si un traitement aux antibiotiques est utilisé de manière occasionnelle, le microbiote se reconstitue à l'identique après l'arrêt du traitement (entre quelques jours à quelques semaines). En revanche, s'ils sont pris de manière régulière et chronique, le microbiote peut se modifier de manière irréversible (perte de diversification par exemple) ce qui peut être délétère pour la santé.

Il est à noter que d'autres types de traitements médicamenteux peuvent aussi influencer le microbiote (Inserm, 2016; Inra, 2017).

### ➤ Âge

Le microbiote intestinal varie au cours de la vie en fonction de facteurs environnementaux et biologiques. Le processus de vieillissement impacte toutes les fonctions physiologiques de l'organisme. Le système immunitaire est moins performant, le comportement alimentaire se modifie et des pathologies peuvent apparaître plus régulièrement (Cherbuy et al., 2013).

Il a été observé qu'avec l'âge, le microbiote intestinal s'appauvrit et que le nombre de bactéries pathogènes augmente (Ottman et al., 2012). Toutefois, il est difficile d'obtenir des tendances sur les modifications bactériennes puisque les résultats sont très variables d'une étude à l'autre. D'après Claesson et al., il a été montré que chez les personnes âgées, il y avait une quantité plus importante de *Bacteroidetes spp* ainsi que des différences dans les groupes de *Clostridium* (Claesson et al., 2011).

### ➤ Etat psychologique

L'état psychologique impacte le microbiote intestinal. En effet, le stress psychologique aurait un impact sur la diversité microbienne. Il réduirait le nombre de *Lactobacillis* et favoriserait l'implantation de bactéries pathogènes comme *Escherichia coli* et *Pseudomonas*. Un équilibre psychologique serait donc bénéfique pour la santé intestinale (Phillips, 2009).

### ➤ Hormones

Les hormones sexuelles, les testostérones et les oestrogènes, auraient un impact sur la composition du microbiote intestinal. Il a été observé qu'à partir de la puberté, le microbiote intestinal des hommes et des femmes commençait à se différencier pour devenir spécifique au genre (Kundu et al., 2017; Markle et al., 2013).

Lors de la ménopause, la composition du microbiote intestinal se modifie aussi (Vieira et al., 2017).

Nous avons assisté à une vaste expansion de nos connaissances sur la communauté microbienne résidant dans les intestins ces dernières années. Toutefois, ce champ de recherche est encore vaste.

## IV Bifidobactéries probiotiques par excellence

Parmi les bactéries probiotiques peuplant le milieu intestinal, *Bifidobacterium* est un genre de ferments lactiques, qui sont largement utilisées comme additifs alimentaires /complément dans l'industrie alimentaire, notamment dans le lait et les yaourts.

### IV.1 Probiotiques

Les probiotiques sont définis comme des micro-organismes vivants qui confèrent un avantage pour la santé de l'hôte lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates (FAO/OMS, 2002).

Le terme "probiotique" fut proposé par Fuller, bien après les premiers essais cliniques. Des probiotiques peuvent se définir comme suppléments alimentaires contenant des bactéries, qui peuvent être bénéfiques pour l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore colique. Cette définition inclut Les fermentés traditionnel notamment les yaourts, associant en général deux souches de bactéries lactobacilles et streptocoque. Les probiotiques sont souvent des bactéries lactiques (lactobacilles, *Bifidobactérium*) (Fuller, 1991).

#### IV.1.1 Histoire des probiotiques

L'histoire des probiotiques trouve son origine dans l'apparition du lait fermenté il y a plus de 10.000 ans. Au début du 20<sup>e</sup> siècle, le chercheur russe Elie Metchnikoff (prix Nobel de médecine en 1908) cherchait le secret de la longévité des Bulgares. Il est arrivé à la conclusion qu'elle était liée à la consommation de yaourt contenant des bactéries lactiques bénéfiques à la santé gastro-intestinale.

Metchnikoff avait proposé l'ingestion de bactéries vivantes, particulièrement des BL, pour réduire les désordres intestinaux et améliorer l'hygiène digestive, et donc augmenter l'espérance de vie (Gournier-château et *al.*, 1994).

#### IV.1.2 Propriétés et Critères de sélection des souches probiotiques

Afin qu'un microorganisme puisse être reconnu en tant que potentiel probiotique, il lui faut répondre à certains critères. Le **Tableau 6** rapporte les critères les plus utilisés pour la sélection des probiotiques.

**Tableau 6.** Critères de sélection des probiotiques. (Rakhis et *al.*, 2016)

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

<i>critères</i>	<i>But cherché</i>
<i>Résistance à l'acidité gastrique</i>	Survie pendant le passage par l'estomac et duodénum
<i>Résistance aux sels biliaires</i>	Survie pendant le passage par l'intestin grêle
<i>Production d'acide (à partir de glucose et lactose)</i>	Production (de barrière acide) efficace dans l'intestin
<i>Adhésion au mucus et /ou aux cellules épithéliales humaines</i>	Colonisation efficace, réduction des sites d'adhésion des pathogènes à la surface
<i>Production de substance antimicrobienne</i>	Inhibition du développement des germes pathogènes
<i>Résistance à la chaleur</i>	Survie pendant le processus de transformation
<i>Bonnes propriétés technologiques</i>	Stabilité, croissance sur une large échelle, survie dans le produit, résistance aux bactériophages

### IV.1.3 Mécanismes d'action des probiotiques

Les mécanismes d'action des probiotiques sont complexes : ils vont de la concurrence entre bactéries pour les points de fixation à la paroi intestinale, jusqu'à la modulation du système immunitaire (Ng et *al.*, 2009) :

#### ➤ Concurrence pour les nutriments

Le microbiote de l'intestin ne dispose que d'une quantité limitée de nutriments exploitables. Si l'on absorbe des probiotiques, ceux-ci entrent en concurrence avec les autres micro-organismes de l'intestin pour la nourriture. La quantité de nutriments accessibles aux agents pathogènes s'en trouve réduite (Ng et *al.*, 2009).

À cet égard, le fer est une substance intéressante. Dans des conditions normales, le fer de l'organisme est éliminé par la transferrine et la lactoferrine. Cela limite la prolifération des bactéries, car elles ont toutes besoin de fer. Toutes sauf les lactobacilles, d'où l'intérêt de ces micro-organismes en tant que probiotiques.

### ➤ Fermentation de composants alimentaires non digérés et production de métabolites

La fermentation saccharolytique des fibres difficiles ou impossibles à digérer produit des acides gras à chaîne courte comme le butyrate. Le butyrate est une importante source d'énergie pour les cellules épithéliales du gros intestin. Les bonnes bactéries fabriquent aussi de la vitamine K dans le gros intestin.

### ➤ Production de liaisons antibactériennes et de mucine

Durant la fermentation, les probiotiques produisent de l'acide lactique, qui abaisse localement le pH à l'intérieur de l'intestin, alors la colonisation par les agents pathogènes en est freinée.

Les probiotiques pourraient également limiter la croissance des pathogènes en exercent une action antimicrobienne indirecte. Cette dernière se réalise grâce à la production de différents composés antimicrobiens à savoir : les bactériocines, les acides organiques et le peroxyde d'hydrogène (Rakhis et *al.*, 2016).

Les probiotiques stimulent la production et la sécrétion de mucine, un composant du mucus intestinal. Un bon mucus peut entraver la fixation des agents pathogènes aux cellules épithéliales.

### ➤ Compétition pour les fixations

L'administration de probiotiques empêche les agents pathogènes de se fixer facilement et de provoquer des infections. Ce mécanisme est aussi appelé exclusion compétitive ou résistance à la colonisation.

### ➤ Renforcement des jonctions serrées

Les bactéries commensales et les probiotiques peuvent renforcer la fonction de barrière des jonctions serrées. Certaines bactéries sont en mesure de prévenir, voire d'annuler les effets négatifs des agents pathogènes sur ces barrières (Ulluwishewa et *al.*, 2011).

### ➤ Régulation du système immunitaire

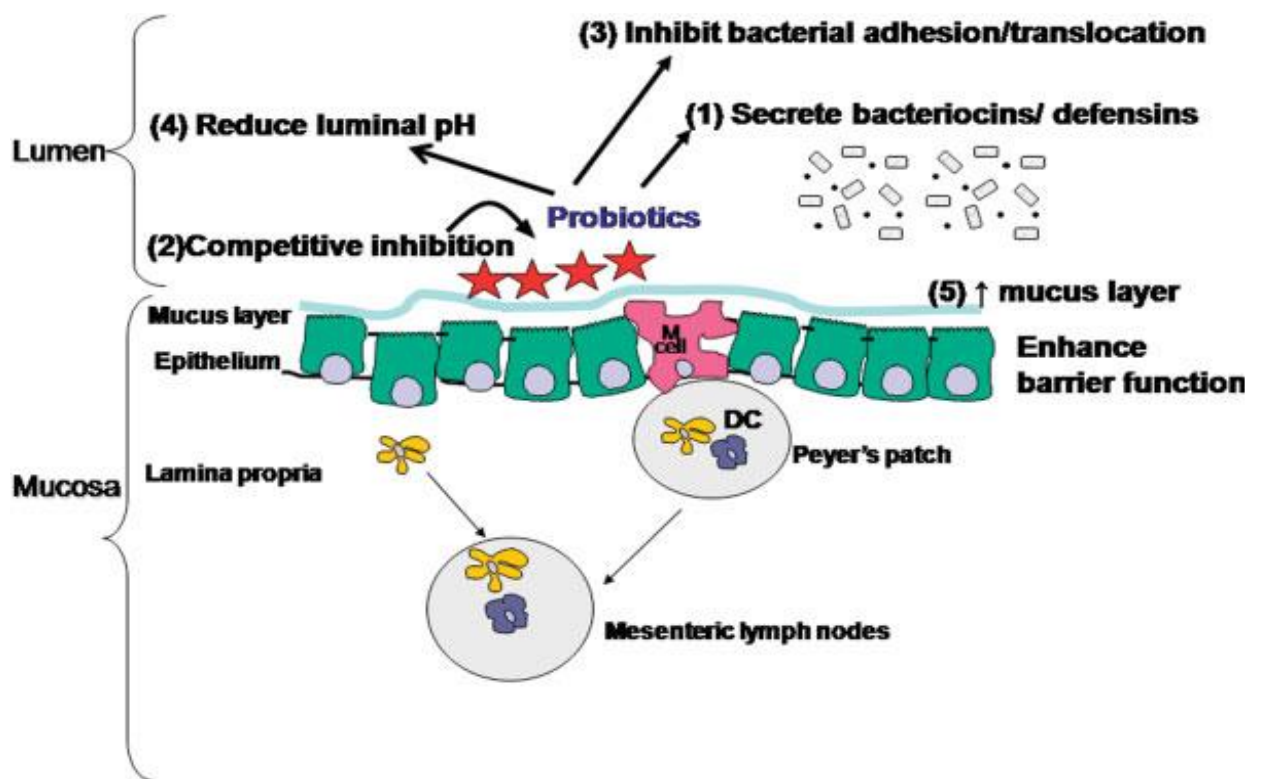
Certains probiotiques favorisent la différenciation des cellules B en cellules de plasma, qui produisent des IgA sécrétoires (sIgA) (Baarlen et *al.*, 2009).

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

Les probiotiques peuvent aussi éviter l'activation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B (Ulluwishewa *et al.*, 2011), ayant pour effet de limiter la production d'interleukine-8 (IL-8).

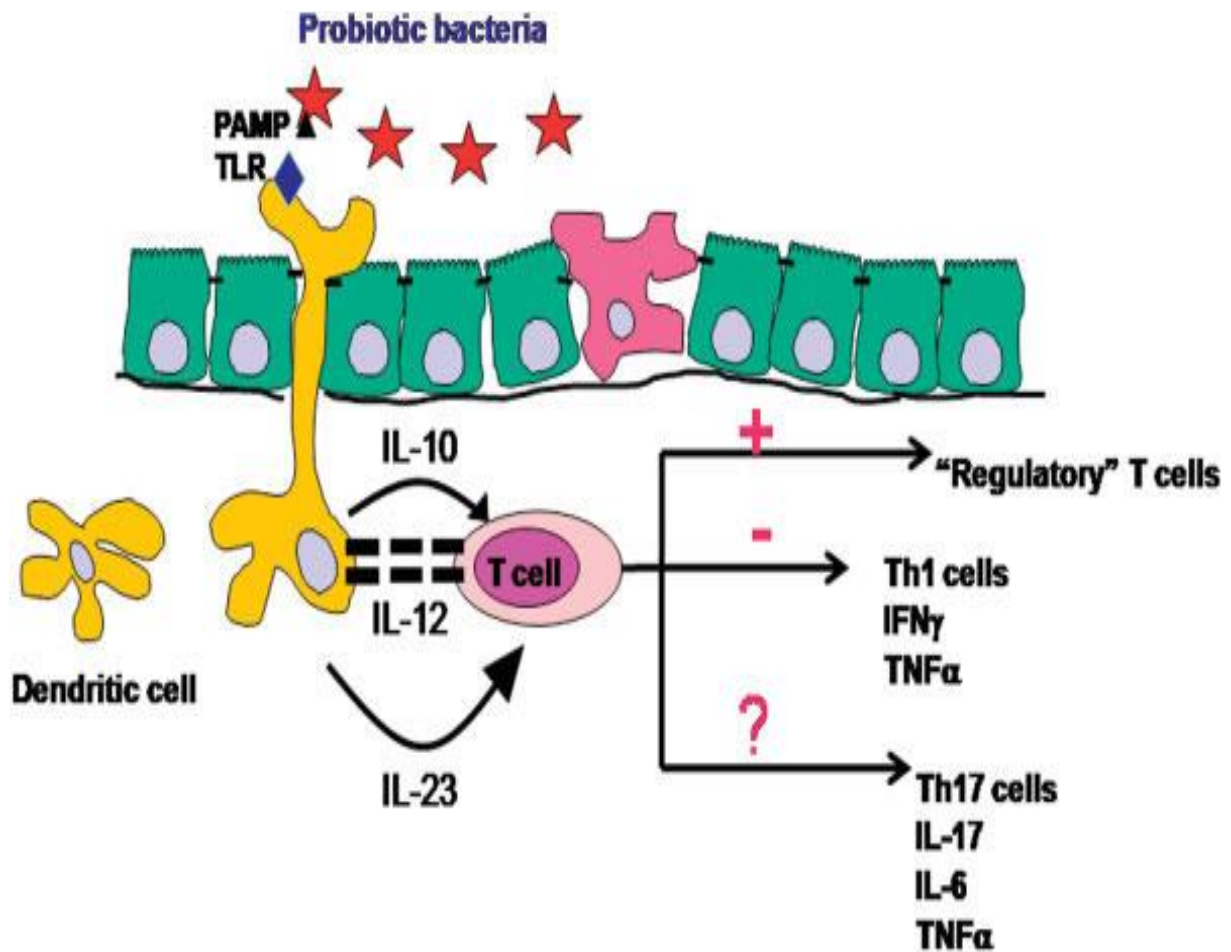
Ils exercent leurs effets sur de nombreux types cellulaires impliqués dans les réponses immunitaires innées et adaptatives, tels que les cellules épithéliales, les cellules dendritiques, les monocytes/macrophages, les lymphocytes B, les lymphocytes T, y compris les lymphocytes T ayant des propriétés régulatrices, et les cellules NK.

La **Figure 3 et 4** fournit des illustrations simplifiées des principaux mécanismes d'action des probiotiques (Ng *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2007; Neurath, 2007).



**Figure 3.** Inhibition des bactéries entériques et amélioration de la fonction barrière par les bactéries probiotiques (Ng *et al.*, 2009)

Représentation schématique de la diaphonie entre les bactéries probiotiques et la muqueuse intestinale. Les activités antimicrobiennes des probiotiques comprennent (1) la production de bactériocines/défensines, (2) l'inhibition compétitive avec les bactéries pathogènes, (3) l'inhibition de l'adhérence ou de la translocation bactérienne, et (4) la réduction du pH luminal. Les bactéries probiotiques peuvent également améliorer la fonction de barrière intestinale (5) augmentant la production de mucus.



**Figure 4.** Modulation de la réponse immunitaire des muqueuses par des bactéries probiotiques (Ng et *al.*, 2009)

Les motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP) dérivés des bactéries probiotiques sont reconnus par des récepteurs de reconnaissance des motifs, tels que les récepteurs TLR (Toll-like receptors) situés sur les CD de l'épithélium ou de la lamina propria. Les bactéries probiotiques peuvent orienter le système immunitaire de la muqueuse vers un modèle non inflammatoire et tolérogène par l'induction de cellules T ayant des propriétés régulatrices. Les probiotiques peuvent également réguler à la baisse la réponse Th1 et inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires, IL-12, TNF- $\alpha$ , et IFN- $\gamma$  par les DC. Le profil prédominant des cytokines dépend de la nature du stimulus et des types de bactéries probiotiques. L'axe inflammatoire médié par IL-23/IL-17 a récemment été impliqué dans la pathogenèse des MICI, mais il reste des lacunes dans nos connaissances sur la façon dont les

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

probiotiques influencent la différenciation des cellules Th17. Ce diagramme est une synthèse simplifiée des données obtenues in vitro et in vivo.

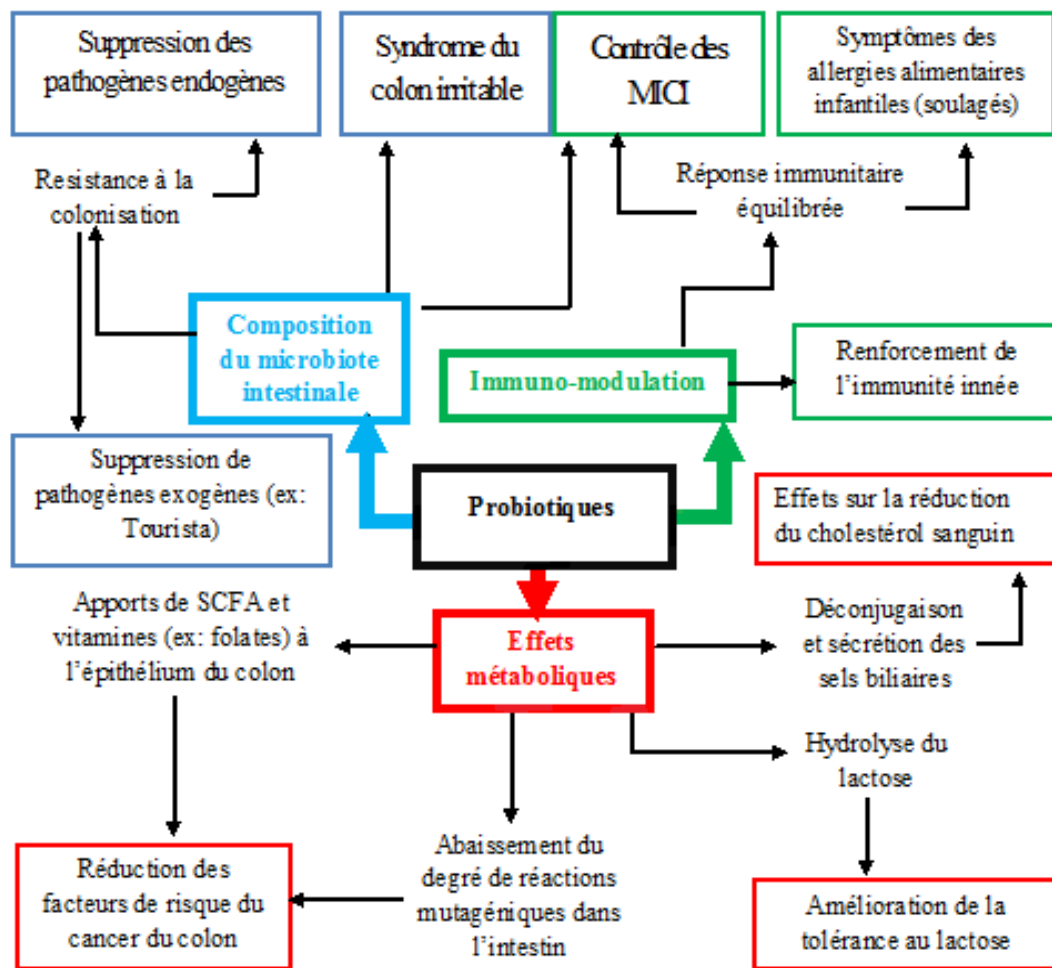
### IV.1.4 Effets positifs des probiotiques sur la santé

Plusieurs effets bénéfiques sur la santé associés à la consommation des probiotiques

Ont été documentés et rapportés dans la littérature, voir (**Tableau 7**) et (**Figure5**).

**Tableau 7.** Effets positifs des probiotiques sur la santé (Sanders et al., 1999; Playne et al., 2002; Gueimonde et al., 2003)

<i><b>EVIDENCES SCIENTIFIQUES FORTES</b></i>	
<i><b>EFFETS DES PROBIOTIQUES</b></i>	<i><b>MECANISMES DES PROBIOTIQUES</b></i>
<i>Aide à la digestion du lactose</i>	action de la $\beta$ -galactosidase bactérienne
<i>Réduction du risque des diarrhées</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• activité antipathogène</li> <li>• stimulation du système immunitaire</li> </ul>
<i>Diminution des allergies alimentaires</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• amélioration de la fonction barrière de la muqueuse</li> <li>• stimulation du système immunitaire</li> <li>• dégradation des protéines allergènes</li> </ul>
<i><b>EVIDENCES SCIENTIFIQUES PROMETTEUSES</b></i>	
<i>Activité hypocholestérolémiante</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• assimilation du cholestérol</li> <li>• déconjugaison des sels biliaires</li> </ul>
<i>prévention du cancer du côlon</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dégradation de carcinogènes</li> <li>• production de composés antimutagéniques</li> <li>• modulation des enzymes fécales carcinogéniques</li> <li>• stimulation du système immunitaire</li> </ul>
<i>Résistance contre les maladies inflammatoires et irritables des intestins</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• activité antipathogène</li> <li>• stimulation du système immunitaire</li> </ul>
<i>Diminution des infections à Helicobacter pylori</i>	activité antipathogène
<i>Effet antihypertenseur</i>	action des peptidases sur les protéines du lait donnant des peptides bioactifs



**Figure 5** Présentation des effets bénéfiques des probiotiques sur la santé (Saarela et *al.*, 2000)

### IV.1.5 Sources naturelles de Probiotiques

Avant de tourner vers des solutions pharmaceutiques et/ou industrielles de probiotiques, il existe des sources naturelles faciles à intégrer dans notre alimentation.

➤ Fromages au lait cru

Les fromages non pasteurisés sont de bonnes sources naturelles de probiotiques. Gruyère, gouda, cheddar, fromages locaux... Ils doivent être mûris et vieillis pour favoriser la production de probiotiques naturels (Force Natura, 2020).

➤ Cornichons fermentés

Les cornichons fermentés renferment de nombreux bienfaits. Ils permettent notamment de restaurer la flore intestinale, puisqu'ils sont des probiotiques naturels. Dans la même mesure, ils renforcent le système immunitaire (à travers la santé de la flore intestinale) et améliorent

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

---

aussi la santé cardiaque. Et ce n'est pas tout ! On sait aujourd'hui que les cornichons fermentés participent à la prévention du cancer, et en particulier du cancer du sein (Force Natura, 2020).

### ➤ Olives

Les olives sont des probiotiques naturels ! Elles contiennent des bactéries intéressantes, il s'agit du lactobacillus plantarum et du lactobacillus. Grâce à ces bonnes bactéries, les olives nous permettent de lutter contre les ballonnements et les troubles gastro-intestinaux. Il est même recommandé aux personnes atteintes du syndrome du côlon irritable d'en manger (Force Natura, 2020).

### ➤ Vinaigre de cidre

Le vinaigre de cidre de pomme est un vinaigre réputé pour ses bienfaits dans le monde entier. Mais saviez-vous qu'il était aussi l'une des meilleures sources naturelles de probiotiques ? On l'utilise comme désinfectant, en cosmétique ou en cuisine. Mais on peut aussi l'utiliser pour restaurer la flore intestinale, en version brute, non pasteurisée et non filtrée, bien sûr. Le vinaigre est alors riche en probiotiques, et possède des propriétés anti-inflammatoires et favorise une peau saine (Force Natura, 2020).

### ➤ Yaourts fermentés

Dans les meilleures sources naturelles de probiotiques se trouvent les yaourts, tout simplement ! Facile à trouver ou à faire soi-même, le yaourt contient des probiotiques bénéfiques pour le transit et le confort digestif. Le yaourt fermenté est la meilleure solution à utiliser ici. En effet, les yaourts classiques du commerce contiennent de nombreux ingrédients ajoutés dont il faut mieux se passer (sucre, arômes artificiels, colorants, etc.). Et ils sont surtout pasteurisés !

### ➤ Autres produits dans d'autres pays

Les grains de kéfir fermentés (particulièrement populaire en Asie)

Le kombucha (populaire en Asie)

La choucroute (ce plat traditionnel français)

Le miso (cuisine japonaise)

Le kimchi (un aliment asiatique en Corée)

Le tempeh (un aliment qui nous vient tout droit d'Indonésie)

Le lassi (originaire d'Inde)

### IV.1.6 Aspect règlementaire

L'Autorité européenne de sécurité des aliments n'a pourtant, approuvé aucune allégation santé liée aux aliments ou compléments alimentaires contenant des probiotiques, en 2012; elle a uniquement reconnu le bénéfice de la consommation de certains yaourts pour les patients souffrant d'intolérance au lactose. Par conséquent, il est interdit de mentionner auprès du consommateur des allégations santé concernant les probiotiques. Le mot même de "probiotique" ne peut être utilisé, sa définition comportant la notion d'effets bénéfiques pour la santé" (Pot et *al.*, 2015).

Étant donné leur intérêt économique potentiel, les probiotiques méritent un meilleur statut juridique, capable, d'un côté, d'éliminer du marché les produits de qualité insuffisante, mais, d'un autre, de permettre aux probiotiques dont les effets sont bien étayés de bénéficier d'une allégation santé.

### IV.2 Bifidobactéries

Les bifidobactéries sont majoritairement utilisées comme probiotiques surtout par l'industrie agroalimentaire en raison de leurs nombreux bienfaits sur la santé.

#### IV.2.1 Histoire des bifidobactéries

La découverte des bifidobactéries est attribuée au pédiatre français Henry Tissier, qui, en 1899, a isolé une bactérie dans le tractus gastro-intestinal de nourrissons allaités au sein, en forme de Y ou ramifiée et l'a nommée *Bacillus bifidus* (Tissier, 1900).

#### IV.2.2 Taxonomie des bifidobactéries

Les bifidobactéries sont des bactéries à Gram positif, anaérobies, non mobiles, non sporulées, en forme de bâtonnets, avec des ramifications variées (Goodfellow et *al.*, 2012).

Leur **température optimale** de croissance est de 37-41°C, sauf pour *Bifidobacterium mongoliense*, dont la température de croissance optimale est de 30°C ; leur **température minimale** de croissance est 25-28°C, à l'exception de *Bifidobacterium mongoliense* et de *Bifidobacterium psychraerophilum*, qui peuvent se développer à 15°C et 8°C, respectivement; leur **température maximale** de croissance est de 43-45°C, à l'exception de *Bifidobacterium thermacidophilum* qui présente une température de croissance maximale est de 49,5°C (Goodfellow et *al.*, 2012).

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

---

Leur **pH optimum** pour la croissance initiale est de 6,5-7,0 ; ne se développe pas à un pH 4,5-5,0 (à l'exception de *Bifidobacterium thermacidophilum*, qui peut se développer à pH 4,5) ou à pH 8,0-8,5 (Goodfellow et *al.*, 2012).

### IV.2.3 Evidences scientifiques

Les bifidobactéries sont connues pour coloniser le vagin, la cavité buccale et plus abondamment, le tractus gastro-intestinal (TGI) de l'être humain (Biavati et *al.*, 2006).

Chez les nouveau-nés, les bifidobactéries jouent un rôle important en tant qu'un des principaux colonisateurs du tube digestif, représentant 60 à 91 % des bactéries fécales chez les nourrissons allaités (Harmsen et *al.*, 2006; Turrone et *al.*, 2012). Elles utilisent essentiellement un complexe d'hydrate de carbone présent dans le lait maternel pour se développer, les HMOs (Human Milk Oligosaccharides). Les HMOs sont les troisièmes plus grands composants solides du lait maternel, ils ne sont pas digérés et arrivent intact dans le gros intestin, c'est là qu'ils sont hydrolysés par le microbiote intestinal (Tannock, 2016).

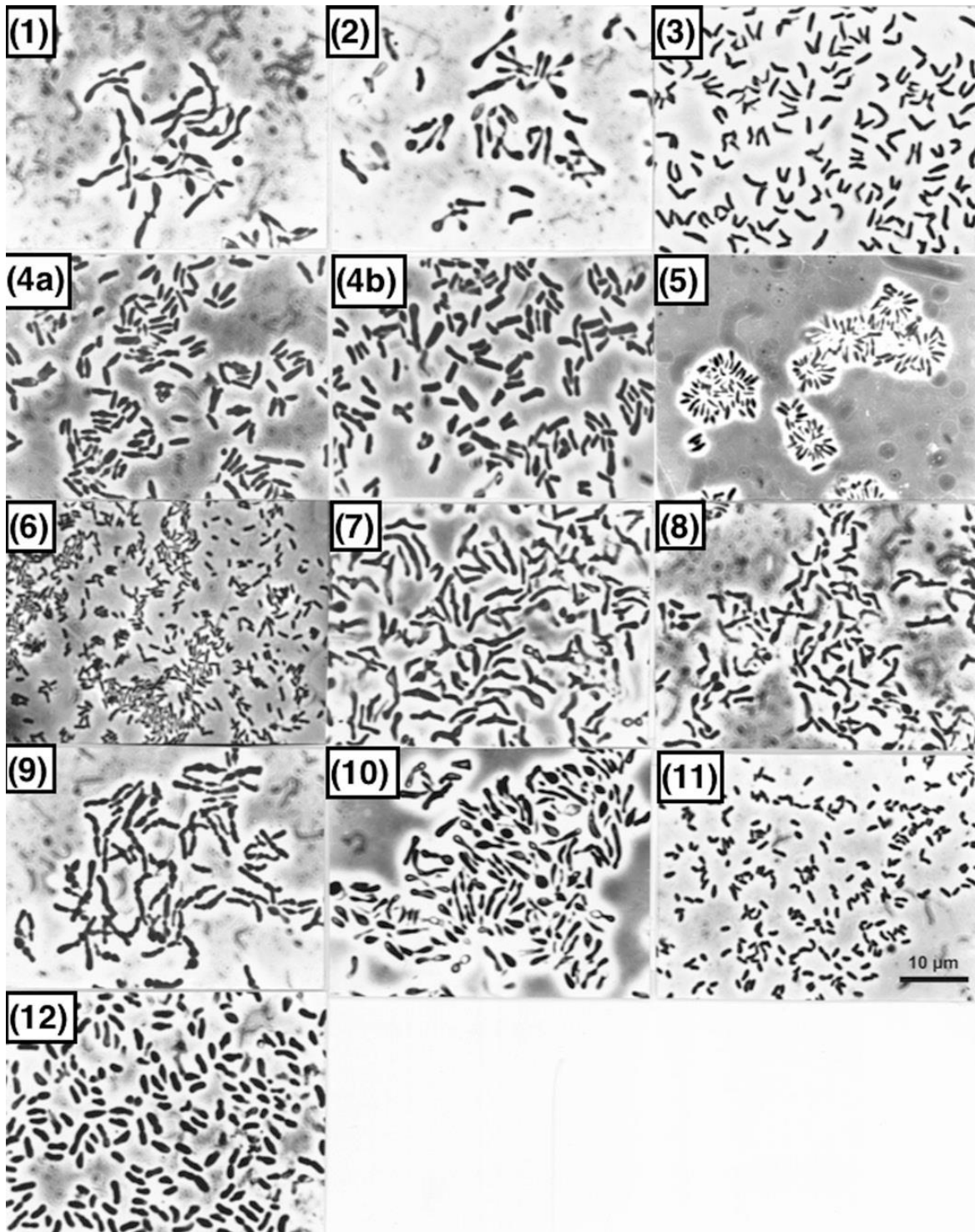
Le potentiel de *Bifidobacterium* en tant que probiotiques a été reconnu dès le début ; leur profusion relative dans l'intestin des nourrissons allaités au sein pour expliquer les taux plus faibles de diarrhée chez ces nourrissons par rapport à ceux nourris au biberon (Quigley, 2017).

Les *Bifidobacteriaceae* ont été largement étudiées en tant que probiotiques (Sugahara et *al.*, 2015; Zinedine et *al.*, 2007; Heuvelin et *al.*, 2010). Cependant, l'effet probiotique des bifidobactéries dépend de leur taux de survie non seulement dans les aliments mais également dans le tractus gastro-intestinal (Shah, 2000).

### IV.2.4 Morphologie des cellules.

Les découvertes récentes d'espèces nouvelles de *Bifidobacterium* provenant de sources diverses, ont permis d'obtenir une image plus claire de la morphologie des membres du genre.

Une comparaison de la morphologie cellulaire d'un grand nombre de souches cultivées en anaérobiose (système Merck) dans des stabs de milieu trypticase-phytone- extrait de levure (TPY) a montré que certaines espèces avaient des formes ou des arrangements cellulaires distincts, qui pourraient aider à leur identification (Goodfellow et *al.*, 2012). Ces caractéristiques sont illustrées dans la **Figure 6**.



**Figure 6.** Morphologie dans le genre *Bifidobacterium* ( partie 1).

Les cellules des souches types ont été cultivées dans des stabs en milieu TPY.

Photomicrographies en contraste de phase (grossissement 1500×) (Goodfellow *et al.*, 2012).

1, *B. bifidum* ; 2, *B. adolescentis* ; 3, *B. angulatum*; 4a, *B. animalis* subsp. *animalis*; 4b, *B. animalis* subsp. *lactis*; 5, *B. asteroides*; 6, *B. bombi*; 7, *B. boum*; 8, *B. breve*; 9, *B. catenulatum*; 10, *B. choerinum*; 11, *B. coryneforme*; 12; *B. cuniculi*.

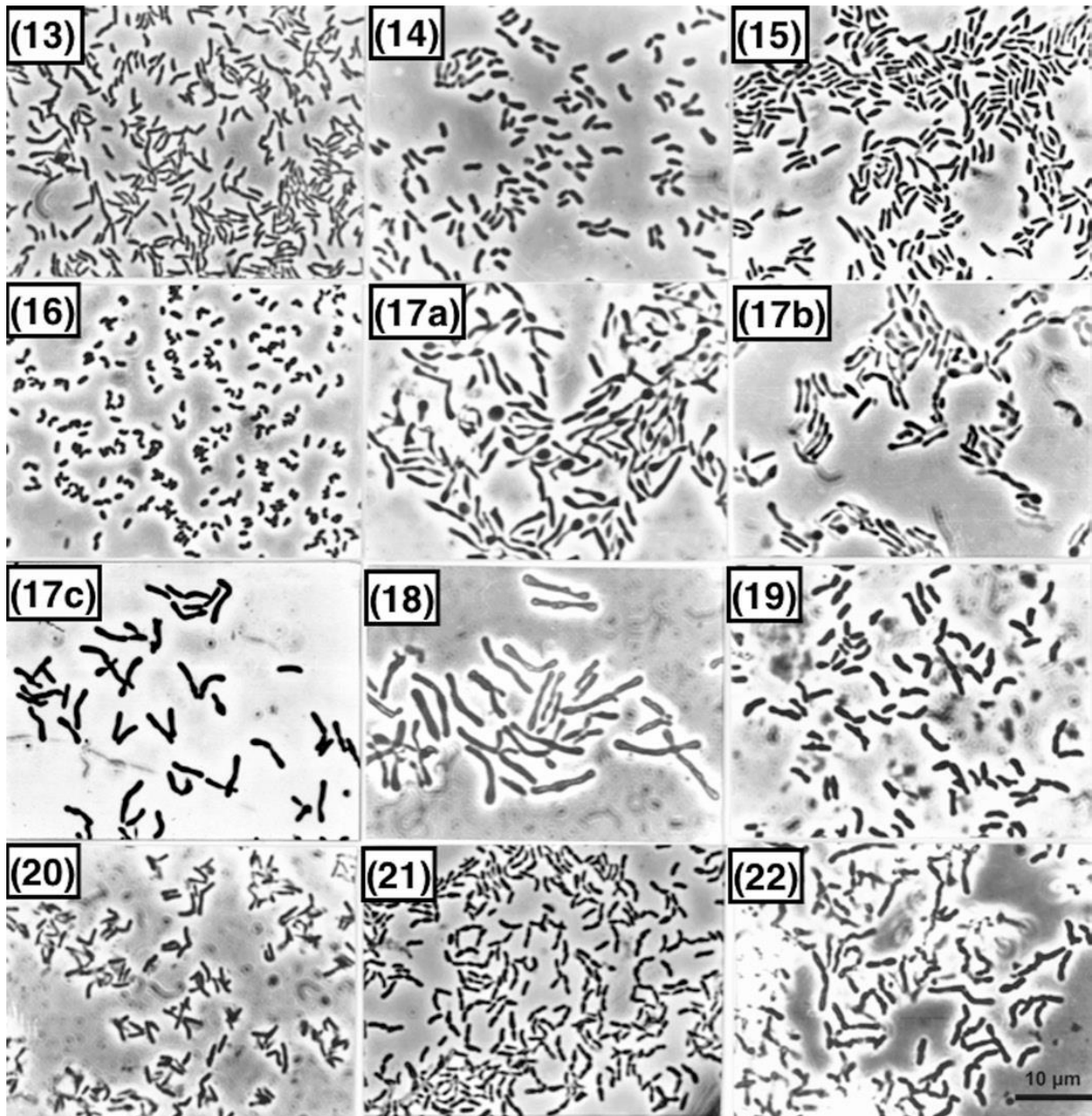
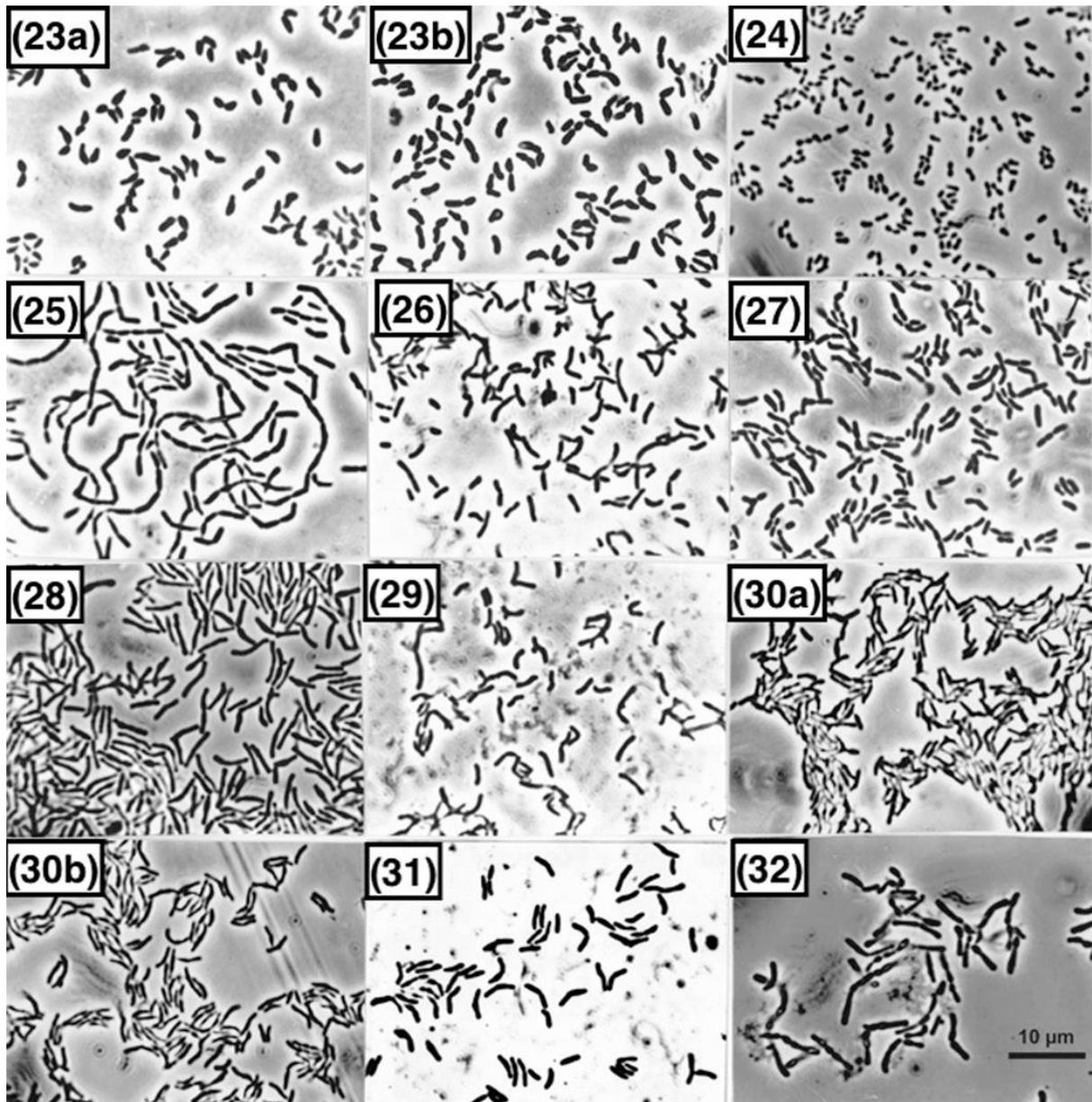


Figure 7. Morphologie dans le genre Bifidobacterium ( partie 2).

13, *B. dentium*; 14, *B. gallicum*; 15, *B. gallinarum*; 16, *B. indicum*; 17a, *B. longum* subsp. Longum ; 17b, *B. longum* subsp. Infantis ; 17c, *B. longum* subsp suis ; 18, *B. magnum* ; 19, *B. merycicum*; 20, *B. minimum*; 21, *B. mongoliense*; 22, *B. pseudocatenulatum* ;



**Figure 8.** Morphologie dans le genre *Bifidobacterium* ( partie 3).

23a, *B. pseudolongum* subsp. *pseudolongum*; 23b, *B. pseudolongum* subsp. *Globosum*; 24, *B. psychraerophilum*; 25, *B. pullorum*; 26, *B. ruminantium*; 27, *B. saeculare*; 28, *B. scardovii*; 29, *B. subtile*; 30a, *B. thermacidophilum* subsp. *thermacidophilum*; 30b, *B. thermacidophilum* subsp. *Porcinum*; 31, *B. thermophilum*; 32, *B. tsurumiense*.

### IV.2.5 *Bifidobacterium animalis*

L'espèce *Bifidobacterium animalis* initialement nommée *Bifidobacterium bifidum* avant d'être reclassée, est l'une des souches probiotiques ayant reçu le plus d'attention ; elle est bien caractérisée et a récemment été séquencé, ce qui en facilite l'étude (Leivers et al., 2011).

Dans le passé, *Bifidobacterium animalis* et *Bifidobacterium lactis* étaient considérés comme des espèces distinctes mais sont maintenant considérés comme des membres de la même espèce *B. animalis* qui contient deux sous-espèces : *animalis* et *lactis* (Masco et al., 2004) .

*B.animalis ssp Lactis*, isolée et identifiée en 1997 par Meile et al., est l'espèce de *Bifidobactérium* la plus communément isolée dans les produits laitiers (Meile et al., 1997 ; Goodfellow et al., 2012)

Villaluenga et Gomez avaient suggéré que ces souches ont des caractéristiques techniques intéressantes, en particulier en ce qui concerne la tolérance à l'oxygène et à l'acide, les rendant adaptées à une utilisation industrielle dans les produits laitiers fermentés par rapport aux autres espèces de *Bifidobacterium* (Villaluenga et Gomez, 2007).

### IV.2.6 Bienfaits de *Bifidobacterium animalis ssp lactis*

Il a été démontré que les *B.animalis ssp lactis* ont plusieurs effets bénéfiques sur la santé (Moussaoui, 2014), Notamment :

- Augmenter la sécrétion des IgA
- Stimulation de l'action d'IgA et de l'activité phagocytaire
- Diminution de l'eczéma atopique
- Stimulation de la croissance des bébés
- Modulation de la composition de la flore
- Prévention des diarrhées à rotavirus

A partir de là, il devient possible de renforcer l'immunité par de nouvelles interventions thérapeutiques basées sur la consommation de ces microorganismes vivants bénéfiques, ou probiotiques.

## V Matériel et méthodes

### V.1 Récolte de la caroube

La caroube utilisée dans cette étude a été récoltée au niveau de la région de Tizi Ouzou village Ait kharcha sidali Bounab, le mois de septembre 2020. Afin de préparer l'extrait, les gousses de caroube ont été nettoyées, séchées et débarrassées de leurs graines, puis broyées chez un épicier. La poudre de caroube obtenue a été tamisée à travers un tamis 0.45mm de diamètre (*Figure 7*).



**Figure 9.** Gousses de Caroube récoltées, débarrassées de leurs graines et broyées.

- 1) Gousse de caroube
- 2) Pulpa de caroube sans graines
- 3) Pulpe de caroube broyées

### V.2 Préparation des extraits de caroube

#### V.2.1 Méthode d'extraction

L'obtention des extraits de caroube a été réalisée avec la méthode de **percolation** (*Figure 8*).

Cette méthode consiste à traiter l'échantillon successivement avec un solvant qui Permet de solubiliser la quasi-totalité du contenu cellulaire.

Dans notre cas, c'est l'éthanol 70° d'une part, il sera nommé **extrait hydroalcolique**, d'autre part on utilisant l'eau chaude et on nommera l'extrait récupéré **l'extrait aqueux**.

#### V.2.2 Extraction hydroalcolique

- Prendre 30g de poudre de caroube la mettre dans le tube de percolation.
- Verser un volume de 100 ml de l'éthanol 70%, dans une burette régler la vanne goutte à goutte environ 1 goutte /10s pendant 24h.
- L'extrait récupéré sera mis dans l'étuve pendant 24h à 45°C, pour faire évaporer l'éthanol et récupérer l'extrait.

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

---

### V.2.3 Extraction aqueuse

Toujours avec la méthode de percolation (*Figure 8*), mais cette fois le solvant utilisé c'est l'eau chaude.

- Prendre 30g de poudre de caroube la mettre en suspension dans 100 ml d'eau très chaude.
- mélanger très bien, puis verser directement dans le tube de percolation et le laisser environ 24h.
- Autoclaver l'extrait récupéré, pour éviter toute contamination.

#### Matériels

- Tube de percolation
- Burette de 100 ml
- Ethanol à 70°
- Eau chaude
- Erlenmeyer



**Figure 10.** Extraction avec le tube de percolation

### V.3 Analyses physico-chimiques de l'extrait

#### V.3.1 Mesure de pH

Le pH par définition est une mesure de l'activité des ions H<sup>+</sup> contenus dans une solution.

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

---

Les valeurs du pH ont été mesurées avec un pH mètre (211 HANNA) (**Figure 9**).



**Figure 11.** pH-mètre HANNA 211

### V.3.2 Mesure de Brix

Le degré Brix est la mesure de la matière sèche soluble qui celle-ci s'exprime en pourcentage.

Dans le secteur de l'agroalimentaire le réfractomètre (**Figure 10**), est couramment utilisé pour déterminer la teneur en sucre d'un milieu dit simple tel que les jus de fruits, le vin, confiture, etc. Dans ce cas la mesure observé est considéré comme étant égal à la teneur en sucres dans le milieu, soit  $20^{\circ}\text{Brix} = 20\%$  de sucres dans le milieu, car pour ce type de milieu les minéraux et autres substances sont négligeables.

A l'inverse dans un milieu complexe, c'est-à-dire contenant de nombreux ingrédients, le degré Brix ne s'assimile pas au taux de sucres présents mais à la matière sèche soluble dans le milieu, car l'angle sera dévié par la présence d'autres éléments, minéraux (AGIR, 2019)



**Figure 12.** Réfractomètre

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

---

### V.3.3 Dosage des sucres réducteurs et totaux par la méthode de Fehling

Cette méthode de dosage repose sur la réduction de la liqueur de Fehling. Son principe repose sur la réduction de l'oxyde cuivrique  $\text{CuO}$  en petits grains rouges-brique d'oxyde cuivreux  $\text{Cu}_2\text{O}$  (Brigitte Mille, 2021).

#### Réactif A

- Sulfate de cuivre  $\text{CuSO}_4$  3,5g
- $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré acide sulfurique 0,5ml
- Eau distillée 100 ml

#### Réactif B :

- Tartrate double  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  15g
- Lessive de soude 30ml=13,2g (440g/l)
- Eau distillée 100ml

#### Etalonnage de la liqueur de Fehling

- Préparer la solution à la dilution de glucose 1/50 et la dilution de l'échantillon à 1/50
- Prendre 10 ml de réactif A +10ml de réactif B
- Porter à ébullition
- Titrer avec la solution glucose jusqu'à décoloration de la couleur bleu à transparent avec précipité rouge brique

#### Dosage des sucres réducteurs (opérant comme précédemment)

Verser dans un erlenmeyer 10 ml de solution A et 10 ml de solution B.

Porter à ébullition, puis verser goutte à goutte la solution inconnue diluée (extrait de caroube) placée dans la burette.

Soit  $V_{\text{extrait}}$  le volume versé en ml jusqu'à disparition de la couleur bleu et apparition de la couleur transparente et formation du précipité rouge brique, (**Figure 11**).

#### Dosage des sucres totaux

On hydrolyse la solution inconnue diluée avec quelque goutte de l'acide chlorhydrique( $\text{HCl}$ ).

On laisse 3H ou +dans un bain marie.

On titre avec la solution A et B qu'on laisse à ébullition.

### Expression des résultats

- $C_{\text{glucose}} \cdot V_{\text{glucose}} = C_{\text{extrait}} \cdot V_{\text{extrait}}$
- $C_{\text{extrait}} = C_{\text{glucose}} \cdot V_{\text{glucose}} / V_{\text{extrait}}$
- $\% = C_{\text{extrait}} \cdot 100$ . Inverse de la dilution

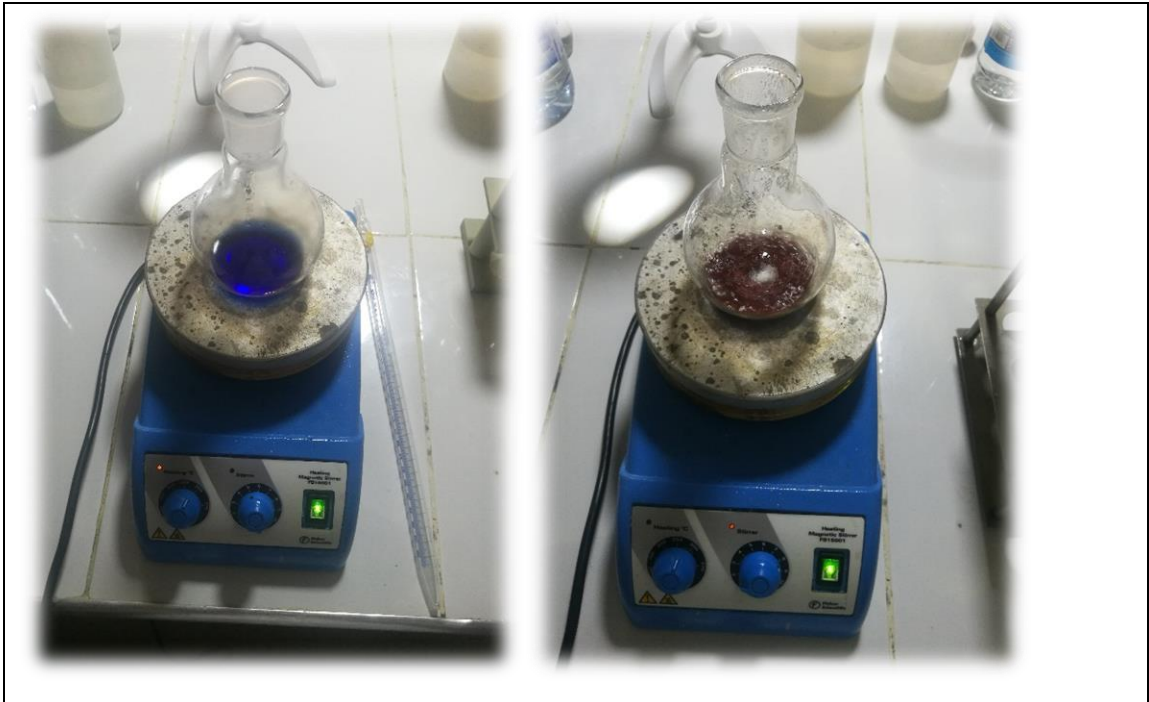


Figure 13. Dosage des sucres méthode de Fehling

### V.4 Préparation du lait fermenté aux probiotiques

On commence par la préparation d'une culture mère de 500 ml pour travailler juste avec la même concentration lors de la fabrication

#### V.4.1 Culture mère

- 500 ml de lait reconstitué à 120g/l avec la poudre de lait entier de marque LOYA
- Maturation physique du lait pendant 1h pour meilleur reconstitution
- Chauffé jusqu'à 80°C pendant 5min pour assurer une pasteurisation
- Ramener la température à 37 °C
- Ensemencer avec le lait fermenté aux probiotiques de marque le Martinet (**Figure12**).
- Bien mélanger
- Etuvé à 37°C pendant 16H
- Refroidir directement à + 4C°



**Figure 14.** Lait fermenté aux probiotiques de marque le Martinet

### V.4.2 Lait fermentés avec ou sans extraits de caroube

Après avoir préparé la culture mère, on passe à la préparation des cultures filles du lait fermenté aux probiotiques, avec l'ajout des pourcentages (v/v) d'extraits de caroube (**Figure13**)



**Figure 15.** Cultures filles

(1) Avec ajout d'extrait hydroalcoolique (2) Témoins (3) Avec ajout d'extrait aqueux

- On commence par une pré-maturation physique du lait reconstitué qui est de laisser au frigo le lait pendant 1h, puis le chauffée (pasteurisation) jusqu'à 80 C° pendant 5min et refroidir directement jusqu'à atteindre 37 C°.
- ensemencer avec la culture mère préalablement préparé environ 5%(v/v).
- Verser le lait dans des bocaux de 100ml.
- Ajouter 3% d'extrait (v/v), bien mélanger .
- Incuber à 37 C° pendant 16h (**Figure 14**).

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

---

- Refroidir directement à 4C°.



**Figure 16.** Incubation des pots à 37c° pendant 16h

N.B : on procède avec la même méthode et les mêmes étapes pour un pourcentage d'extrait ajouté de 4.5 % et 6% .

### ***V.5 Analyse physicochimique du lait fermenté***

#### **V.5.1 Mesure du pH**

Le pH par définition est une mesure de l'activité des ions H<sup>+</sup> contenus dans une solution.

Les valeurs du pH ont été mesurées avec un pH mètre (211 HANNA)

#### **V.5.2 Mesure d'acidité Dornic**

Cette analyse a pour but de doser l'acide lactique du lait fermenté avec la soude NaOH à 0.11N en présence d'un indicateur coloré.

L'acidité objective du lait fermenté est comprise entre 75 et 100°D.

#### **Mode opératoire**

Bien homogénéiser le contenu du pot. Dans un bécher, on prélève avec une pipette 10ml de lait fermenté, on y ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine.

À l'aide d'une burette, on effectue le dosage avec une solution de NaOH a 0.11N, en surveillant le virage de la couleur vers le rose, on note le volume de NaOH versé, on multiplie la valeur \*10 qui correspond au degré Dornic.

### ***V.6 Etude de l'effet de l'incorporation des extraits de caroube sur la croissance de *B. animalis ssp lactis****

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

---

### V.6.1 Cultures microbiennes

La souche bactérienne utilisée dans cette étude est *B. animalis ssp lactis* présente dans le lait fermenté aux probiotiques de marque le martinet.

### V.6.2 Milieu de culture

MRS de Man, Rogosa and Sharpe avec addition de la cystéine (Rodrigues, et al., 2012) .

Le milieu a été développé en 1960 par de Man, Rogosa et Sharpe, pour satisfaire la croissance des lactobacilles des produits laitiers (Man et al., 1960).

Pour le dénombrement des probiotiques on utilise la gélose MRS (pH=5,5) au chlorohydrate de cystéine (Cy-Hcl) à 0,5g/l qui est un agent réducteur qui inhibe la croissance des ferments du yaourt mais offre une meilleure croissance pour les *Bifidobactérium*. L'incubation se fait à 37°C pendant 72 heures dans une jarre d'anaérobiose (Rodrigues et al., 2012).

La croissance de *Bifidobacterium* a été estimée par la détermination des CFU/ ml (colony forming unit).

### V.6.3 Dénombrement

Ce procédé consiste à faire des dilutions décimales successives dans des tubes de diluant de 9ml du TSE (Tryptone- Eau –Sel).

Réaliser une gamme de dilution jusqu'à  $10^{-7}$  nécessite 7 tubes et 8 pipettes 1ml (**Figure 15**)



**Figure 17.** Outils utilisés

## Méthodes

## Chapitre IV: Bifidobactéries probiotiques par excellence

---

- Prélever 1 ml de suspension du lait fermenté préalablement bien mélangée, on transfère dans le tube de 9 ml de diluant, on continue toujours l'opération, par prélèvement avec de nouvelles pipettes stériles des quantités d'un millilitre, pour obtenir des dilutions de plus en plus grandes, jusqu'à la dilution  $10^{-7}$ .
- 1ml de la dilution  $10^{-7}$  a été déposé dans le fond de la boîte de Petri, puis 15 ml du milieu  $MRS_{Cy-HCl}$  gélosé maintenu en surfusion (environ  $45^{\circ}C$ ) est coulé aseptiquement dans la boîte de Petri.
- Homogénéiser en mouvement circulaire dessinant 8 ou 0 sur la paillasse.
- Après homogénéisation, Laisser la gélose solidifier, ensuite réaliser la double couche d'environ 5 ml pour favoriser l'anaérobiose.
- Les boîtes sont alors incubées renversées à l'étuve à  $37^{\circ}C$ , dans des jarres d'anaérobiose avec des bougies, pendant 72h. (**Figure 16**)
- Le nombre de colonies CFU/ml est calculé puis converti en log CFU/ml



**Figure 18.** Boîtes de Petri incubées à l'étuve à  $37^{\circ}C$ , renversé dans des jarres d'anaérobiose avec des bougies.

### V.6.4 Analyse statistique

Toutes les déterminations sont menées 4 fois et les résultats sont exprimés par la Moyenne  $\pm$  écart type. Le traitement statistique des résultats est réalisé par l'analyse de la variance : ANOVA. Ces résultats sont considérés significatif à  $p < 0,05$ .

## VI Résultats et Discussion

### VI.1 Résultats des analyses physicochimiques des extraits

Dans le **Tableau 8** nous portons les différentes concentrations de poudre de caroube et les choix de solvants pour une extraction.

Les résultats de pH et Brix nous révèlent :

Pour le pH nous avons obtenu un max 6.32 et un mini 5.77 avec le solvant hydroalcoolique, bien qu'avec le solvant aqueux on a obtenu un max de 5.01 et un mini de 4.41.

Pour le Brix nous avons obtenu avec le solvant hydroalcoolique un max de 43.5 et un mini de 24.5%, avec le solvant aqueux on a observé un max de 19.5% et un mini de 4.9%.

Au final, ces résultats nous ont permis de standardiser l'extraction à 100 ml de solvant avec 30g de poudre de caroube.

**Tableau 8.** résultats des analyses physicochimiques des extraits

<i>N° extraction</i>	<i>g/ml</i>	<i>solvant</i>	<i>Brix</i>	<i>pH</i>
<i>n1</i>	20g/100ml	éthanol 96°	31,5	5,78
<i>n2</i>	20g/100ml	eau chaude	19,5	4,73
<i>n3</i>	20g/100ml	eau chaude	12	4,6
<i>n4</i>	20g/100ml	eau chaude	5,5	4,41
<i>n5</i>	20g/100ml	éthanol 70°	24,5	6,32
<i>n6</i>	30g/100ml	eau chaude	4,9	4,76
<i>n7</i>	30g/100ml	éthanol 70°	38,4	5,77
<i>n8</i>	30g/100ml	éthanol 70°	37	5,83
<i>n9</i>	30g/100ml	eau chaude	18	5,01
<i>n10</i>	30g/100ml	éthanol 70°	37,7	5,84
<i>n11</i>	30g/100ml	éthanol 70°	41	5,79
<i>n12</i>	25g/100ml	eau chaude	16	5,01
<i>n13</i>	30g/100ml	eau chaude	18,1	4,97
<i>n14</i>	30g/100ml	eau chaude	18	5,02
<i>n15</i>	30g/100ml	eau chaude	18	5,04
<i>n16</i>	30g/100ml	éthanol 70°	43,5	5,80
<i>n17</i>	30g/100ml	éthanol 70°	41	5,86
<i>n18</i>	30g/100ml	éthanol 70°	40,7	5,86

### ➤ Résultats de teneur en sucres

L'extrait hydroalcoolique se caractérise par sa teneur en sucres plus élevée, voire même double, que celle de l'extrait aqueux (**Tableau 9**).

La teneur en sucre de l'extrait hydroalcoolique a été obtenue à partir d'un mélange des extractions n° 16, 17 et 18. Avec un Brix final de 41,5 et un pH 5.81.

La teneur en sucre de l'extrait aqueux a été obtenue à partir d'un mélange des extractions n°13,14 et 15. Avec un Brix final de 17.3 et un pH 5.08.

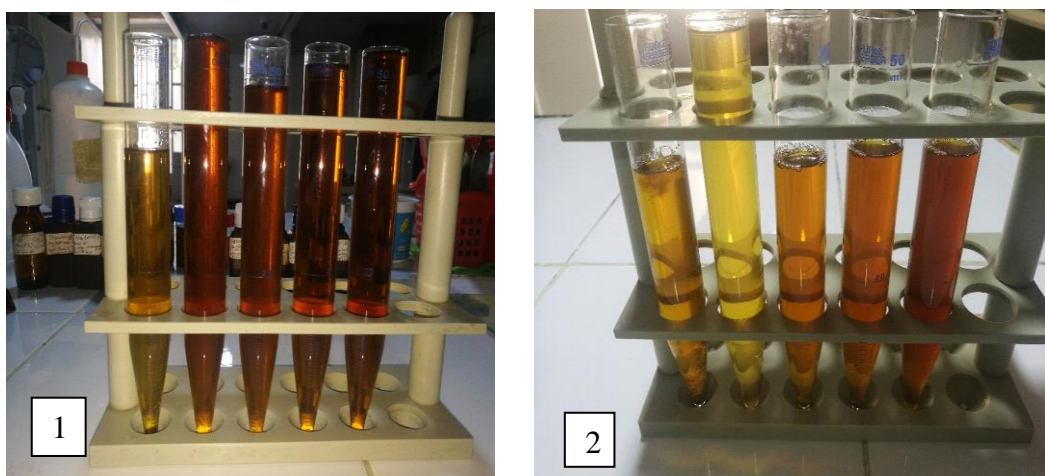
**Tableau 9.** Résultats des taux de sucres des extraits

<i>Extrait</i>	<i>Sucre réducteurs %</i>	<i>Sucre totaux%</i>
<i>Extrait aqueux</i>	5.6%	15.55%
<i>Extrait hydroalcoolique</i>	10%	32.60%

### VI.1.1 Interprétations des résultats :

Nous avons opté pour la percolation comme méthode d'extraction, car c'est avec cette méthode qu'on a eu des meilleurs résultats ; comparé aux autres méthodes d'extractions macération ou la méthode d'agitation citée dans la bibliographie et qu'on a utilisé dans les extractions n° 4 et 6, voir même leur apparence dans la **Figure 17**.

La percolation est supérieure à la macération car la poudre est constamment traversée par une quantité de solvant vierge, non saturé, qui permet l'extraction optimale des composants, sans problème de saturation (Bernard, 2014) .



**Figure 19.** Les extraits de caroube

### 1) Méthode d'extraction percolation 2) Autres méthodes

Les principaux résultats obtenus ont montré que les deux extraits aqueux et hydroalcoolique, sont riches en sucre ; bien que le taux de sucre et le Brix des extraits hydroalcooliques sont toujours supérieurs à ceux des extraits aqueux.

On constate aussi que, les pH des extraits aqueux, sont un peu plus acide comparé à ceux des extraits hydroalcooliques, qui eux, tend vers des pH neutre.

Donc le solvant éthanol 70% permet une solubilisation plus marquée que celle avec l'eau chaude.

Nos données suggèrent que les systèmes de solvants binaires éthanol 70° sont plus performants et favorables que les systèmes de solvants purs et s'accordent avec les résultats de (Wang, 2009) Travaillant sur les algues islandaises, (Turkmen et *al.*, 2006) sur le thé et (Cavdarova et *al.*, 2014) sur la caroube.

### **VI.2 Résultats des analyses physicochimiques des laits fermentés**

#### **Le pH**

Selon nos résultats (**Tableau 10**), le pH des laits fermentés avec les extraits ou sans extraits sont presque identiques.

D'après Moussaoui, la présence des fibres de caroube ne raccourcit pas le temps de coagulation du lait qui, au contraire, est prolongé de 10 à 20 min selon les souches impliquées dans la fermentation ; et ceci malgré le pH acide de ces fibres (pH 5.2) (Moussaoui, 2014).

#### **L'acidité Dornic**

*On a enregistré une augmentation un peu faible, d'acidité Dornic des laits fermentés avec les extraits aqueux comparé aux témoins, mais qui reste proche avec les extraits hydroalcoolique (Tableau 10).*

Notre lait fermenté avec les extraits se caractérise par son acidité élevée et sa charge microbienne importante. Ces conditions permettent d'augmenter l'effet bifidogénique, tel que la résistance à l'acidité gastrique, l'amélioration de la digestion et la résistance aux infections par les agents pathogènes.

**Tableau 10.** pH et acidités des laits fermentés avec 3%, 4.5% et 6% d'extraits de caroube

<i>Lait fermenté avec</i>	<i>pH</i>	<i>Acidité</i>
<i>3% d'extrait</i>		
<i>Témoin</i>	4,10	100 D°
<i>Extrait aqueux</i>	4,02	105 D°
<i>Extrait hydroalcoolique</i>	4,07	97 D°
<i>4,5% d'extrait</i>		
<i>Témoin</i>	3,55	109 D°
<i>Extrait aqueux</i>	3,56	125 D°
<i>Extrait hydroalcoolique</i>	3,62	110 D°
<i>6% d'extrait</i>		
<i>Témoin</i>	3,66	116 D°
<i>Extrait aqueux</i>	3,60	120 D°
<i>Extrait hydroalcoolique</i>	3,69	119 D°

### VI.3 Résultats de l'effet de l'incorporation des extraits de caroube sur la croissance de *Bifidobacterium animalis ssp lactis*

#### VI.3.1 Evolution du nombre des colonies *B. animalis ssp lactis* dans le lait fermenté

##### ➤ Dénombrement des colonies

Le nombre de colonies de *B. animalis ssp lactis* est calculé en CFU/ml puis en converti log CFU/ml est représenté dans le **Tableau 11**.

**Tableau 11.** La moyenne de CFU/ml dans le témoin, extrait aqueux et extrait hydroalcoolique

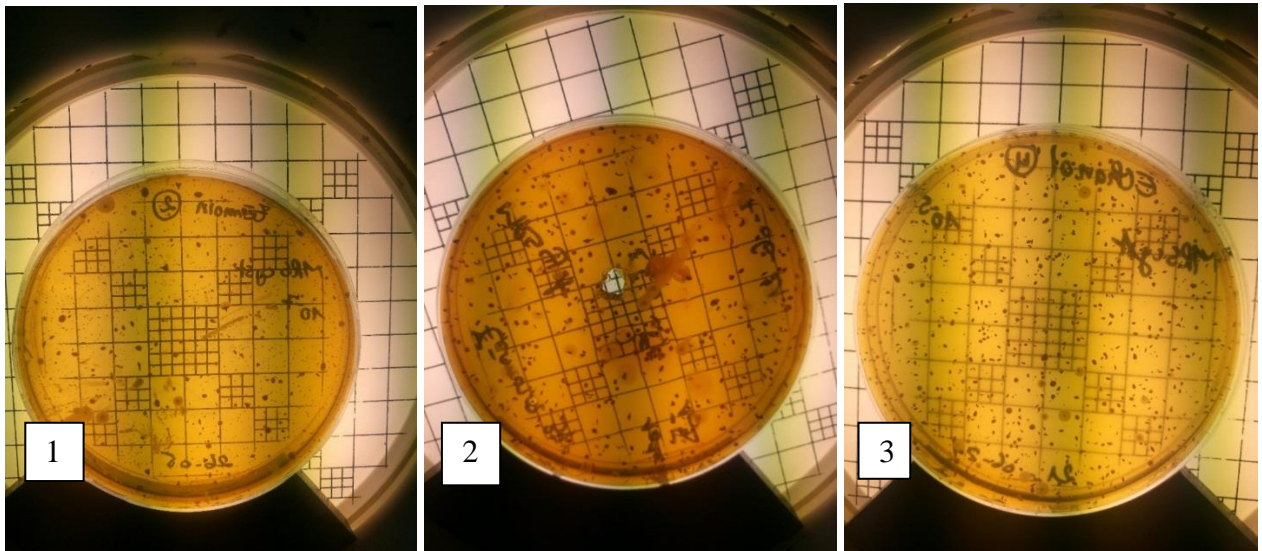
<i>Pourcentage d'extrait ajouté</i>	<i>Témoin (CFU/ml)</i>	<i>Log Extrait aqueux Log (CFU/ml)</i>	<i>Extrait hydroalcoolique Log (CFU/ml)</i>
<b>3%</b>	11,24 ± 0,07	11,37 ± 0,02	11,49 ± 0,03
<b>4,5%</b>	7,78 ± 0,047	7,91 ± 0,032	8,01 ± 0,015
<b>6%</b>	7,94 ± 0,021	8,02 ± 0,027	8,15 ± 0,047

### ➤ Observation macroscopique

L'observation des colonies de bifidobactéries développées sur milieu MRScyst, nous montre de petites colonies blanchâtres et diamètre variable (**Figure 18**).

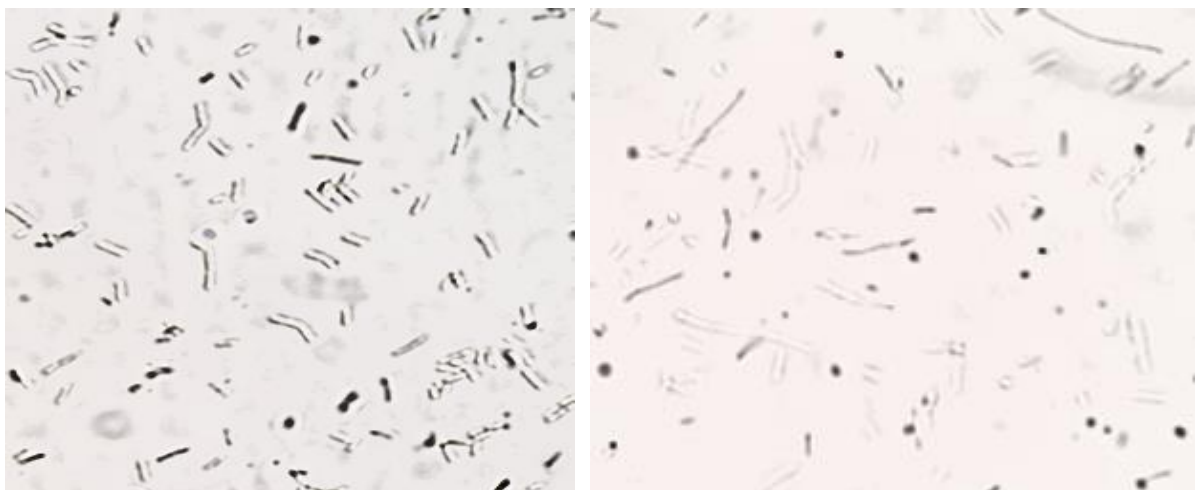
### ➤ Observation microscopique

L'observation microscopique montre des bacilles immobiles, en forme V et Y ou incurvés, isolés ou en amas avec des extrémités bifurquées (**Figure 19**).



**Figure 20.** Dénombrement des colonies de *Bifidobacterium*

1) Témoin 2) Avec extrait aqueux 3) Avec extrait hydroalcoolique



**Figure 19.** Observation microscopique de *B. animalis ssp lactis* grossissement X 1000

### VI.3.2 Résultats des analyses statistiques

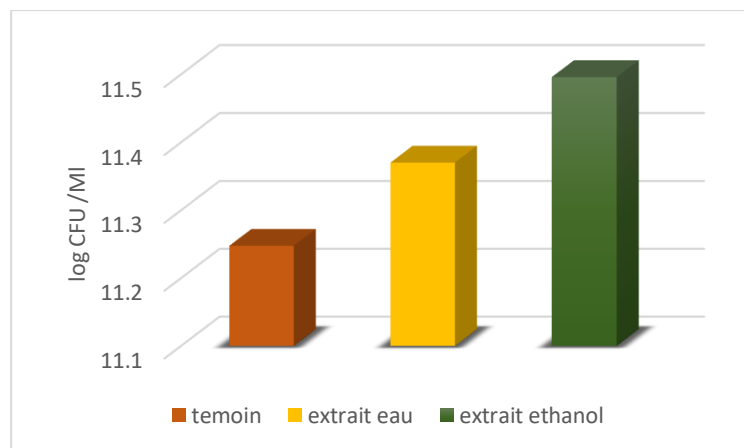
L'analyse statistique des résultats montre que chacun des facteurs, absence ou présence, de l'extrait affecte significativement à  $p < 0,05$  la croissance de *B. animalis ssp lactis*.

L'analyse de la variance montre un effet hautement significatif à  $p < 0,05$  sur l'évolution moyenne du nombre de *B. animalis ssp lactis* dans les laits fermentés additionnés de 3%, 4.5% et 6% d'extrait de caroube aqueux et hydroalcoolique.

#### ➤ Lait fermenté contenant 3% d'extrait (Figure 20)

Le lait fermenté avec l'extrait hydroalcoolique, le nombre de colonie augmente progressivement avec une moyenne qui atteint une valeur de  $11,49 \pm 0,03$  log CFU/ml et une moyenne de  $11,37 \pm 0,02$  log CFU/ml pour le lait fermenté contenant de l'extrait aqueux. Comparé au témoin avec une moyenne de  $11,24 \pm 0,07$  log CFU/ml.

Ces valeurs en pourcentage représentent respectivement une augmentation de la population bactérienne de l'ordre de 43.75% pour l'extrait hydroalcoolique et de 32.5% pour l'extrait aqueux.



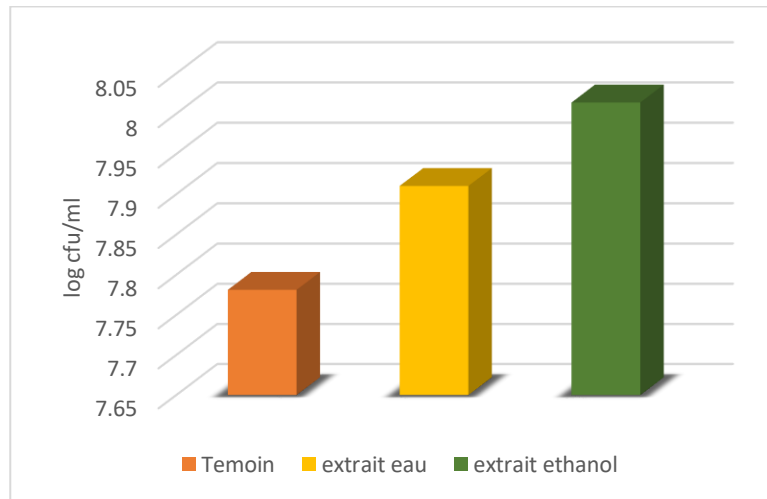
**Figure 21.** Variation de la croissance de *B. animalis ssp lactis* dans le lait fermenté en concentration de 3% d'extrait

#### ➤ Lait fermenté contenant 4.5% d'extrait (Figure 21)

En augmentant la concentration des extraits dans le lait fermenté jusqu'à 4.5%, le nombre de colonies augmente à partir de  $7,78 \pm 0,047$  log CFU/ml du témoin jusqu'à  $7,91 \pm 0,032$  log CFU/ml avec l'extrait aqueux et jusqu'à  $8,01 \pm 0,015$  log CFU/ml avec l'extrait hydroalcoolique.

Ces valeurs en pourcentage représentent respectivement une augmentation de la population bactérienne de l'ordre de 43.75% pour l'extrait hydroalcoolique, qui est identique à la première concentration avec 3% d'extrait.

Pour l'extrait aqueux le pourcentage de stimulation est de l'ordre de 33.25%, qui est un peu plus élevé comparé à celle de 3% d'extrait ajouté.



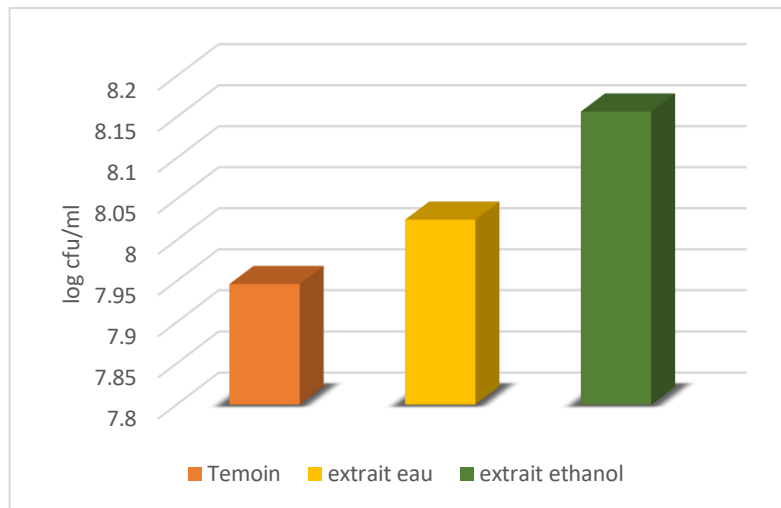
**Figure 21.** Variation de la croissance de *B. animalis ssp lactis* dans le lait fermenté en concentration de 4.5% d'extrait

### ➤ Lait fermenté contenant 6% d'extrait (Figure 22)

En augmentant la concentration des extraits dans le lait fermenté jusqu'à 6% le nombre de colonies augmente à partir de  $7,94 \pm 0,021$  log CFU/ml du témoin jusqu'à  $8,02 \pm 0,027$  et  $8,15 \pm 0,047$  log cfu/ml avec l'extrait aqueux et l'extrait hydroalcoolique respectivement.

Ces valeurs en pourcentage représentent respectivement une augmentation de la population bactérienne de l'ordre de 39.92% pour l'extrait hydroalcoolique et de 29.25% pour l'extrait aqueux.

Par contre, dans ce dernier pourcentage d'extrait ajouté au lait fermenté, on a observé une petite diminution du pourcentage de stimulation des deux extraits, donc on a vu qu'il ne sert à rien de continuer d'augmenter la proportion. C'est pour cela on a décidé de s'arrêter à 6%.



**Figure 222.** Variation de la croissance de *B. animalis ssp lactis* dans le lait fermenté en concentration de 6% d'extrait.

### VI.3.3 Interprétation des résultats sur l'effet stimulant de l'extrait de caroube sur la croissance de *B. animalis ssp lactis*

Dans le présent travail, *B. animalis lactis* est stimulé beaucoup mieux en présence de l'extrait de caroube hydroalcoolique qu'avec l'extrait aqueux, ce qui prouve que les constituants favorisant la meilleure stimulation sont hydroalcooliques non pas hydrosolubles.

La comparaison entre les oligosaccharides et les polysaccharides cités auparavant (Sawakinome, 2017), nous laisse supposer que dans l'extrait aqueux ce sont des oligosaccharides qui sont en abondance, alors que dans l'extrait hydroalcoolique ce sont des polysaccharides plus les oligosaccharides.

Nos résultats révèlent que, la souche *B. animalis ssp lactis* est stimulée proportionnellement aux taux d'extraits ajoutés 3 et 4,5% aux laits fermentés, sauf que, à partir de l'ajout de 6% d'extrait, le taux de stimulation a commencé à diminuer.

Cette meilleure croissance des *B. animalis ssp lactis* en présence de l'extrait de caroube, s'explique par l'apport élevé en hydrates de carbone et en micronutriments contenus dans ces extraits.

L'effet stimulateur de l'extrait de caroube est attribué à sa teneur en sucres (glucose, fructose et sucrose) ainsi qu'en fibres alimentaires (Ait chitt et al., 2007).

Martinez-Villaluenga et Gomez, rapportent que parmi six souches bifides testées, *B. animalis* ssp *lactis* affiche la meilleure vitesse de croissance et le plus faible temps de génération en présence d'oligosaccharides de raffinose (Martinez-Villaluenga et Gomez, 2007).

Bomba et *al.*, rapportent que certains éléments chimiques tels que le fer et le magnésium permettent l'augmentation de la viabilité des probiotiques (Bomba et *al.*,2002).

Les produits finis du métabolisme des glucides (acide gras à courte chaine) confèrent un effet positif sur les probiotiques en leur servant de source d'énergie (Kaplan et *al.*, 2000).

La comparaison des résultats de notre étude a ceux d'autres auteurs fait apparaître que :

Dans une étude similaire Bouziane, montre que le sirop de caroube stimule la croissance de *Bifidobacterium longum* BL42, en présence de 5 et 10% de sirop de caroube, avec un taux qui représente plus de 25% d'amélioration de la quantité de biomasse accumulée. L'effet du sirop de caroube sur la viabilité des souches en général, et de la souche *Bifidobacterium longum* BL42 en particulier, au cours de la conservation du lait fermenté à 4°C est positif car les pertes en cellules sont significativement diminuées et se limitent à 32 et 37% en présence de 5 et 10% de sirop de caroube dans le lait fermenté, respectivement (Bouziane, 2014).

Les résultats aussi obtenus par Moussaoui, montrent que le taux d'amélioration de la croissance, des souches bénéfiques, par les fibres atteint 11.94% pour *L. rhamnosus* et 7.98% pour *B. animalis* subsp. *lactis*; pendant que celui des starters du yaourt est de 10.93% pour les *Streptococcus* et de 24.66% pour les *Lactobacillus*.

*B. animalis* subsp. *lactis*;, présente un meilleur développement pour les concentrations de fibres de caroube ajoutées de 0.5, 1.5, et surtout 2% en comparaison avec le témoin (Moussaoui, 2014).

Par ailleurs, les résultats de Benguiar et *al.*, contredisent quelque peu nos résultats. Car leurs résultats révèlent un effet quasi identique au témoin sur la prolifération bactérienne de *L. fermentum* en présence de l'extrait de caroube, et la croissance de *L. rhamnosus* est légèrement faible en comparaison au milieu riche en glucose (Benguiar et *al.*, 2015). Ces résultats vont de pair avec ceux de (Hariri et *al.*, 2009), qui démontre que la fermentation des extraits de caroube par certaines bactéries lactiques telle que *L. Bulgaricus* est plus faible par rapport à sa croissance dans le milieu MRS.

Les travaux de Hariri et *al.*, ont montré que la croissance de *Lactobacillus* dans le milieu MRS est beaucoup plus importante que dans les extraits de caroube. Cette croissance est selon eux, associée à la production d'acide l'actique (Hariri et *al.*, 2009).

## Conclusion

Les résultats que nous avons obtenus dans ce travail montrent que les extraits de caroube ajoutés aux laits fermentés, exercent une stimulation significative sur la croissance de *Bifidobacterium animalis ssp lactis*.

Cependant nous avons constaté, que le solvant hydroalcoolique (éthanol 70°) reste meilleur que le solvant eau chaude, sachant qu'il exerce une meilleure stimulation de la croissance de la souche de probiotique testée.

D'une part l'addition d'extrait hydroalcoolique de caroube aux laits fermentés, la croissance des bifidobacteries a boostée de 43,75 % 43,75 % et 39,92 % avec 3%, 4.5% et 6% d'extraits respectivement.

D'autre part l'extrait aqueux lui aussi stimule significativement la croissance de *B. animalis ssp lactis*, avec des pourcentages de 32.5%, 33.25% et 29.25% respectivement à des concentrations de 3%,4.5% et 6%.

L'extrait de caroube présente des caractères physicochimiques et biochimiques favorables au développement bacterien, des sources énergétiques et des éléments nutritifs acceptables comme le montrent les résultats des analyses physicochimiques et microbiologiques obtenus.

En effet, nos résultats montrent clairement que l'extrait de caroube est riche en sucre, et ce dernier peut servir comme un nouveau prébiotique dans la formulation d'aliments symbiotiques ; sachant qu'il offre des conditions favorables au développement de *B.animalis ssp lactis*.

L'extrait de caroube apparait comme un ingrédient d'intérêt pour l'industrie laitière, il est très utile pour garder une flore intestinale vigoureuse et équilibré, à un moment où elle est constamment agressée.

L'application du concept de prébiotique à un composant alimentaire donné exige la démonstration convaincante dans des études humaines correctement programmées. Bien que nos résultats sont très encourageants, mais des efforts supplémentaires devraient être consacrés à :

- approfondir l'étude des polysaccharides de la caroube autant que facteur de croissance des probiotiques.
- la clarification des composants et des mécanismes moléculaires.
- faire une évaluation sensorielle pour les échantillons symbiotiques, laits fermentés aux probiotiques avec des extraits de caroube.

## Références

- AFSSA. 2003.** Alimentation infantile et modification de la flore intestinale. *Afssa*. [En ligne] 2003. <https://www.anses.fr/fr>.
- AGIR. 2019.** Agroalimentaire innovation recherche. <https://www.agir-crt.com/blog/refractometre-mesure-degre-brix-choix-appareil/>. [En ligne] 2019.
- Ahmed, J, et al. 2013.** Propriétés rhéologiques de la pâte de farine de blé incorporant des fibres de dattes insolubles dans l'eau. *LWT-Food Sci Technology*. 2013, Vol. 51, pp. 409-416.
- Ait Chitt, M, Belmir, H et Lazrak, A. 2007.** Production de Plants Sélectionnés Greffés de Caroubier. *Transfert de Technologie en Agriculture*. 2007, Vol. 153, pp. 1- 4.
- Al-Sheraji, S.H, et al. 2013.** Les prébiotiques comme aliments fonctionnels : une revue. 2013, Vol. 5, pp. 1542-1553.
- Alves, MM, Antonov, YA et Gonçalves, MP. 1999.** L'effet des caractéristiques structurales de la gélatine sur sa compatibilité thermodynamique avec la gomme de caroube en milieu aqueux. *Hydrocoll. alimentaire*. 1999, Vol. 13, pp. 157-166.
- Arribas, C, et al. 2019.** Healthy novel gluten- free formulations based on beans, carob fruit and rice: Extrusion effect on organic acids, tocopherols, phenolic compounds and bioactivity. *Food Chemistry*. 2019, Vol. 292, pp. 304-313.
- Baarden, Peter van, Troost, Freddy J et Hemert, Saskia van. 2009.** Differential NF-kappaB pathways induction by *Lactobacillus plantarum* in the duodenum of healthy humans correlating with immune tolerance. *Proceedings of the National academy of sciences of the United States of America*. 2009, Vol. 106, 7, pp. 2371-2376.
- Bahrampour, M et Tehrani, M. 2011.** Application et fonctions des stabilisateurs dans la crème glacée. *Food Rev Int*. 2011, Vol. 27, pp. 369-279.
- Barracosa, P, Osorio, J et Cravador, A. 2007.** Evaluation of fruit and seed diversity and characterization of carob (*Ceratonia siliqua* L.) cultivars in Algarve region. *Scientia Horticulturae*. 2007, Vol. 114, pp. 250–257.
- Battle, I et Tous, J. 1997.** *Carob tree. Ceratonia siliqua* L. *Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*. . Institute of Plant Genetic. 1997.
- Battle et Tous, J. 1997.** *Caroub tree. Ceratonia siliqua* L. *Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*. s.l. : Institut of plant Genetic and crops Plant Research. Médicinales, Maghreb Canada Express , 1997. Vol. 5.
- Benguier, R, Benaraba, R et Riazi, A. 2015.** Effet de l'extrait de caroube sur la croissance de deux candidats probiotiques : *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus rhamnosus*. *Nature et Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques*. Juin 2015, Vol. 13, pp. 22-27.
- Bernard, Christophe. 2014.** Faire une trinture : LA PERCOLATION. [En ligne] Althea province, Christophe Bernard\_ Herbaliste, 2014. <https://www.altheaprovence.com/faire-une-teinture-mere-percolation/>.

- Bernard, Christophe. 2018.** Prébiotiques : Prenez soin de votre flore intestinale. [En ligne] 2018. <https://www.altheaprovence.com/prebiotiques-prenez-soin-de-votre-flore-intestinale/>.
- Berrougui, H. 2007.** *Le caroubier (Ceratonia siliqua L.), une richesse nationale aux vertus médicinales.* s.l. : Maghreb Canada Express , 2007. p. 20. Vol. 5.
- Biavati, Bruno et Mattarelli, Paola. 2006.** The Family Bifidobacteriaceae. 2006, Vol. 3, pp. 322–382.
- Biernacka, B, et al. 2017.** Physical, sensorial, and antioxidant properties of common wheat pasta enriched with carob fiber. *LWT.* 2017, Vol. 77, pp. 186-192.
- Bindels, L.B, et al. 2015.** Vers un concept plus complet pour les prébiotiques. 2015, Vol. 12, pp. 303-310.
- Biner, B, et al. 2007.** Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua L.*) in Turkey. *Food Chemistry.* s.l. : Elsevier, 2007, Vol. 100, pp. 1453-1455.
- Bomba, A, et al. 2002.** The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends Food Science Technology.* 2002, Vol. 13, pp. 121-126.
- Bornet, F, et al. 2002.** Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides : natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Digestive and Liver Disease.* 2002, Vol. 34, pp. 111-120.
- Boual, Zakaria. 2020.** *Bioactivités, méthodes d'extraction et de purification des polysaccharides de produits naturels.* 2020.
- Boublenza. 2020.** Agroalimentaire: la poudre de caroube, une alternative à l'importation de cacao. *Algerie Press service.* [En ligne] 13 Février 2020. <https://www.aps.dz/economie/101581-agroalimentaire-la-poudre-de-caroube-une-alternative-a-l-importation-de-cacao>.
- Bouziane, Nabil. 2014.** *Effet du sirop de caroube sur les aptitudes fermentaires et le développement des bactéries lactiques sur milieu lait écrémé.* Département des Sciences Agronomique, Université Abd-elhamid Ibn Badis de Mostaganem, Faculté des Sciences de la nature et de la vie. Mostaganem : s.n., 2014.
- Bouzouita, N, et al. 2007.** The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chemistry.* s.l. : Elsevier, 2007, Vol. 101, pp. 1508-1515.
- Brennan, C.S. 2005.** Dietary fiber, glycaemic response and diabetes. *Mol Nutr Food Res.,* 2005, Vol. 49, pp. 560–570.
- Brigitte Mille. 2021.** dosage des sucres réducteurs par la méthode de Fehling . *Institut Francais de la Vigne et du Vin.* [En ligne] 2021. <https://www.vignevin-occitanie.com/fiches-pratiques/dosage-des-sucres-reducteurs-par-la-methode-de-fehling/>.
- Buzyn, Agnès. 2019-2023.** *programme national nutrition santé .* France : Ministère des solidarités et de la santé, 2019-2023.
- Campeotto, F, et al. 2007.** Mise en place de la flore intestinale du nouveau né. *Gastroentérologie clinique et biologique.* 2007, Vol. 31, 5, pp. 533-542.
- Carlson, Justin L, et al. 2018.** *Health effects and Sources of Prebiotic Dietary Fiber.* Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota. Atlanta : s.n., 2018.

- Cavdarova, M et Makris, D.P. 2014.** Extraction Kinetics of Phenolics from Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Kibbles Using Environmentally Benign Solvents. *Waste Biomass Valor.* 2014, Vol. 10, pp. 1-7.
- Chaput, JP, Doucet, E et Tremblay, A. 2012.** L'obésité : une maladie ou une adaptation biologique ? . *Obes Rev.* 2012, Vol. 13, 8, pp. 681-691.
- Cherbuy, C, Thomas, M et Langella, P. 2013.** Le microbiote intestinal : une composante santé qui évolue avec l'âge. *Innovations agronomiques.* 2013, Vol. 33.
- Chung, C, Degner, B et McClements, DJ. 2013.** Conception d'émulsions alimentaires à teneur réduite en matières grasses : interactions entre la gomme de caroube et les gouttelettes de graisse. *Hydrocolloïdes alimentaires.* 2013, Vol. 32, pp. 263-270.
- Claesson, MJ, et al. 2011.** Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2011, Vol. 108, pp. 4586-4591.
- Dariche, Antoine et Rhrib, Daoud Pierre. 2020.** *Augmenter sa consommation en aliments contenant des fibres : quel impact sur la composition du microbiote intestinal ?* Filière Nutrition et diététique, Haute école de Santé Genève. Genève : HEDS, 2020. Une revue quasi systématique.
- De Filippo, C, et al. 2010.** Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2010, Vol. 107, 33, pp. 14691-6.
- Durazzo, A, et al. 2014.** Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food Chemistry.* s.l. : Elsevier, 2014, Vol. 153, pp. 109-113.
- El Kaoutari, A, et al. 2014.** Le microbiote intestinal et la digestion des polysaccharides. *Médecine/sciences.* 2014, Vol. 30, 3, pp. 259-265.
- El Rabey, H.A, Al-Seeni, M.N et AlGhamdi, H.B. 2017.** Comparison between the Hypolipidemic Activity of Parsley and Carob in Hypercholesterolemic male rats. *Bio Med Research international.* 2017, Vol. 9.
- Estrada , C, et al. 2006.** Fruticultura de secano. El Algarrobo. *Manual de agricultura y ganadería ecológica.* 2006.
- Evreinoff, V.A. 2015.** Le caroubier ou *Ceratonia siliqua*L 27e année bulletin. *In Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale.* 2015.
- FAO/OMS. 2002.** *Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Working Group Report.* London, Ontario, Canada : Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization (Organisation Mondiale pour la Santé OMS), 2002.
- Force Natura. 2020.** Les Meilleures Sources Naturelles De Probiotiques. [En ligne] Natura Force, 2020. <https://www.naturaforce.com/complements-alimentaires-pour-les-problemes-digestifs/probiotiques/meilleures-sources-naturelles-de-probiotiques>.
- Franck, A. 2002.** Prébiotiques. *Aliments Fonctionnels.* Ed Tec & Doc, 2002, pp. 104-123.
- Frank, A. 2002.** Prébiotiques. Aliments fonctionnels. *Collection Sciences & Techniques Agroalimentaires.* Editions Tec& Doc. Paris : Lavoisier, 2002, pp. 105-123.
- Fuller, R. 1991.** probiotics in human medicine Gut. Bactéries lactiques et probiotiques de (Corrieu G, Luquet F.M). *TEC & Doc.* Lavoisier, 1991, Vol. 32, pp. 439-442.

- Gaour, Naila. 2011.** *Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés Algériennes*. Département des sciences d'Agronomie et des Forêts, Faculté des Sciences de la Nature et de La Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers. Tlemcen : s.n., 2011.
- Gharnit, A et Ennabili. 2009.** Essais préliminaires de culture in vitro du Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) Originaire du Nord –Ouest du Maroc. *Biomatec Echo*. September 2009, Vol. 3, 6, pp. 18-25.
- Gharnit, N. 2003.** *Caractérisation et essai de régénération in vivo du caroubier (ceratoniasiliqua L.) originaire de la province de Chefchaouen (Nord-Ouest du Maroc). Th. Doc en science*. Université Abdelmalek Essaadi. Tanger : s.n., 2003.
- Gibson, GR et Roberfroid, MB. 1995.** Dietary modulation of the human colonic microbiota : introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*. 1995, Vol. 125, pp. 1401-1412.
- Gibson, GR, et al. 2010.** Dietary prebiotics : current status and new definition. *Food Sci Technol Bull Funct Foods* . 2010, Vol. 7, pp. 1-19.
- Gillet, Sébastien, et al. 2014.** Synthèse bibliographique de l'influence du procédé d'extraction et de purification sur les caractéristiques et les propriétés d'une gomme de caroube. 2014, Vol. 18, 1, pp. 97-107.
- Goodfellow, M, et al. 2012.** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd. New York : Springer-Verlag New York, 2012. pp. 171-205. Vol. 5.
- Goodfellow, Michael, et al. 2012.** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. second edition. 2012. pp. Part B, pages 1035-2028. Vol. volume five.
- Gournier-château, N, et al. 1994.** Les probiotiques en alimentation animale et humaine. Pro-Prebiotiques : développement et mise au point dans les formules. Édition Technologie et documentation Lavoisier, 1994, pp. 1-192.
- 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 and Development*. 1999, Vol. 39, pp. 563-588.
- Gueimonde, M et Salminen, S. 2003.** Probiotics : efficacy in gut health promotion. *Nutrafoods*. 2003, Vol. 2, 2, pp. 13-21.
- Hariri, A, et al. 2009.** Mise en oeuvre la fermentation de certains ferments lactiques dans milieu a base des extraits de caroube . *Rev. Microbiol. Ind .San et Environ*. 2009, pp. 37-55.
- Harmsen, H.J, et al. 2006.** Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J. Pediatr. Gastroenterol Nutrition*. 2006, Vol. 30, pp. 61-67.
- Hayer, A. 2016.** La pyramide alimentaire suisse, Recommandations alimentaires pour adultes, alliant plaisir et équilibre. *Société Suisse de Nutrition*. 2016.
- Heuvelin, E, et al. 2010.** A Bifidobacterium probiotic strain and its soluble factors alleviate chloride secretion by human intestinal epithelial cells. *Journal Nutrition*. 2010, Vol. 140, pp. 7-11.
- Hillcoat, D, Lewis, G et Verdcourt, B. 1980.** A new species of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew bull*. 1980, Vol. 35, pp. 261-271.

- Hoefkens, C, Verbeke, W et Camp, J. 2011.** European consumers' perceived importance of qualifying and disqualifying nutrients in food choices. *Préférence de qualification des aliments*. 2011, Vol. 22, pp. 550-558.
- Inra. 2017.** Microbiote, la révolution intestinale. 2017.
- Inserm. 2016.** Microbiote intestinal (flore intestinale) Une piste sérieuse pour comprendre l'origine de nombreuses maladies. *Inserm*. [En ligne] 14 Juillet 2016. <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>.
- Kamal, M, et al. 2013.** Assessment of Proximate Chemical Composition, Nutritional Status, Fatty Acid Composition and Phenolic Compounds of Carob (*Ceratonia Siliqua L.*). 2013, Vol. 3, 6, pp. 304-308.
- Kaplan, H et Hutkins, RW. 2000.** Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Zppl Environ Microbiol*. 2000, Vol. 66, pp. 2682-2684.
- Kundu, P, et al. 2017.** Our Gut Microbiome. *The Evolving Inner Self. Cell*. 2017, Vol. 171, 7, pp. 1481-1493.
- Lafaurie, Lise. 2020.** Caroube. *Nutrimea*. [En ligne] 2020. [Citation : 23 July 2020.] <https://www.nutrimea.com/fr/362-caroube>.
- Lamsal, B.P et Faubion, J.M.** The Beneficial Use of Cereal and Cereal Components in Probiotic Foods. *Food Reviews International*. Vol. 25, pp. 103-114.
- Landman, C et Quévrain, E. 2016.** Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de Médecine Interne*. 2016, Vol. 37, 6, pp. 418-423.
- Leivers, S, et al. 2011.** Structure of the high molecular weight exopolysaccharide produced by *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* IPLA-R1 and sequence analysis of its putative eps cluster. *Carbohydrate Research*. 2011, Vol. 346, pp. 2710-2717.
- Mahdad, M.Yassine et Gaouar, S.B. Suheil. 2017.** *la caroubier cératonia siliqua L. dans le nord-ouest d'algerie*. s.l. : éditions universitaires européennes, 2017.
- Man, J.C, Rogosam, M et Sharpem, E. 1960.** 1, 1960, *Journal oppl. Bact.*, Vol. 23, pp. 130-135.
- Markle, JGM, et al. 2013.** Sex Differences in the Gut Microbiome Drive Hormone-Dependent Regulation of Autoimmunity. *Science*. 2013, Vol. 339, pp. 1084-1088.
- Martinez-Villaluenga, C et Gomez, R. 2007.** Characterization of bifidobacteria as starters in fermented milk containing raffinose family of oligosaccharides from lupin as prebiotic. *International Dairy Journal*. 2007, Vol. 17, pp. 116-122.
- Masco, L, Ventura, M et Zink, R. 2004.** Polyphasic taxonomic analysis of *Bifidobacterium animalis* and *Bifidobacterium lactis* reveals relatedness at the subspecies level: reclassification of *Bifidobacterium animalis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* lactis subsp. nov. . *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004, Vol. 54, pp. 113-1143.
- Mayer, EA, et al. 2014.** Gut Microbes and the Brain: Paradigm Shift in Neuroscience. *Journal of Neuroscience*. 2014, Vol. 34, 46.
- Meile, L, et al. 1997.** *Bifidobacterium lactis* sp. nov., a moderately oxygen tolerant species isolated from fermented milk. *Syst. Appl. Microbiol*. 1997, Vol. 20, pp. 57-64.

- Milliron, BJ, Woolf, K et Appelhans, BM. 2012.** Une intervention sur le lieu de vente avec une éducation en personne dans les supermarchés a une incidence sur l'achat d'aliments sains. *Journal Nutrition Education Behaviour*. 2012, Vol. 44, 3, pp. 225–232.
- Miś, A et Dziki, D. 2013.** Extensograph curve profile model used for characterising the impact of dietary fibre on wheat dough. *J Cereal Sci*. 2013, Vol. 57, pp. 471-479.
- Miś, A. 2011.** Interprétation des spectres mécaniques de la fibre de caroube et de la pâte de blé complet enrichie d'avoine à l'aide de modèles de régression non linéaire. *J Food Eng*. 2011, Vol. 102, pp. 369-379.
- Moussaoui, Badr-Eddine. 2014.** *effets des fibres de caroube sur le développement et la survie post-fermentaire des souches bénéfiques sur milieu lait ecreme*. Agronomie'd Département, Badis Ibn Abdelhamid Université MOSTGHANEM, Faculté Science de la Nature et de la Vie. Mostaganem : s.n., 2014.
- Nayak, B, Liu, RH et Tang, J. 2015.** Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains-a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015, Vol. 55, pp. 887-918.
- Neurath, Markus F. 2007.** IL-23: a master regulator in Crohn disease. *Nature Medecine*. Jan 2007, Vol. 13, 1, pp. 26-28.
- Ng, S. C, et al. 2009.** Mechanisms of action of probiotics: recent advances. . *Inflammatory bowel diseases*. 2009, Vol. 15, pp. 300-310.
- Ottman, N, Smidt, H et Belzer, C. 2012.** The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *ront Cell Inf*. 2012, Vol. 2.
- Pablo, U. Abella. 1952.** Treatment of acute infantile diarrhea with carob flour (Arobon). 1952, Vol. 41, pp. 182-187.
- Phillips, ML. 2009.** Environmental Effects on the Human Microbiota. *Environmental Health Perspectives*. 2009, Vol. 117, 5.
- Playne, M et Salminen, S. 2002.** Health benefits of probiotics : human studies and clinical trials. *Nutrafoods*. 2002, Vol. 1, 1, pp. 5-11.
- Pot, Bruno et Grangette, Corinne. 2015.** Les probiotiques : définition, sécurité et réglementation. 2015, Vol. 15, 2, pp. 300-310.
- Quezel, P et Santa, S. 1963.** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques (tome1)*. Editions du centre national de la recherche scientifique. 1963. p. 557.
- Quigley, E.M.M. 2017.** Pathophysiology, Bifidobacteria as Probiotic Organisms: An Introduction. The Microbiota in Gastrointestinal. Houston, TX, United States : s.n., 2017, pp. 125-126.
- Rabot, S. 2015.** Axe intestin-cerveau : comment le microbiote intestinal influence la réponse au stress. *Bul de l'Ac Vét de France*. 2015, Vol. 168, 3.
- Rakhis, Samia et Ladjal, Habiba. 2016.** *Etude de quelques propriétés probiotiques des quelques souches Lactobacillus isolées de lait chamelle et de chèvre*. departement de biologie, universite Abdel Hamid Ibn Badis. 2016.
- Roberfroid, M. 2001.** rebiotic: the concept revisited. *J Nutr*. 2001, Vol. 137, pp. 830-837.
- Roberfroid, M. B. 2011.** Les fibres sont-elles toutes des prébiotiques . 2011, pp. 100-104.

- Rodrigues, D, et al. 2012.** Lipolysis in probiotic and synbiotic cheese: The influence of probiotic bacteria, prebiotic compounds and ripening time on free fatty acid profiles. *Food Chemistry*. 2012, Vol. 131, pp. 1414–1421.
- Rojas-Argudo C, del Río MA, Pérez-Gago MB. 2009.** Développement et optimisation de revêtements comestibles à base de gomme de caroube (LBG) pour le stockage post-récolte des mandarines "Fortune". *Biol Technol post-récolte*. 2009, Vol. 52, pp. 227-234.
- Ruiz-Roso, Baltasar, et al. 2010.** Insoluble Carob Fiber Rich in Polyphenols Lowers Total and LDL Cholesterol in Hypercholesterolemic Subjects. 2010, Vol. 65, pp. 50-56.
- Saarela, M, et al. 2000.** Gut bacteria and health foods: the European perspective. *Int. J. Food Micr.,* 2000, Vol. 78.
- Sakakibara, H, et al. 2003.** Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits and teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, Vol. 51, pp. 571-581.
- Sanders, Mary Ellen et Veld, Jos Huis in't. 1999.** Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Springer*. 1999, Vol. 76, pp. 293–315.
- Sawakinome. 2017.** Différence entre les oligosaccharides et les polysaccharides. [En ligne] Sawakinome, 29 Juin 2017. <https://fr.sawakinome.com/articles/science/difference-between-oligosaccharides-and-polysaccharides.html#Oligosaccharides>.
- Schwartz, Andreas. 2016.** Microbiota of the Human Body || How to Manipulate the Microbiota: Prebiotics. [*Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2016, 9, pp. 119-142.
- Shah, N . P. 2000.** Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Sciences*. 2000, Vol. 83, pp. 894-907.
- Simpson, HL et Campbell, BJ. 2015.** Aliment Pharmacol Ther. *Dietary fibre-microbiota interactions*. 2015, Vol. 42, 2, p. 158.
- Sittipo, P, Shim, J et Lee, Y. 2019.** Microbial Metabolites Determine Host Health and the Status of Some Diseases. *IJMS*. 2019, Vol. 20, 21, p. 5296.
- Sour, S, Chahinez, F et Taif, A. 2019.** Beneficial effects of carob pulp (*Ceratonia siliqua*) on lipids profile and oxidant/antioxidant status in obese rats. *Agrobiologia*. 2019, Vol. 9(1), pp. 1200-1206.
- SSN. 2015.** La vitamine K. 14 Juillet 2015.
- Sugahara, H, et al. 2015.** Probiotic *Bifidobacterium longum* alters gut luminal metabolism through modification of the gut microbial community. *Nature*. 2015, Vol. 5, pp. 1-11.
- Tannock, Gerald W. 2016.** Understanding the Gut Microbiota. 16 Decembre 2016.
- Tissier, Henry . 1900.** Recherches sur la flore intestinale des nourissons (etat normal et pathologique). 1900.
- Torres, M, et al. 2017.** Groupes alimentaires et composition du microbiote intestinal chez des adultes français issus de la population générale : étude préliminaire. *Nutrition clinique et métabolism*. 2017, Vol. 31, 1, pp. 53-54.

- Turkmen, N, Sari, F et Velioglu, Y. S. 2006.** Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food Chemistry*. 2006, Vol. 99, 4, pp. 835-841.
- Turrone, F, et al. 2012.** Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota. *PLoS One*. 2012, Vol. 7.
- Turrone, Francesca , et al. 2016.** Deciphering bifidobacterial-mediated metabolic interactions and their impact on gut microbiota by a multi-omics approach. *The ISME Journal*, 09 02 2016.
- Ulluwishewa, Dulantha, et al. 2011.** Regulation of Tight Junction Permeability by Intestinal Bacteria and Dietary Components. *The Journal of Nutrition*. 2011, Vol. 141, 5, pp. 769–776.
- Vavilove, N.I. 1951.** The Origin, Variation, Immunity, and Breeding of Cultivated Plants [translated from the Russian by K.S. Chester]. 1951, pp. 186-195.
- Vieira, AT, et al. 2017.** Influence of Oral and Gut Microbiota in the Health of Menopausal Women. *Front Microbiol*. 2017, Vol. 8, p. 1884.
- Wang, Y. 2009.** Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*. 2009, Vol. 42, pp. 8-12.
- Zhang, Zili, et al. 2007.** After interleukin-12p40, are interleukin-23 and interleukin-17 the next therapeutic targets for inflammatory bowel disease. *International Immunopharmacology*. April 2007, Vol. 7, 4, pp. 409-416.
- Zhu, Bao-Jie, et al. 2019.** Functional polysaccharides of carob fruit. *a review. Chinese Medicine*. 2019, Vol. 14, p. 40.
- Zinedine, A et Faid, M. 2007.** Isolation and characterization of strains of bifidobacteria with probiotic proprieties in vitro. *World J. Dairy Food Sci*. 2007, Vol. 2, pp. 28-34.

# Annexes

---

### Annexes

En Algérie le caroubier est très négligé et n'a pas encore eu la place qu'il mérite.

Dans ce souci, nous avons fait beaucoup d'effort pour faire germer des graines de caroube et obtenir des petits caroubiers, qui sont représentés dans les figures si dessous



Nous avons réalisé des nouvelles formulations gâteaux, à base de poudre de la caroube, pour un enrichissement nutritionnel et comme succédané de la poudre de cacao, afin de pouvoir introduire ce produit dans notre alimentation quotidienne. Nos résultats été plus que satisfaisant en gout et en texture du produit fabriqué.

Voici donc deux des nouvelles préparations



Cookies 0% cacao



Cake 0% cacao