

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل-

Université de Mohamed Seddik Ben Yahia –Jijel-

Faculté des Sciences de Nature et de la Vie
Département: Microbiologie Appliquée et
des Sciences Alimentaire.



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم ميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم
التغذية

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme Master Académique en Biologie

Option : *Microbiologie appliquée*

Thème :

Les bactéries lactiques encapsulées dans l'alginate, la gomme arabique et la gomme de caroube: viabilité dans des conditions gastro-intestinales simulées et pendant la conservation

Membre de jury :

Président: M^f. Tarek Khennouf

Examineur: M^f. Yazid Rahmoune

Encadreur: M^{me} Samiya Amira

Présenté par :

Sabah Khebli

Zina Debbagh

Année Universitaire : 2017-2018

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions LE BON DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour terminer ce travail.

Nos remerciements et nos profonde gratitude s'adresse à : M^{me} Samiya Amira .Pour, avoir encadré ce travail, pour son aide, ses conseils et sa patience.

Nous voudront également exprimer nos vifs remerciements à Mr Khennouf et Mr Rahmoune d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation tout au long de ces années.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

La mémoire de mon père

Ma chère mère, qui m'a beaucoup soutenu et m'a encouragé jusqu'à la fin et que

Dieu lui accorde une longue vie.

Mon frère : Abdelhak

A toute ma grande famille.

A mon amie intime : Nihad

A toutes mes camarades de promo Microbiologie appliquée 2018.

Zina

Dédicace

Je dédie ce travail à ...

Mes chères parents, qui m'ont éclairés mon chemin et qui m'ont encouragé et soutenue toute au long de mes études...

A mes frères, mes sœurs, Mon fiancé

A toute ma famille ...

A tous mes amis (es) ...

A toute la promotion

« Microbiologie Appliquée »

A tous ceux qui sont chères.....

Sabah

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	IV
Introduction.....	1
I. Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Bactéries lactiques	
I.1/Définition.....	2
I.2/Caractéristiques générales.....	2
I.3/Classification.....	2
I.4/Les bactéries lactiques probiotiques.....	3
Chapitre II: L'encapsulation	
II.1/Définition.....	4
II.2/Principe et intérêt d'encapsulation des bactéries.....	5
II.3/Polymères nécessaires pour l'encapsulation.....	5
II.3. 1/Les polysaccharides.....	5
II.3.1.1/L'alginate de sodium.....	5
II.3.1.2/ La gomme arabique.....	6
II.3.1.3/ La gomme de caroube.....	6
II.3.1.4/L'amidon.....	7
II.3. 2/Les oligosaccharides.....	7
II.3. 3/Les lipides.....	7
II.3. 4/Les protéines.....	7
II.4/Méthodes principales d'encapsulation.....	8

II.4.1/Extrusion.....	8
II.4.2/Emulsion.....	8
II.4.3/Coacervation.....	9
II.4.4/Séchage par pulvérisation.....	10
II.4.5/Lyophilisation.....	10
II.4.6/Revêtement sur lit fluidisé.....	10
II.4.7/Encapsulation par enrobage et agglomération.....	11
II.4.8/Inclusion moléculaire.....	12
II.4.9/Encapsulation dans les liposomes.....	12
II.5/Critères de sélection d'une technologie d'encapsulation appropriée.....	13

II. Matériels et Méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Bactéries lactiques utilisées.....	14
II.1.2. Milieu de culture et réactifs.....	14
❖ Milieu de culture.....	14
❖ Réactifs.....	14
II.1.3. Équipements.....	15

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation des cellules pour l'encapsulation.....	16
II.2.2. Encapsulation des cellules dans les différentes matrices.....	16
II.2.3. Efficacité d'encapsulation.....	16
II.2.4. La morphologie des billes.....	17
II.2.5. Viabilité des cellules libres et encapsulées conservées à différentes températures.....	17
II.2.6. Viabilité des cellules encapsulées conservée dans le jus.....	17

II.2.7. Viabilités des cellules libres et encapsulée après exposition aux conditions gastro-intestinales simulées.....	17
II.2.7.1. Solution gastrique et intestinale.....	17
II.2.7.2. Expositions aux conditions gastro-intestinales simulées.....	17
III. Résultats et Discussion	
III.1. Caractérisation des billes.....	19
III.2. Effet de la conservation sur la viabilité des cellules libres et encapsulées conservées à différentes températures et après différents périodes.....	21
III.3. La viabilité des cellules encapsulées conservée dans le jus après différents périodes.....	29
III.4. La viabilité des cellules libres et encapsulée après exposition aux conditions gastro-intestinales simulées.....	31
Conclusion.....	35
Les références.....	36
Annexe	

Liste des abréviations :

ALG	Alginate
ARNr	Acide ribonucléique ribosomal
E	Encapsulée
EE	Efficacité d'encapsulation
FAO	Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
GA	Gomme arabique
GC	Gomme de caroube
GRAS	Generally Recognized As Safe
h	Heures
L	Libre
OMS	Organisation mondiale de la santé
PBS	Phosphate buffer saline
Rpm	Rotation par minute
SG	Solution gastrique
SI	Solution intestinale

Liste des figures:

Figure	page
Figure I. 1: Types de capsule.	5
Figure I. 2: Schéma représente la méthode d'extrusion.	8
Figure I. 3: Schéma représente la méthode d'émulsion.	9
Figure I. 4: Schéma représente la méthode de séchage par pulvérisation.	10
Figure I. 5: Schéma représente la méthode de revêtement sur lit fluidisé.	11
Figure I. 6: Schéma représente la méthode d'encapsulation par enrobage et agglomération.	11
Figure I. 7: Schéma représente le complexe d'inclusion moléculaire.	12
Figure I. 8: Le liposome.	13
Figure II. 1: Aspect des billes de la souche <i>Lactobacillus brevis</i> dans les différentes matrices	20
Figure II. 2: Aspect des billes de la souche <i>Lactobacillus casei</i> dans les différentes matrices.	20
Figure II. 3: Aspect des billes de la souche <i>Lactobacillus plantarum</i> dans les différentes matrices.	21
Figure II. 4: Variations du nombre de bactérie <i>Lb. brevis</i> libre et encapsulée dans l'alginate/ gomme arabique et conservées à 0°C, 4°C et 25°C au cours du temps.	22
Figure II. 5 : Variations du nombre de bactérie <i>Lb. brevis</i> libre et encapsulée dans l'alginate/ gomme de caroube conservées à 0° ,4°C et 25°C en fonction de temps.	22
Figure II. 6 : Variations du nombre de bactérie <i>Lb. brevis</i> libre et encapsulée dans l'alginate/ amidon conservées à 0° ,4°C et 25°C en fonction de temps.	23
Figure II. 7 : Variations du nombre de bactérie <i>Lb. casei</i> libres et encapsulées dans l'alginate/ gomme arabique conservées à 0°C ,4°C et 25°C au cours du temps.	24
Figure II. 8 : Variations du nombre de bactérie <i>Lb. casei</i> libre et encapsulée dans l'alginate/ gomme de caroube conservées à 0° ,4°C et 25°C en fonction de temps.	24
Figure II. 9: Variations du nombre de bactérie <i>Lb. casei</i> libre et encapsulée dans l'alginate/ amidon conservées à 0° ,4°C et 25°C en fonction de temps	25
Figure II. 10 : Variations du nombre de bactérie <i>Lb. plantarum</i> libre et encapsulée dans l'alginate/ gomme arabique conservées à 0° ,4°C et 25°C en fonction de temps.	26
Figure II. 11 : Variations du nombre de bactérie <i>Lb. plantarum</i> libre et encapsulée dans l'alginate/ gomme de caroube conservées à 0° ,4°C et 25°C en fonction de temps.	27
Figure II. 12 : Variations du nombre de bactérie <i>Lb. plantarum</i> libre et encapsulée dans	27

l'alginate/ amidon conservées à 0° ,4°C et 25°C en fonction de temps.	
Figure II. 13 : Nombre de <i>Lb. brevis</i> encapsulées et conservées dans le jus en fonction de temps.	29
Figure II. 14 : Nombre de <i>Lb. casei</i> encapsulées et conservées dans le jus en fonction de temps.	30
Figure II. 15 : Nombre de <i>Lb. plantarum</i> encapsulées et conservées dans le jus en fonction de temps.	30
Figure II. 16 : Nombre de <i>Lb. brevis</i> libres et encapsulées exposées aux conditions gastro-intestinales simulées.	32
Figure II. 17 : Nombre de <i>Lb. casei</i> libres et encapsulées exposées aux conditions gastro-intestinales simulées.	33
Figure II. 18 : Nombre de <i>Lb. plantarum</i> libres et encapsulées exposées aux conditions gastro-intestinales simulées.	33

Liste des tableaux:

Tableau	Page
Tableau II. 1: Caractérisation des billes de la souche <i>Lb. brevis</i> .	19
Tableau II. 2: Caractérisation des billes de la souche <i>Lb. casei</i> .	19
Tableau II. 3: Caractérisation des billes de la souche <i>Lb. plantarum</i> .	19

INTRODUCTION

Ces dernières années, les demandes des consommateurs pour les aliments qui contribuent directement à la santé des gens ont augmenté considérablement. La tendance actuelle est que la nourriture n'a pas seulement des fins nutritionnelles, mais elle est utilisée aussi pour prévenir les maladies liées à la nutrition et améliorer le bien-être physique et mental des consommateurs, à cet égard, les aliments fonctionnels jouent un rôle important [Lopes *et al.*, 2017].

Les aliments fonctionnels sont tous les aliments ou les boissons, consommés dans l'alimentation quotidienne peuvent apporter des avantages physiologiques particuliers, en raison de la présence de substances physiologiquement actives, c'est le cas des acides gras, des vitamines et des probiotiques [Etchepare *et al.*, 2015].

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants ; lorsqu'ils sont présents en quantité suffisante dans le tube digestif, confèrent des avantages pour la santé de l'hôte [FAO/OMS, 2002; Shori., 2017]. Ces derniers doivent demeurer viables dans les produits dans lesquels ils sont incorporés, lors de fabrication et de conservation ainsi durant leur passage dans le tractus gastro-intestinal [Gbassi et Vandamme., 2012].

Afin d'améliorer la viabilité et la stabilité des probiotiques, différentes techniques ont été proposées y compris la sélection appropriée des souches résistantes à l'acide et à la bile, l'utilisation de récipients imperméables à l'oxygène, l'adaptation au stress. Cependant, ces méthodes n'avaient que peu de succès [Li *et al.*, 2008].

Par contre, une approche attire actuellement l'attention des chercheurs : l'encapsulation qui est une technologie nouvelle qui consiste à retenir et localiser les cellules microbiennes dans une matrice, ce qui permet de protéger les cellules et d'obtenir de hautes densités de biomasse active [Li *et al.*, 2008; Kamalian *et al.*, 2014].

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est :

L'encapsulation des bactéries lactiques probiotiques par la méthode d'extrusion dans différentes matrices; alginate /gomme arabique, alginate /gomme de caroube et alginate /amidon.

L'étude de la viabilité des bactéries encapsulées et libres après exposition aux conditions gastro-intestinales simulées et aux conditions de conservation.

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. 1. Définition :

Les bactéries lactiques comprennent un groupe diversifié d'organismes ubiquitaire avec caractéristiques communes de la production d'acide lactique [Wedajo. 2015]. Elles sont largement distribuées dans différents écosystèmes et se trouvent couramment dans les aliments (produits laitiers, viandes et légumes fermentés, boissons), les eaux usées, les plantes mais aussi les voies génitales, intestinales et respiratoires de l'homme et des animaux [Savadoغو *et al.*, 2006].

I. 2/ Caractéristiques générales :

Les bactéries lactiques appartiennent au groupe de bactéries Gram positif, cocci ou bâtonnets, immobiles, asporulées, pseudocatalase ou dépourvues de catalase [Savadoغو *et al.*, 2006], préférant les conditions anaérobies mais sont aérotolérantes, sont des neutrophiles à pH optimal entre 5 et 9 mais tolérantes aux acides [Van de Guchte *et al.*, 2002; Hazal Ozyurt et Ötles., 2014], sont des mésophiles mais elles sont capables de croître dans un intervalle de températures allant de 5°C à 45°C [Caplice et Fitzgerald., 1999].

Les bactéries lactiques produisent de l'acide lactique comme produit principal de fermentation dans le milieu de culture et généralement reconnu comme non pathogènes [Suhartatik *et al.*, 2014].

Les bactéries lactiques sont généralement subdivisées en deux groupes distincts en fonction de leur métabolisme glucidique :

- Le groupe homofermentaire dégrade les hexoses en lactates, métabolite principal.
- Le groupe hétérofermentaire dégrade les hexoses en lactate et en produits additionnels tels que l'acétate, l'éthanol, le CO₂, le formiate le succinate [Hazal Ozyurt et Ötles., 2014].

I. 3/ Classification :

La classification des bactéries lactiques a été basée sur le critère morphologique, métabolique et physiologique comprenant quatre genres: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* [Savadoغو *et al.*, 2006; Quinto *et al.*, 2014].

Les méthodes actuelles utilisées pour la classification des bactéries lactiques reposent principalement sur l'analyse et le séquençage de l'acide ribonucléique ribosomal 16S (ARNr). Sur la base de ces techniques, les bactéries Gram positif sont divisées en deux groupes en fonction de leur teneur en G + C.

Les actinomycètes ont une teneur en G + C supérieure à 50% molaire et contiennent des genres tels qu'*Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium*. En revanche, la branche de *Clostridium* a une teneur en G + C inférieure à 50% molaire et comprend les genres des bactéries lactiques typiques *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* [Savadogo *et al.*, 2006]. Les bactéries lactiques se trouvent dans deux phylums distincts, à savoir Firmicutes et Actinobacteria.

Au phylum *Firmicutes*, les bactéries lactiques appartient aux *Lactobacillales* comprend les genres suivants: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Tétragénocoque*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Weissella*, *Alloïocoque*, *Symbiobacterium* et *Vagococcus* ; Au phylum *Actinobacteria*, les bactéries lactiques comprend les genres *Atopobium* et *Bifidobacterium* [Quinto *et al.*, 2014; Wedajo., 2015].

I. 4/ Bactéries lactiques probiotiques:

Les probiotiques sont des monocultures ou des cultures mixtes de micro-organismes vivants, décrits par l'organisation mondiale de santé (OMS) comme organismes vivants, qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent des avantages pour la santé de l'hôte [FAO/OMS, 2002], capables d'atteindre le gros intestin en quantités suffisantes pour permettre la colonisation et la prolifération. Il a été recommandé que les aliments contenant des bactéries probiotiques devraient être de 10^8 à 10^9 UFC/ g juste avant l'ingestion pour s'assurer qu'un minimum thérapeutique suffisant de $10^6 - 10^7$ UFC/g pourrait atteindre le côlon [Hazal Ozyurt et Ötles., 2014 ; Etchepare *et al.*, 2015].

Les principaux effets bénéfiques sur la santé liés à la consommation des bactéries lactiques probiotiques sont: le soutien de la microflore intestinale indigène (effet antagoniste), soulagement de la constipation, réduction des diarrhées [Hazal Ozyurt et Ötles., 2014; Suhartatik *et al.*, 2014 ; Papadimitriou *et al.*, 2016], stimulation du système immunitaire , synthèse des vitamines agissant comme agents antimicrobiens, amélioration d'absorption du calcium dans le côlon [Anal et Singh., 2007; Riaz et Masud., 2013; Al –Furaih *et al.*, 2016], soulagement des symptômes de l'intolérance au lactose, abaissement du cholestérol de plus ont des propriétés anticancérigènes [Zanjani *et al.*, 2018].

Les espèces appartenant à *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* sont largement utilisées comme probiotiques. Ces derniers comprennent les genres *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus* et *Streptococcus*[Riaz et Masud., 2013; Hazal Ozyurt et Ötles., 2014].

Les bactéries probiotiques sont sensibles aux conditions physico-chimiques difficiles, à partir de la fabrication au stockage jusqu'à la consommation finale ; comme le pH faible, la post-acidification pendant la fermentation des produits, l'acidité élevée, le traitement thermique, température de stockage [Gbassi et Vandamme., 2012], de plus les probiotiques sont exposées aux conditions gastro-intestinales (le pH acide du suc gastrique(1- 2,5), les sécrétions biliaires du liquide intestinal, des enzymes digestives (pepsine), le stress osmotique, l'oxygène, le peroxyde d'hydrogène et les acides gras à chaîne courte, [Kailasapathy., 2002; Riaz et Masud., 2013; Damodharan et al., 2017], C'est pourquoi les techniques d'encapsulations sont développées.

II. 1/ Définition :

L'encapsulation est le revêtement d'une substance dans une autre substance, produisant des particules au nanomètre (nanoencapsulation), au micromètre (microencapsulation) ou à l'échelle millimétrique [Ré., 1998; Gharsallaoui., 2007; Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013]. La substance encapsulée est habituellement appelée matériau de noyau, agent actif, agent de charge, phase interne ou phase de charge utile, généralement un liquide, mais peut être un solide ou un gaz [Ré., 1998; Gibbs et al., 1999; Gharsallaoui., 2007].

La substance utilisée pour encapsuler est appelée membrane de revêtement, capsule, enveloppe, matériau de support ou de paroi, phase externe ou matrice. Dans le cas de la lyophilisation appelées cryoprotecteurs [Gibbs et al., 1999; Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].

Différents types d'encapsulation (**Figure I. 1**) pourraient être caractérisés :

- ✓ L'encapsulation simple a une couche autour du matériau de noyau de forme sphérique ou irrégulière [Gibbs et al., 1999; Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].
- ✓ Le type de capsule a l'agent actif dispersé dans la même structure de paroi et peut également être trouvé sur la surface [Gibbs et al., 1999]. Une combinaison de ces deux types donne une troisième matrice, dans laquelle l'agent actif est une capsule recouverte d'une couche supplémentaire ou plusieurs de la même composition ou variables [Gibbs et al., 1999; Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].



Figure I. 1: Types de capsule [Gibbs et *al.*, 1999; Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].

II. 2/ Principe et intérêt d'encapsulation des bactéries :

La plupart des technologies d'encapsulation sont basées sur l'immobilisation des bactéries dans une matrice qui reste inchangée pendant une période appropriée [Cook et *al.*, 2012].

Parlant d'applications biotechnologiques, l'encapsulation agit comme une barrière physique pour protéger les bactéries contre les conditions environnementales défavorables, améliore leur viabilité et leur efficacité dans les produits alimentaires, de plus la libération ciblée des probiotiques est un autre intérêt [Gibbs et *al.*, 1999; Burgain., 2011; Etchepare et *al.*, 2015; Damodharan et *al.*, 2017].

II. 3/ Polymères utilisés pour l'encapsulation :

Les matériaux d'encapsulation utilisés dans les produits ou les procédés alimentaires peuvent être naturels ou synthétiques [Jankowski et *al.*, 1997], sans danger pour la consommation (GRAS : Generally Recognized As Safe) , forment une barrière entre l'agent actif et son environnement pour protéger les bactéries probiotiques des dommages causés par des facteurs externes et enfin être rentables [Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].

II. 3. 1/ Les polysaccharides :

L'alginate de sodium, le carraghénane, la gomme arabique, le chitosane, les dextrans, l'amidon, l'agar et la cellulose sont les principaux supports utilisés pour l'encapsulation [Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].

II. 3. 1. 1/ L'alginate de sodium :

L'alginate de sodium est le matériau le plus couramment utilisé, c'est un copolymère amorphe linéaire non ramifié composé d'acide β -D-manuronique (M) et d'acide α -L-guluronique (G) lié par 1- 4 liaisons [Li et *al.*, 2008; Kamalian., 2014]. Les unités M et G sur les alginates peuvent être

arrangées de manière aléatoires ou organisées en séquences hétérogènes ou homogènes. La composition chimique et la distribution d'une séquence d'alginate de sodium dépendent des espèces et des parties d'algues utilisées dans l'extraction [Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].

L'alginate de sodium est largement utilisé comme agent gélifiant, en raison de sa capacité à former des hydrogels avec des cations divalents, tels que Ca^{+2} , Ba^{+2} , Sr^{+2} dans des conditions modérées. L'hydrogel est formé parce que les blocs d'acide guluronique se lient aux cations, ce qui résulte en un réseau tridimensionnel de filaments d'alginate qui sont maintenus ensemble avec des interactions ioniques [Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].

L'alginate de sodium est de faible coût, facile à manipuler, capable de former une matrice hautement polyvalente, biocompatible et non-toxique pour la protection des composants actifs, et des cellules sensibles à la chaleur, au pH, à l'oxygène et d'autres facteurs dans lesquels les aliments sont exposés pendant son traitement et son stockage [Etchepare et al., 2015]. L'alginate de sodium se caractérise par la réversibilité de l'encapsulation c'est-à-dire la solubilisation de gel d'alginate par la séquestration avec les ions de calcium, et la libération possible de cellules encapsulées dans l'intestin de l'homme [Li et al., 2008].

II. 3. 1. 2/ La gomme arabique :

La gomme arabique est un polysaccharide complexe chargée négativement, largement utilisée dans l'industrie en raison de sa grande solubilité et sa faible viscosité à des concentrations élevées. Populaire dans le secteur pharmaceutique en raison de ses propriétés physiques (non-toxique, hautement soluble, pH stable) [Espinosa-Andrews et al., 2007; Mohamed et al., 2017].

La gomme arabique (GA) est un exsudat d'arbre d'*Acacia Senegal* c'est un arabinogalactan [Espinosa-Andrews et al., 2007]. Sa chaîne principale est composée d'unités β -D-galactopyranosyle liées en 1,3 et la chaîne latérale sont jointes à la chaîne principale par 1,6- liaison. Les deux chaînes principales et latérales comprennent α -L-arabinofuranosyle, α -L-rhamnopyranosyle, β -D-glucuronopyranosyle et 4-O-méthyl- β -D-glucuronopyranosyle [Mohamed et al., 2017].

II. 3. 1. 3/ La gomme de caroube :

La gomme de caroube est un polysaccharide cationique et naturel utilisé pour améliorer la stabilité des billes d'alginate [Dakiaa et al., 2008 ; Damodharan et al., 2017]. La gomme de caroube est un polysaccharide de galactomannane, poudre blanche à jaunâtre, presque inodore obtenu à partir de la

graine de l'endosperme du caroubier (*Ceratonia siliqua*) de la famille des plantes de *Leguminosae* [Meunier et al., 2014]. Les unités de galactomannane sont constituées d'une chaîne linéaire de motifs β -D-mannopyranosyle (mannopyranose) (1 à 4) avec des résidus α -D galactopyranosyle (galactopyranosyl) (1-6) en tant que chaînes latérales [Casas et García-Ochoa., 1999; Meunier et al., 2014]. La gomme de caroube est capable de produire des solutions aqueuses a haute viscosité [Ruiz et al., 2002]; légèrement soluble dans l'eau froide entièrement soluble lorsque elle est chauffée à environ 80 °C [Casas et García-Ochoa., 1999].

II. 3. 1. 4/ L'amidon :

L'amidon est un polysaccharide généralement transparent, inodore, insipide et incolore constitué d'un grand nombre d'unités de D-glucose réunies par des liaisons glucosidiques. Les granules d'amidon contiennent l'amylose et l'amylopectine, qui peut former des solutions et des gels. L'amylose est une molécule peu ramifiée principalement constituée des liaisons α (1-4) [Rokka et Rantamäki., 2010; Bourgain et al., 2011 ; Pavli et al., 2018].

II. 3. 2/ Les oligosaccharides :

Le sirop de maïs, le saccharose et la maltodextrine sont couramment utilisés comme oligosaccharides pour encapsuler les bactéries lactiques [Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].

II. 3. 3/ Les lipides :

Les lipides utilisés comprennent les cires naturelles, les huiles végétales et les acides gras. Ces composés présentent certains inconvénients concernant leur application, montrant des instabilités mécaniques et chimiques ainsi qu'une diminution de la qualité organoleptique c'est pourquoi sont généralement combinés avec d'autres matériaux tels que les polysaccharides et les protéines [Pavli et al., 2018].

II. 3. 4/ Les protéines :

Le gluten, la caséine, les protéines de lactosérum, l'albumine, sont les protéines d'encapsulation les plus utilisées [Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].

II. 4/ Méthodes Principales d'encapsulation :

II. 5. 1/ Extrusion :

La gélification ionique externe se produit en utilisant la technique d'extrusion (**Figure I. 2**), et elle peut être faite dans des conditions aérobies et anaérobies. Dans cette technique, les microorganismes sont ajoutés à une solution hydrocolloïde comme l'alginate et sont immédiatement extrudée sous forme des gouttelettes par une seringue dans une solution d'un agent de réticulation tels que de chlorure de calcium [**De Vos et al., 2010**].

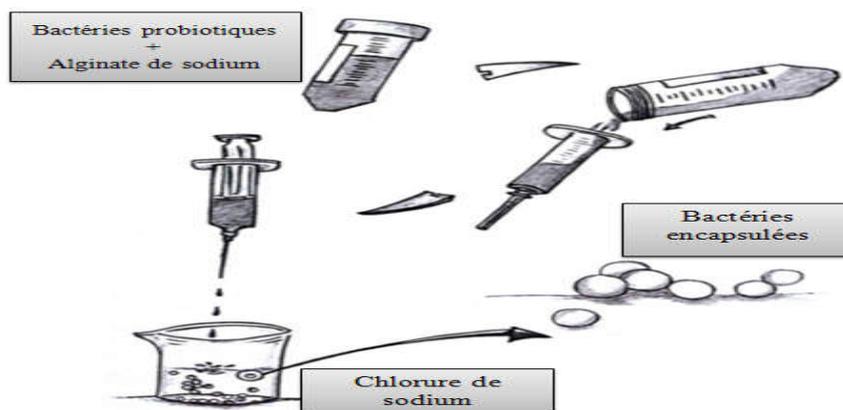


Figure I. 2: Schéma représente la méthode d'extrusion [**Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013**].

L'interaction des ions, tels que Ca^{+2} , avec les groupes carboxyle des polymères de l'alginate conduit à la formation d'un gel insoluble, les particules tridimensionnelles produites par extrusion présentent typiquement des diamètres allant de 500 μm à 3 mm [**Etchepare et al., 2015**].

La taille des particules formées dépend de la taille du diamètre de l'aiguille utilisée pour égoutter la solution, la viscosité et la concentration de la solution d'alginate, outre la distance entre la seringue et la solution de chlorure de calcium [**Rathore et al., 2013; Riaz et Masud., 2013**], une concentration et une viscosité plus élevées de la solution d'encapsulation donnent des perles plus petites [**Riaz et Masud., 2013**].

II. 5. 2/ Emulsion :

La technique par émulsion fait par la dispersion d'une phase aqueuse de cellules/polymère (phase discontinue) dans une solution d'un plus grand volume d'huile végétale (phase continue) telle que l'huile de soja, l'huile de tournesol, qui entraîne la formation d'eau dans l'émulsion d'huile [**Rathore et al., 2013; Hazal Ozyurt et Ötles., 2014**].

Le durcissement des capsules résulte par abaissement de température ou par l'addition sous agitation magnétique d'une solution gélifiant telle que le chlorure de calcium (**Figure I. 3**). Par la suite, la gélification est initiée en réduisant le pH on utilise un acide liposoluble [**Etchepare et al., 2015**], la taille des billes résultants est influencée par la concentration et la viscosité du mélange d'encapsulation avant gélification, la vitesse d'agitation, et le type d'émulsifiant utilisé [**Riaz et Masud., 2013**].

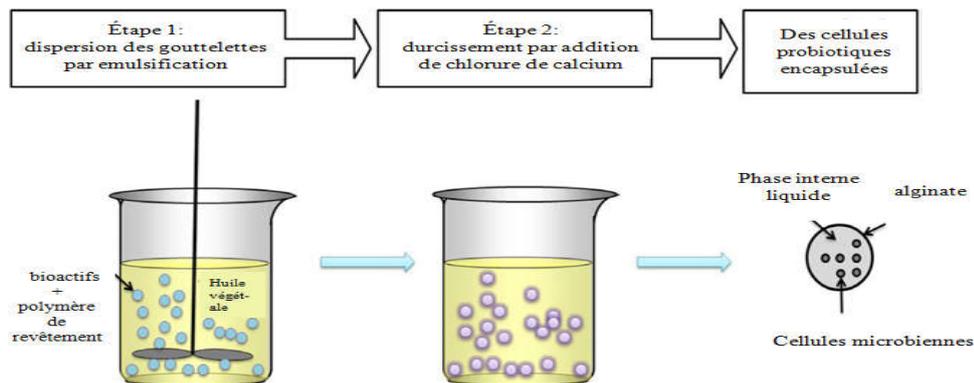


Figure I. 3: Schéma représente la méthode d'émulsion [**Burgain., 2011**].

II. 5. 3/ Coacervation :

Par définition, la coacervation est une technologie d'émulsification modifiée [**De Vos et al., 2010**] ; c'est une séparation de phase liquide-liquide [**Rokka et Rantamäki., 2010**], peut être classée en deux types:

- La coacervation simple avec seulement un soluté colloïdal tel que la gélatine.
- Le processus de coacervation complexe a deux polymères chargés différemment [**Gibbs et al., 1999; Aloys et al., 2016**], se fait en trois étapes comprenant la séparation de phase, le dépôt et la solidification.

Dans la première étape, le matériau de revêtement contenant des polymères de charge opposée, généralement des protéines et des polysaccharides passe par un processus de séparation de phase et forme un coacervat qui peut former un film / revêtement autour du matériau cible qui doit être encapsulé [**Weinbreck et al., 2004**].

Finalement, la solidification du matériau de revêtement est effectuée par réticulation en utilisant une méthode chimique, thermique ou enzymatique, les microparticules formées sont ensuite collectées par filtration ou centrifugation suivie d'un séchage [**Solanki et al., 2013**]. La taille de la capsule et

ses caractéristiques peut être modifié en changeant le pH, la concentration en ions, le rapport de matériau de revêtement et le composant bioactif, et le type de matrice [Rathore *et al.*, 2013].

II. 5. 4/ Séchage par pulvérisation :

Le séchage par pulvérisation est une technique appropriée pour les applications industrielles à grande échelle. Une suspension bactérienne est homogénéisée avec le matériau d'encapsulation à un rapport de 1/4. Le mélange est ensuite introduit dans un atomiseur et atomisé à l'aide d'une buse et le solvant est évaporé après être entré en contact avec de l'air chaud ou du gaz (Figure I. 4) [Gibbs *et al.*, 1999; Gharsallaoui., 2007; Rajam *et al.*, 2012; Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].

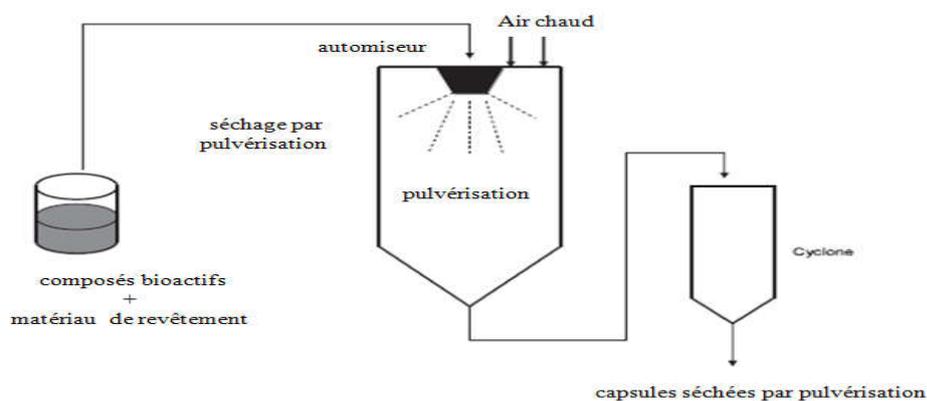


Figure I. 4: Schéma représente la méthode de séchage par pulvérisation [De Vos *et al.*, 2010].

II. 5. 5/ Lyophilisation :

La lyophilisation est réalisée en congelant le probiotique avec le matériau support (typiquement entre -30 et -20°C), suivie par une sublimation (évaporation) de l'eau sous vide à une pression absolue comprise entre 0,05 et 0,1 mBar et une température entre -50 et -30 °C.

Une fois lyophilisés, les cryoprotecteurs sont ajoutés pour préserver et stabiliser l'activité probiotique pendant le stockage. Les cryoprotectants les plus courants sont le lactose, le tréhalose, le sorbitol, le saccharose, les protéines du lait et le lait écrémé [Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013].

II. 5. 6/ Revêtement sur lit fluidisé :

La méthode consiste à suspendre la suspension bactérienne dans l'air et les molécules de matrice sont pulvérisées sur les composants bioactifs (les graisses, des protéines, des glucides et des émulsifiants) cela forme une capsule (figure I. 5). En outre, il est utile d'appliquer un couche

supplémentaire de molécule pour une libération ciblée dans l'intestin [De Vos et al., 2010; Nedovic et al., 2011].

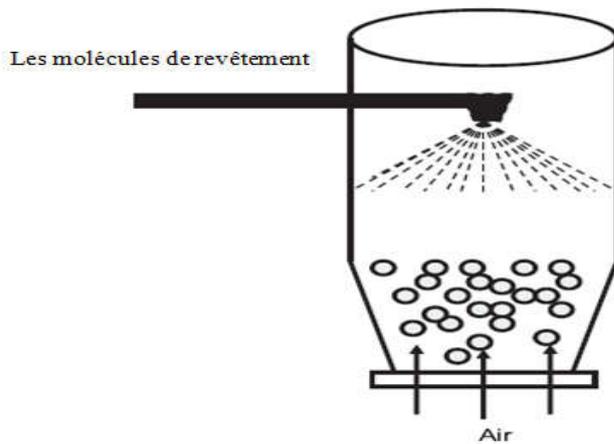


Figure I. 5: Schéma représente la méthode de revêtement sur lit fluidisé [De Vos et al., 2010].

II. 5. 7/ Encapsulation par enrobage et agglomération :

Dans cette méthode, la forme solide du matériau de base est maintenue en mouvement dans un récipient spécialement conçu [Solanki et al., 2013].

Un matériau de revêtement liquide est pulvérisé sur le matériau du noyau et se solidifie pour former une couche à la surface. Le matériau de revêtement liquide peut être injecté à partir de nombreux angles sur le matériau du noyau (Figure I. 6) [Burgain et al., 2011].

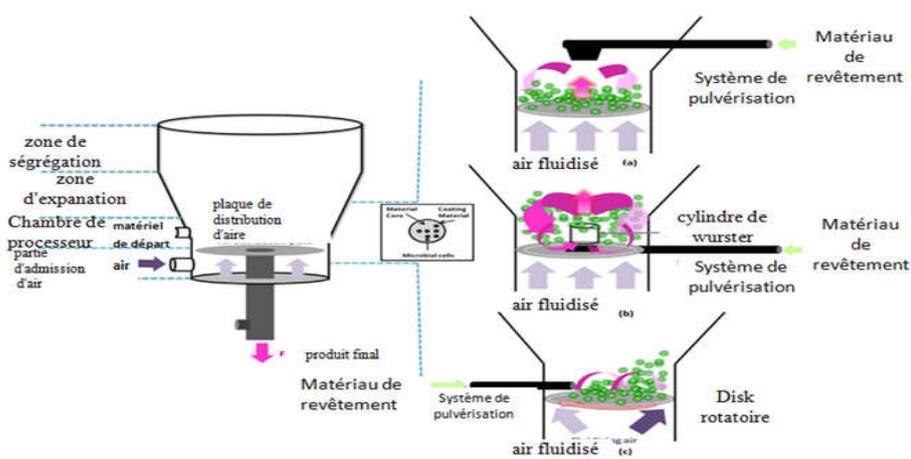


Figure I. 6: Schéma représentant la méthode d'encapsulation par enrobage et agglomération [Burgain et al., 2011].

II. 5. 8/ Inclusion moléculaire :

Encapsulation de bioactifs par inclusion moléculaire implique généralement leurs inclusions dans les molécules de cyclodextrine (**Figure I. 7**), ce dernier est utilisé puisque le centre est hydrophobe alors que la surface est hydrophile. Le bioactif est encapsulé dans la cavité intérieure lipophile dans un environnement aqueux [**Trifković et al., 2016**]. Le complexe puis précipite hors de la solution. Seule l'eau peut servir comme le milieu de suspension. Le précipité est récupéré et séché par des moyens conventionnels [**Gibbs et al., 1999; Nedovic et al., 2011**].

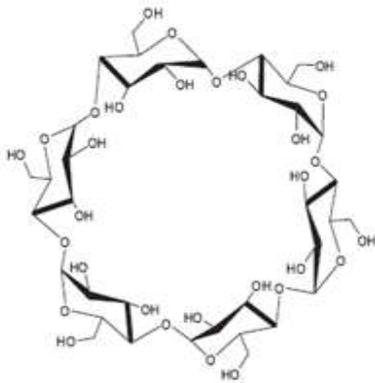


Figure I. 7 : Schéma représentant le complexe d'inclusion moléculaire [**De Vos et al., 2010**].

II. 5. 9/ Encapsulation dans les liposomes :

Un type de capsules avec des propriétés plus polyvalentes et moins de fragilité que ceux faits de graisse sont les liposomes. Ils consistent en une ou plusieurs couches de lipides non toxiques. Les phospholipides constituent la couche externe c'est les couches de liposomes. La partie hydrophile des lipides est orientée vers la phase aqueuse et les groupes hydrophobes associés avec les groupements hydrophobes d'autres molécules lipidiques. Le pliage de la feuille lipidique donne une capsule sphérique très stable due à l'absence d'interaction des lipides avec l'eau.

Les matériaux aqueux ou liposolubles (pas les deux), sont piégés dans ces membranes (**Figure I. 8**) [**Gibbs et al., 1999; Trifković et al., 2016**].

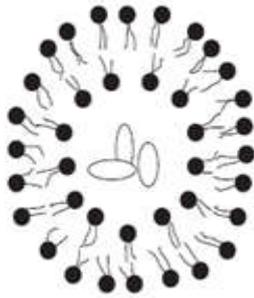


Figure I.8 : Le liposome [De Vos et *al.*, 2010].

II. 6/ Critères de sélection d'une technologie d'encapsulation appropriée:

Quand on choisit l'encapsulation comme technologie pour fournir les avantages désirés, on devrait prendre les paramètres suivants :

- Les caractéristiques physicochimiques d'agent actif et du matériau d'encapsulation.
- Les applications du matériau encapsulé.
- Les conditions de traitement utilisées pendant la production ou la transformation des aliments, les conditions de stockage du produit alimentaire contenant les encapsulats avant leur utilisation.
- La taille des particules, la densité nécessaire pour l'incorporer correctement dans le produit alimentaire.
- Les contraintes de coûts et le (s) déclencheur (s) et mécanisme (s) de libération [Ré. 1998; Serna-Cock et Vallejo-Castillo., 2013; Solanki et *al.*, 2013].

II. MATERIEL ET METHODES

Notre travail à été réalisé au laboratoire de la Microbiologie de l'université Mohamed Seddik Ben Yahia / Jijel pendant la période d'Avril- juin 2018.

II. 1. Matériel

II. 1. 1. Les bactéries lactiques utilisées

Trois souches bactériennes isolées et purifiées précédemment par M^{me} Samiya Amira de fromage Klila (fromage traditionnel algérien) ont été utilisées :

Lactobacillus brevis (B1).

Lactobacillus casei (KBM₂).

Lactobacillus plantarum (B10).

II. 1. 2. Milieu de culture et réactifs

❖ Milieu de culture :

Milieu MRS (De Man, Rogosa, Sharpe) bouillon et gélose préparée fraîchement au niveau de laboratoire.

❖ Réactifs :

Solution tampon (PBS) 0,5M. pH : 7,4 (NaH₂PO₄, Na₂HPO₄).

Polymères mixtes : Alginate (1%), gomme arabique (1%).

Alginate (1%), gomme de caroube (1%).

Alginate (2%), amidon (1%).

Chlorure de calcium (0,5M).

Citrate de sodium (5%).

HCl.

NaOH.

Eau physiologique 0,9%.

Eau distillée.

Pepsine à 0,3 %.

Sels biliaires à 0,6 %.

Pancréatine à 0,1%.

Boisson d'ananas UHT (N'GAOUS).

II. 1. 3. Équipements :

Autoclave (Slli AVX électronique).

Agitateur magnétique (BUNSEN).

Bain marie (Gerhardt Bonn).

Balance (Scout Pro).

Balance analytique (Kern ALS 220.4N).

Barreau magnétique.

Bec Bunsen.

Centrifugeuse (HETTICH ZENTRIFUGEN).

Cellule de Malassez.

Étuves (Memmert).

Incubateur agitateur (INFORS HT Ecotron).

Microscope optique (OLYMPUS OPTICAL CHK2-F-GS).

Microfiltres (0,45µm, 0,22mm).

Micropipette(Spinreact).

pH-mètre (HANNA instrument).

Pied à coulisse numérique

Seringue (2,5ml).

Vortex (Heidolph).

II. 2. Méthodes :

La pureté des trois souches utilisées dans ce travail a été testée par :

Inoculation sur gélose MRS à partir du bouillon MRS et incubation à 37°C pendant 24 h.

Étude microscopique (état frais, coloration de Gram).

Réalisation des tests enzymatique d'orientation rapides (test de catalase).

- On peut conclure que les souches sont pures lorsque les colonies sont de même forme, taille et couleur.

II. 2. 1. Préparation des cellules pour l'encapsulation :

Après repiquage successive des souches dans le bouillon MRS et incubation à 37°C pendant 24 h, les cellules bactériennes sont récupérées par centrifugation à 6000 rpm / min pendant 15 minutes. Le culot est lavé avec de l'eau physiologique puis suspendue dans 10 ml d'eau physiologique pour obtenir un nombre de $\sim 10^{10}$ - 10^{11} UFC / ml après standardisation en mesurant l'absorbance à 600 nm (DO=1, 6) [Al-Furaih *et al.*, 2016].

II. 2. 2. Encapsulation des cellules dans les différentes matrices :

L'encapsulation des bactéries a été réalisée par le mélange de 10 ml de la suspension bactérienne avec 40 ml de polymères d'une concentration égale à 2%, le mélange est immédiatement extrudée sous forme des gouttelettes par une seringue (2,5ml) dans une solution de chlorure de calcium froide (200ml) de concentration de 0,5 M sous une douce agitation pendant 30 min. Les billes ainsi formées sont récupérées et conservées à 4°C [De prisco *et al.*, 2015].

II. 2. 3. Efficacité d'encapsulation :

L'efficacité d'encapsulation a été déterminée par l'énumération des cellules dans le CaCl₂ utilisée pour l'encapsulation et cela sur gélose MRS et à l'aide de la cellule de Malassez.

Le rendement d'encapsulation (EE) a été calculé comme suit:

$$EE = (N / N_0) \times 100$$

Où N est le nombre de cellules viables libérées par microcapsules.

N₀ est le nombre de cellules libres ajoutées aux matériaux de revêtement pendant le processus d'encapsulation [Chun *et al.*, 2014].

II. 2. 4. La morphologie des billes :

La forme des billes obtenues en utilisant les conditions d'encapsulation décrites ont été caractérisées et la taille des billes été mesurée par le pied à coulisse numérique.

II. 2. 5. La viabilité des cellules libres et encapsulées conservées à différentes températures:

La méthode de **De prisco *et al.*, 2015** à été appliquée avec quelques modifications; 1g des billes dans 9 ml d'eau physiologique et 1ml de cellules libres ont été conservée à 0°C, 4°C et 25°C pendant 28 jours.

Les taux de survie des cellules libres et encapsulées ont été évalués par énumération sur gélose MRS et par dénombrement avec la cellule de Malassez après 1,7, 14, 21 et 28 jours.

II. 2. 6. La viabilité des cellules encapsulées conservée dans le jus :

La viabilité des bactéries encapsulées a été évaluée par la conservation de 1g des billes dans 9 ml de jus d'ananas. Le taux de survie des cellules encapsulées était évalué par énumération sur gélose MRS et à l'aide de cellule de Malassez après 1, 7, 14, 21 et 28 jours [**Chaikham *et al.*, 2015**].

II. 2. 7. La viabilité des cellules libres et encapsulée après exposition aux conditions gastro-intestinales simulée :

II. 2. 7. 1. La préparation de solution gastrique et intestinale :

La méthode de **Damodharan *et al.*, 2017** a été adoptée avec quelques modifications; la solution gastrique simulée a été préparé en dissolvant la pepsine 0,3% dans une solution gastrique de base (**voir annexe**; Tableau 3). Le jus intestinal simulé a été préparé en dissolvant 0,6% des sels biliaires et 0,1% de la pancréatine dans la solution intestinale (**voir annexe**; Tableau 2). Les solutions gastriques et intestinales sont finalement stérilisées à travers des microfiltres (0,22mm).

II. 2. 7. 2. Expositions aux conditions gastro-intestinales simulées :

Le traitement des bactéries encapsulées avec la solution gastrique et intestinale a été fait par le mélange de 1 g des billes et de 1 ml de la suspension bactérienne avec 9 ml de solution gastrique (pH 2) puis incubation à 37 ° C pendant 2h dans l'incubateur agitateur. Par la suite, la solution gastrique a été remplacée par 9 ml de la solution intestinal et le mélange a été encore incubé jusqu' a 4 h.

Le dénombrement a été effectué après 2h et après 4h d'incubation pour les billes et pour les bactéries libres. les billes ont été dissoutes dans le PBS ou dans le citrate de sodium [**De prisco et al., 2015**].

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III. 1. Caractérisation des billes :

L'encapsulation des trois souches bactériennes par la méthode d'extrusion dans les mixtures de polymères a donné des billes de différentes formes et tailles. Ces caractéristiques sont mentionnées dans les tableaux suivants :

Tableau II. 1: Caractérisation des billes de la souche *Lb. brevis*.

Bactérie	Matrice d'encapsulation	Forme des billes	Nombre des billes dans 1 g	Poids moyen des billes (mg)	Diamètre des billes (mm)	Efficacité d'Encapsulation (EE) (%)
<i>Lb. brevis</i>	Alginate/GA	Irrégulière	101	5.2	1,3	99,8
	Alginate/GC	Elliptique	58	15.7	2,45	98,8
	Alginate/Amidon	Sphérique	178	3.7	1,45	100

Tableau II. 2 : Caractérisation des billes de la souche *Lb. casei*.

Bactérie	Matrice d'encapsulation	Forme des billes	Nombre des billes dans 1 g	Poids moyen des billes	Diamètre des billes (mm)	Efficacité d'Encapsulation (EE) (%)
<i>Lb. casei</i>	Alginate/GA	Irrégulière	96	5	1,72	100
	Alginate/GC	Elliptique	63	11.2	1,18	99,8
	Alginate/Amidon	Sphérique	143	4.8	1,33	100

Tableau II. 3 : Caractérisation des billes de la souche *Lb. plantarum*.

Bactérie	Matrice d'encapsulation	Forme des billes	Nombre des billes dans 1 g	Poids moyen des billes	Diamètre des billes (mm)	Efficacité d'Encapsulation (EE) (%)
<i>Lb. plantarum</i>	Alginate/GA	Irrégulière	170	4.1	1,66	99,8
	Alginate/GC	Elliptique	78	11.5	2,3	99,6
	Alginate/Amidon	Sphérique	131	6.4	1,57	100

L'aspect des billes résultantes est présenté dans les figures : II. 1, II. 2, II. 3.

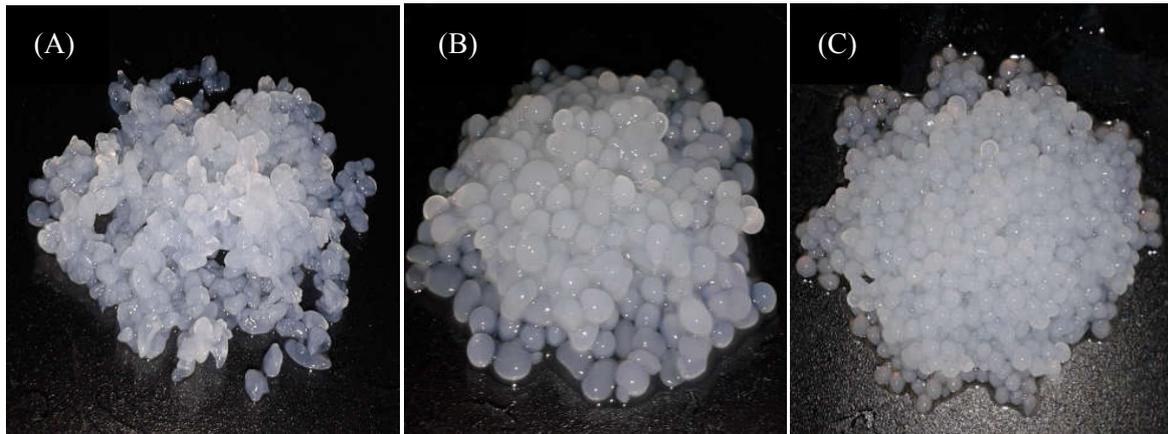


Figure II. 1. Aspect des billes de la souche *Lb. brevis* dans les différentes matrices.

((A): *Lb. brevis* encapsulée dans l'alginate/gomme arabique, (B): *Lb. brevis* encapsulée dans l'alginate /gomme de caroube, (C): *Lb. brevis* encapsulée dans l'alginate /amidon).

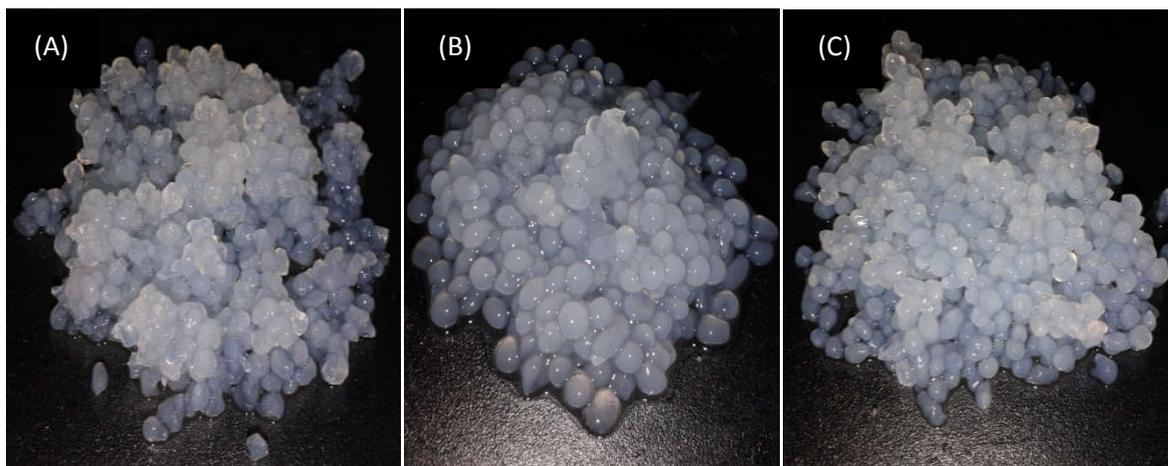


Figure II. 2. Aspect des billes de la souche *Lb. casei* dans les différentes matrices.

((A): *Lb. casei* encapsulée dans l'alginate/gomme arabique, (B): *Lb. casei* encapsulée dans l'alginate /gomme de caroube, (C): *Lb. casei* encapsulée dans l'alginate /amidon).

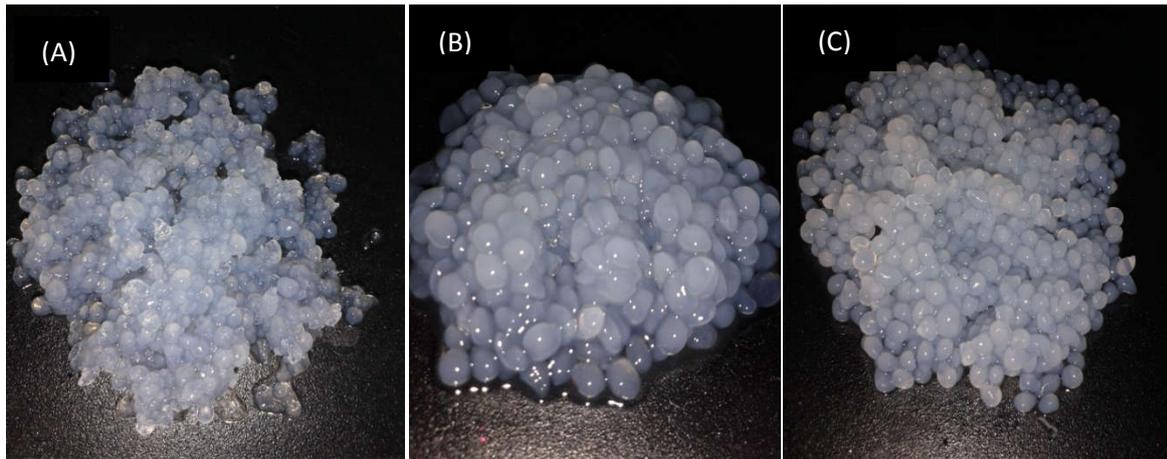


Figure II. 3. Aspect des billes de la souche *Lb. plantarum* dans les différentes matrices.

((A): *Lb. plantarum* encapsulée dans l'alginate/gomme arabique, (B): *Lb. plantarum* encapsulée dans l'alginate /gomme de caroube, (C): *Lb. plantarum* encapsulée dans l'alginate /amidon).

Les billes obtenues sont homogènes pour chaque polymère ceci correspond aux résultats de **Ouled-Haddar et al., 2016** qui lorsqu'ils ont fait l'encapsulation de *Lactobacillus plantarum* avec différentes combinaisons de polymères, ils ont obtenues des billes homogènes avec quelques variations due à des facteurs physiques tels que la concentration, la viscosité, et la densité de polymère utilisée.

III. 2. Effet de la conservation sur la viabilité des cellules libres et encapsulées conservées à différentes températures et après différents périodes :

Les cellules encapsulées et les cellules libres des trois souches *Lb. brevis*, *Lb. casei* et *Lb. plantarum* ont été conservées à température ambiante 25 °C et à 4° C ainsi à 0°C pendant 28 jours. La survie des cellules encapsulées et des cellules libres a été suivie est représentée dans les **figures** suivantes.

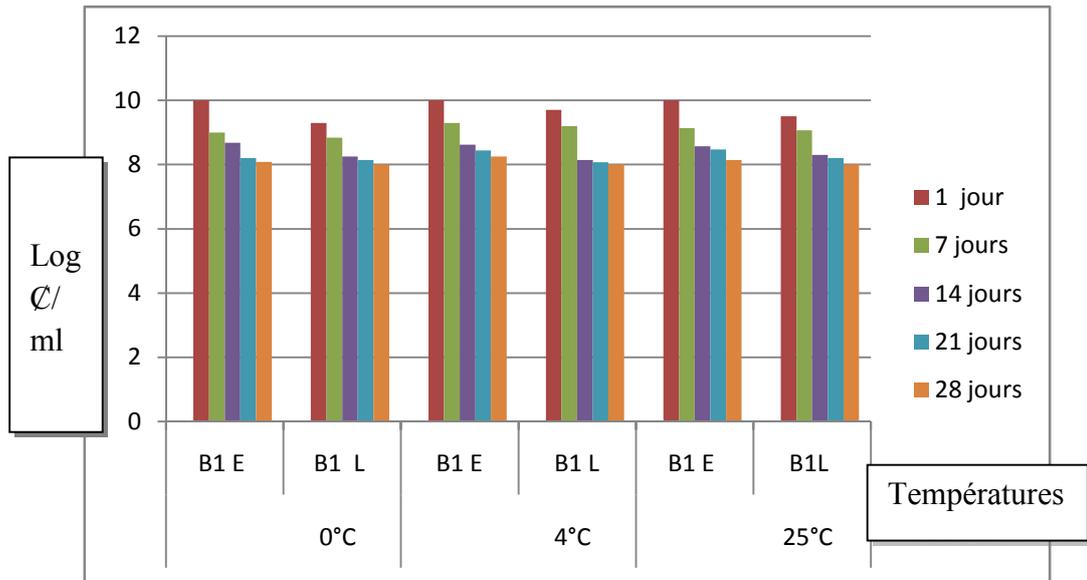


Figure II. 4. Variations du nombre de bactérie *Lb. brevis* libre et encapsulée dans l’alginate/ gomme arabique et conservées à 0°C, 4°C et 25°C au cours du temps.

La **figure II. 4.** Montre que le nombre des cellules libres testées a diminué progressivement de 9 Log CFU/ml à 8 Log CFU/ml dès le 1^{er} jour jusqu’ a le 28^{ème} jours. D’autre part, les bactéries lactiques encapsulées conservées le 1^{er} jour ont donné 10 Log CFU/ml puis ont diminués pendant les 28 jours suivant pour donner environ 8,15 Log CFU/ml.

La survie des cellules *Lb. brevis* libres et encapsulées dans l’alginate/ gomme de caroube conservées à différentes températures est représentée dans la **figure II. 5.**

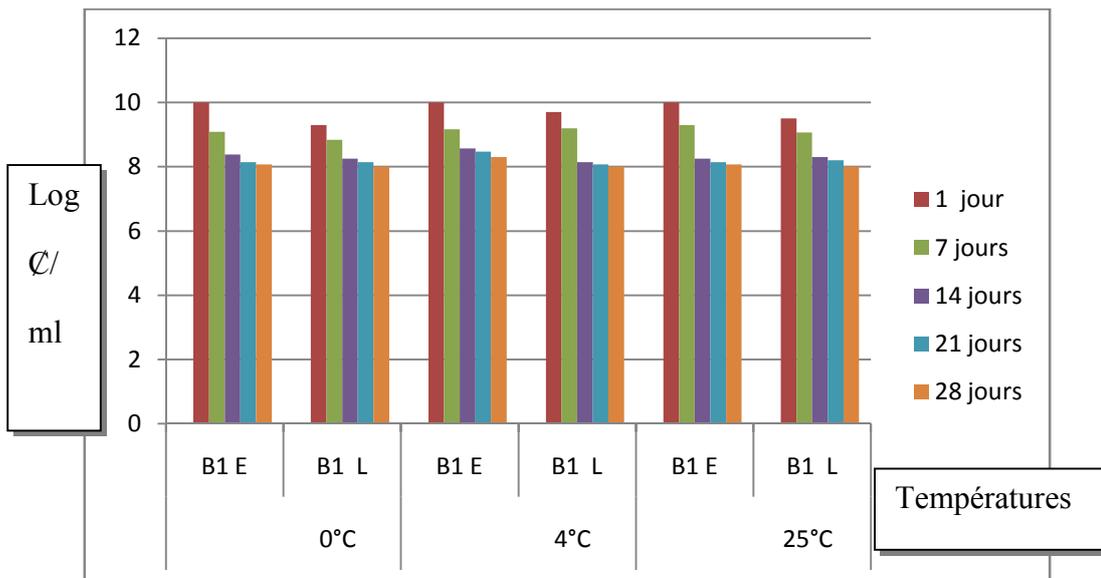


Figure II. 5. Variations du nombre de bactérie *Lb. brevis* libre et encapsulée dans l’alginate/ gomme de caroube conservées à 0°C, 4°C et 25°C au cours du temps.

La **figure II. 5.** Montre que le nombre des cellules libres a diminuée de 9,5 Log \mathcal{C}/ml à 8 Log \mathcal{C}/ml pendant la durée de conservation. En revanche, les cellules encapsulées montrent une meilleure résistance à 4°C avec 8,3 Log \mathcal{C}/ml .

La survie des cellules B1 libres et encapsulées dans l'alginate/ amidon conservées à différentes températures est représentée dans la **figure II. 6.**

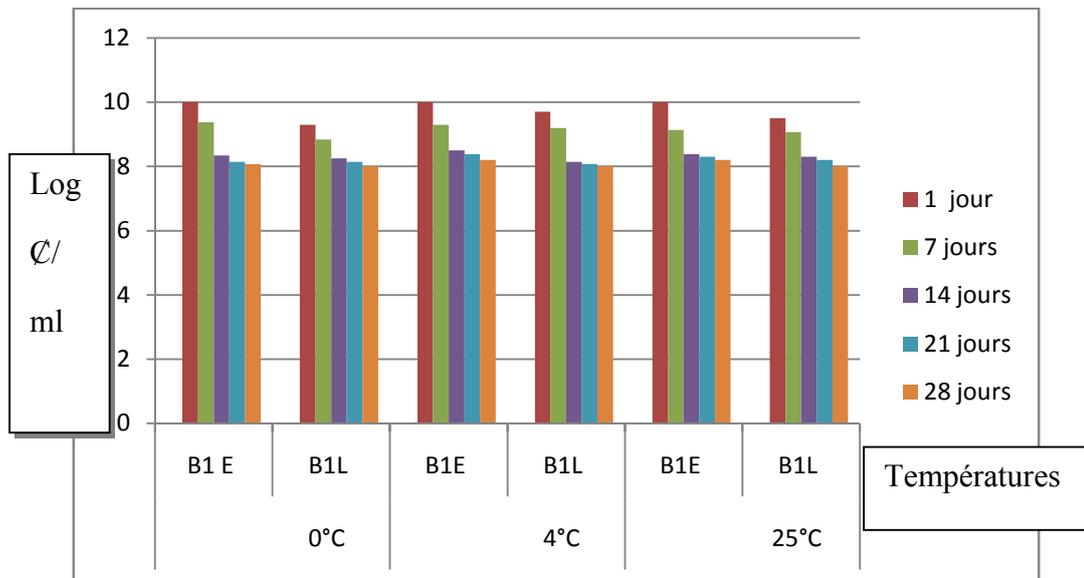


Figure II. 6. Variations du nombre de bactérie *Lb. brevis* libre et encapsulée dans l'alginate/ amidon conservées à 0°C, 4°C et 25°C au cours du temps.

La **figure II. 6.** Montre que le nombre initial des cellules libres a été réduit jusqu'à l'obtention de 8 Log \mathcal{C}/ml le dernier jours de conservation.

D'un autre côté, les bactéries encapsulées ont été réduites de 10 Log \mathcal{C}/ml à 8,2 Log \mathcal{C}/ml à 4° C, 25 °C et de 10 Log \mathcal{C}/ml à 8,07 Log \mathcal{C}/ml pour 0°C.

La survie des cellules *Lb. casei* libres et encapsulées dans l'alginate/ gomme arabique conservées à différentes températures est représentée dans la **figure II. 7.**

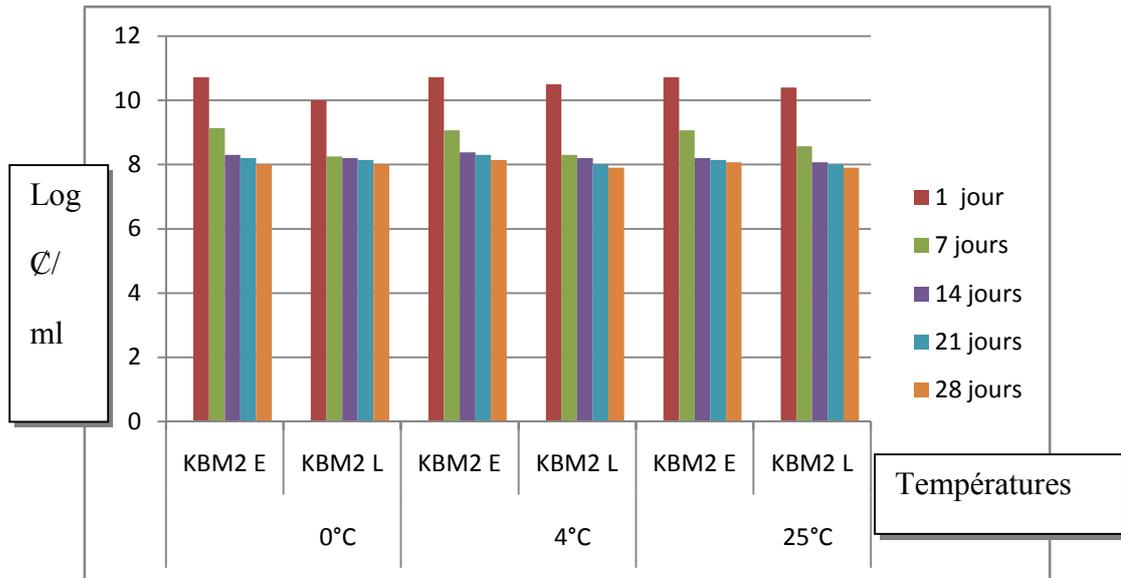


Figure II. 7. Variations du nombre de bactérie *Lb. casei* libre et encapsulée dans l'alginate/ gomme arabique conservées à 0°C ,4°C et 25°C au cours du temps.

La figure II. 7. Montre qu'il y a une diminution des cellules libres au cours de la durée de conservation pour atteindre 7,9 Log CFU/ml à 4°C, 25°C et 8 Log CFU/ml à 0°C. D'autre côté, le nombre des cellules encapsulées a été diminué de 10,72 Log CFU/ml à 8,14 Log CFU/ml à 4°C.

La survie des cellules *Lb. casei* libres et encapsulées dans l'alginate/ gomme caroube conservées à différentes températures est représentée dans la figure II. 8.

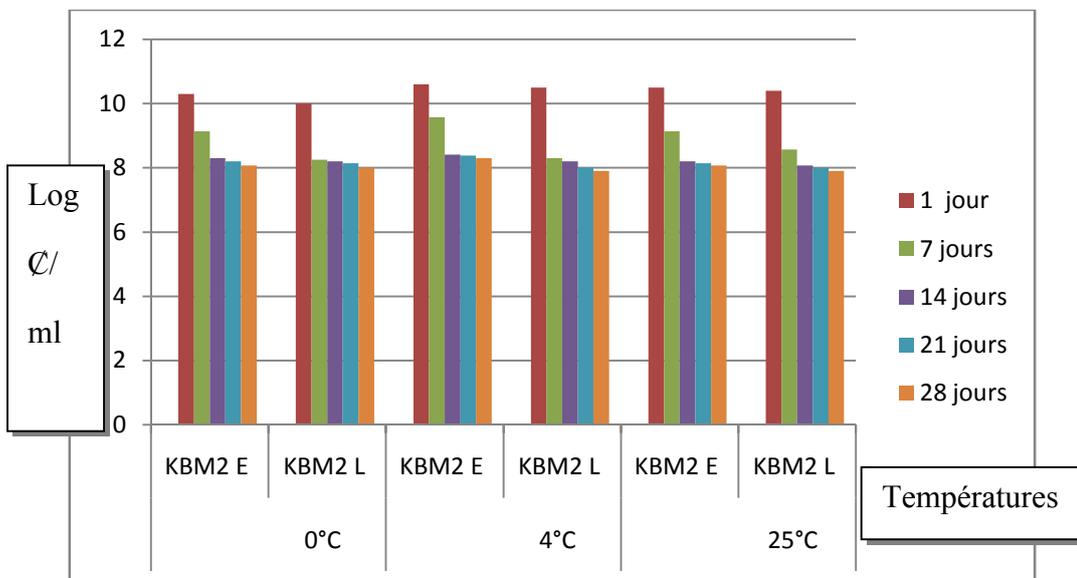


Figure II. 8. Variations du nombre de bactérie *Lb. casei* libre et encapsulée dans l'alginate/ gomme de caroube conservées à 0°C, 4°C et 25°C au cours du temps.

La **figure II. 8.** Montre que les trois températures semblent capables de réduire le nombre des cellules libres, cependant, cette diminution est considérable durant la première semaine et légère pour les 28^{ème} jours suivants où le nombre des cellules libres atteint 7, 9 Log \mathcal{C} /ml pour les cellules conservées à 4°C et 25°C. La variation de températures au cours de temps a exercé un effet négatif sur les cellules encapsulées dont le nombre a diminuée mais moins que les cellules libres surtout à 4°C.

La survie des cellules *Lb. casei* libres et encapsulées dans l'alginate/ amidon conservées à différentes températures est représentée dans la **figure II. 9.**

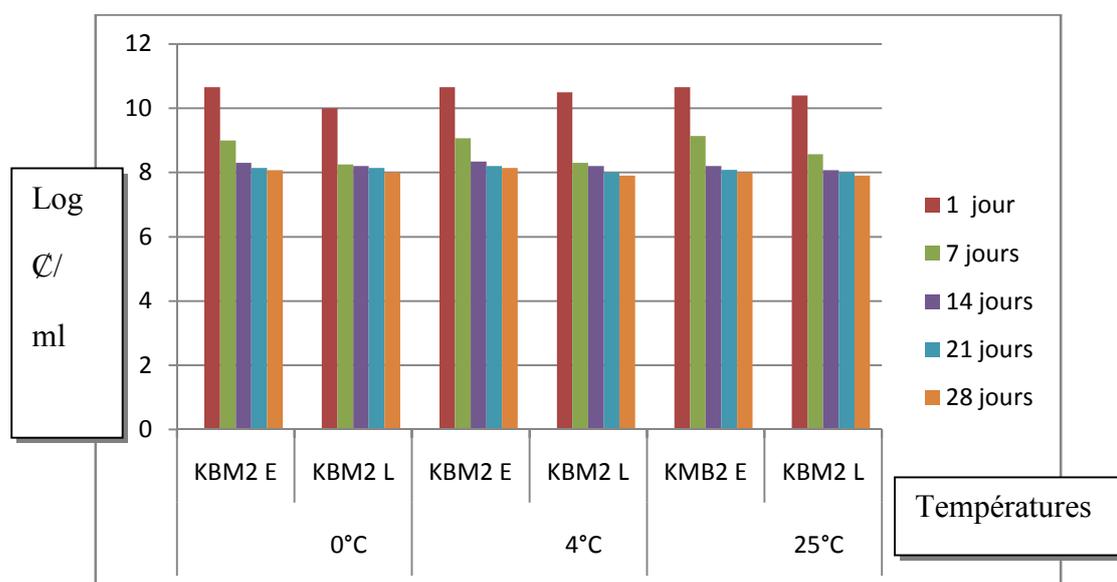


Figure II. 9. Variations du nombre de bactérie *Lb. casei* libre et encapsulée dans l'alginate/ amidon conservées à 0°C, 4°C et 25°C au cours du temps.

D'après la **figure II. 9,** une diminution du nombre des cellules libres au cours de temps de conservation a été remarquée. Toutes fois, la diminution au cours de la conservation à 0°C est inférieure par rapport à celles du 4°C et 25°C. En parallèle, le nombre des cellules encapsulées est aussi en diminution, mais ils restent toujours inférieur par rapport aux cellules libres principalement à 4°C.

La survie des cellules *Lb. plantarum* libres et encapsulées dans l'alginate/ gomme arabique conservées à différentes températures est représentée dans la **figure II. 10.**

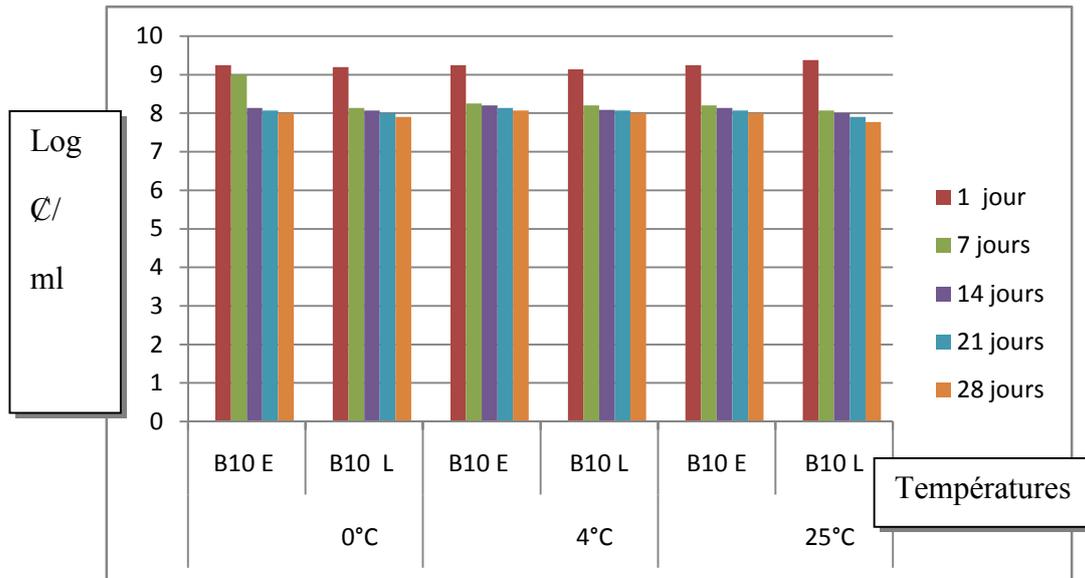


Figure II. 10. Variations du nombre de bactérie *Lb. plantarum* libre et encapsulée dans l’alginate/ gomme arabique conservées à 0° ,4°C et 25°C au cours du temps.

La **Figure II. 10.** Montre qu’il y a une diminution de nombre des cellules libres pendant la durée de conservation avec toutes les températures dont le nombre au 28^{ème} jours, le plus élevé été enregistré à 4°C avec 8 Log *C* /ml.

D’un autre coté, le nombre des cellules encapsulées a aussi diminué mais il reste plus élevé par rapport aux cellules libres avec 8,07 Log *C* /ml au 28^{ème} jour.

La survie des cellules *Lb. plantarum* libres et encapsulées dans l’alginate/ gomme de caroube conservées à différentes températures est représentée dans la **figure II. 11.**

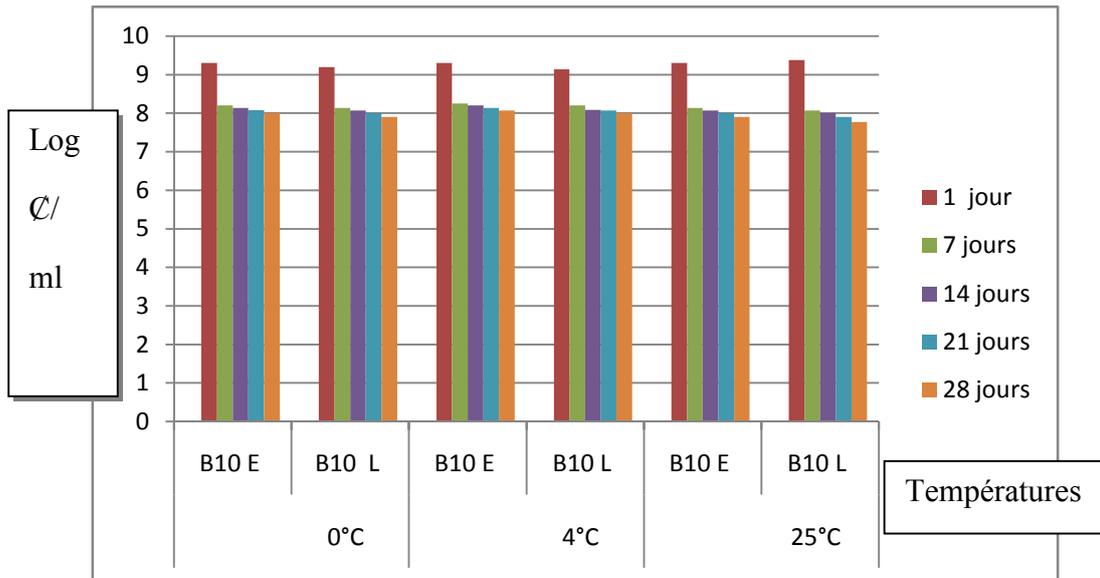


Figure II. 11. Variations du nombre de bactérie *Lb. plantarum* libre et encapsulée dans l’alginate/ gomme de caroube conservées à 0° ,4°C et 25°C au cours du temps.

La **figure II. 11.** Montre que la réduction de nombre des cellules libres au cours de temps dans les trois températures est considérablement plus élevée que les cellules encapsulées, notant que le nombre des cellules encapsulées est environ 8 Log \mathcal{C} /ml, par contre le nombre des cellules libres est de 7 Log \mathcal{C} /ml le dernier jour de conservation.

La survie des cellules *Lb. plantarum* libres et encapsulées dans l’alginate/ amidon conservées à différentes températures est représentée dans la **figure II. 12.**

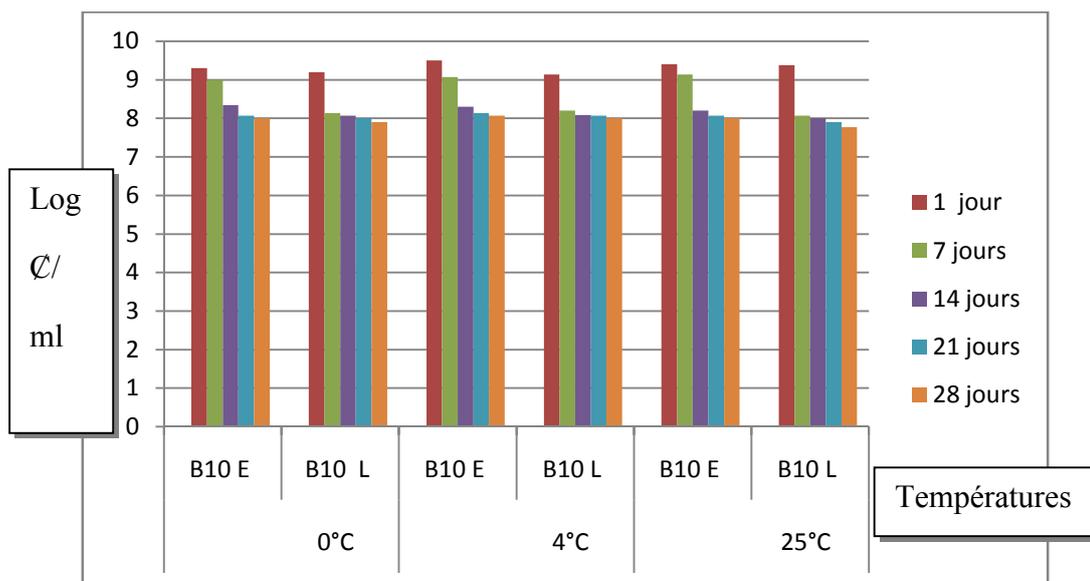


Figure II. 12. Variations du nombre de bactérie *Lb. plantarum* libre et encapsulée dans l’alginate/ amidon conservées à 0° ,4°C et 25°C au cours du temps.

D'après la **figure II. 12**. Une diminution de nombre des cellules libres était observée au cours de la durée de conservation dont la meilleure survie a été enregistrée à 4°C par 8 Log C /ml. De plus, une diminution des cellules encapsulées était remarquée mais moins que les cellules libres.

Comme conclusion des résultats observés dans les figures précédents (**figure II. 4, II. 5, II. 6, II. 7, II. 8, II. 9, II. 10, II. 11, II. 12**), le nombre des cellules encapsulées reste toujours supérieur au nombre des cellules libres toute au long la durée de conservation principalement à 4°C.

Les cellules libres résistent la température ambiante et la température de congélation tout au long la période de conservation et restent viables jusqu'au dernier jour de conservation.

L'encapsulation a pour but de prolonger la durée de conservation des probiotiques à différents températures.

Les biopolymères sont les meilleurs matériaux efficaces pour l'encapsulation des probiotiques. Mais quand un seul polymère est utilisé pour l'encapsulation, il ne présente pas d'effet approprié sur l'encapsulation. Le mélange de polymères pourrait améliorer le potentiel d'encapsulation des probiotiques [**Huq et al., 2013**].

Des études ont montré que la survie des probiotiques microencapsulés avec de l'alginate seul ou en mélange avec d'autre polymère était plus élevée que celle des cellules libres [**Chun et al., 2014**]. De plus, **Kailasapathy., 2006** a rapporté que la viabilité des cellules reste relativement constante à 4°C pendant plus d'un mois.

Ouled-Haddar et al., 2016 ont montré aussi que les cellules de *Lactobacillus plantarum* encapsulées gardent leur viabilité durant la conservation à 4°C et peuvent atteindre 93,4% par contre les cellules libres 63%.

D'après **Chun et al., 2014**, et après extrusion de *Lactobacillus plantarum* DKL 109, des cellules libres et encapsulée dans l'alginate /gomme arabique ont été conservé à 4°C et 37°C. La viabilité des bactéries encapsulées restent stable au cours de la conservation à 25°C par rapport aux cellules libres. De plus, à 37°C, une réduction de 80% des bactéries libres a été remarquée et une légère diminution est observée pour les bactéries encapsulées.

Damodharan et al., 2017 ont étudiée la viabilité de *pediococcus pentosaceus* KID7, *Lactobacillus plantarum* KII2, *Lactobacillus fermentum* KLAB6 et *Lactobacillus helveticus* KII13 encapsulées par lyophilisation en utilisant le polymère alginate - gomme de fenugrec-gomme de caroube après

conservation à 4°C pendant 3 mois. Les résultats montrent que les souches encapsulées ont gardé la viabilité durant toute la durée de conservation.

III. 3. Viabilité des cellules encapsulées conservée dans le jus après différentes périodes :

Le jus des fruit peut être utilisées comme véhicule des probiotiques, cependant le maintien de la viabilité est un défi à cause des conditions de jus [Ying *et al.*, 2013]. L'effet de la conservation des cellules encapsulées dans le jus à été testé par la conservation des cellules *Lb. brevis*, *Lb. casei* et *Lb. plantarum* encapsulées dans le jus d'ananas pendant 28 jours, pour sélectionner la souche et le polymère les plus résistants aux conditions de jus.

La survie des cellules *Lb. brevis* encapsulées dans les mixtures de polymères conservées dans le jus est représentée dans la **figure II. 13**.

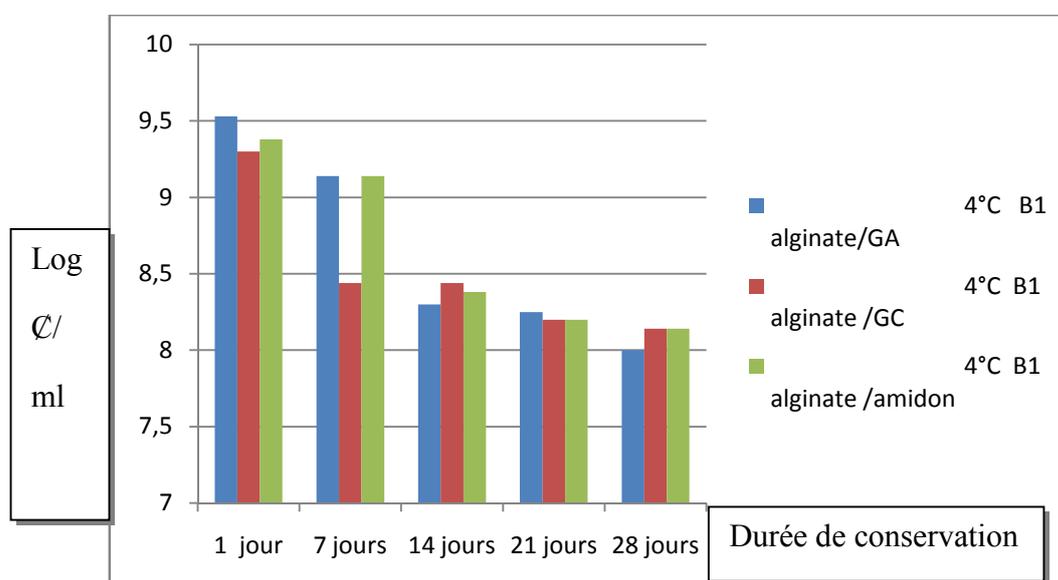


Figure II. 13. Nombre de *Lb. brevis* encapsulée et conservée dans le jus en fonction de temps.

D'après les résultats présentés dans la **figure II. 13**. On observe une baisse de nombre des cellules *Lb. brevis* encapsulées dans les différentes mixtures après leur conservation dans le jus pendant 28 jours, cependant, le nombre des cellules restent plus élevé avec le polymère alginate/gomme de caroube, alginate/amidon à la fin de la conservation.

La survie des cellules *Lb. casei* encapsulées dans les mixtures de polymère conservées dans le jus est représentée dans la **figure II. 14**.

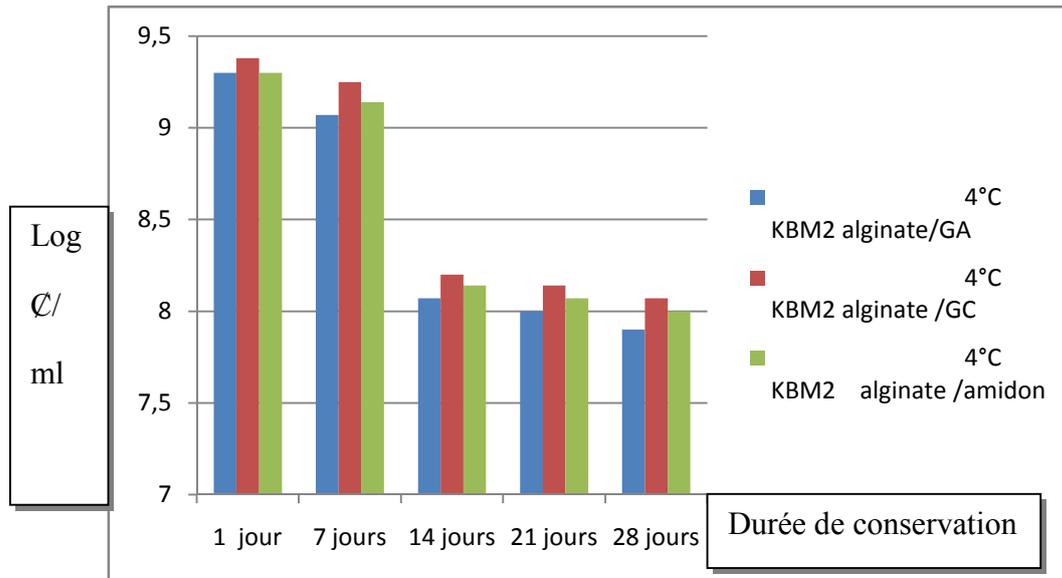


Figure II. 14. Nombre de *Lb. casei* encapsulée et conservée dans le jus en fonction de temps.

La **figure II. 14.** Montre que le nombre des cellules *Lb. casei* est en réduction dès le 1^{er} jour, cependant le nombre le plus élevé jusqu' au dernier jour est celui de l'alginate/gomme de caroube.

La survie des cellules *Lb. plantarum* encapsulées dans les mixtures de polymère conservées dans le jus est représentée dans la **figure II. 15.**

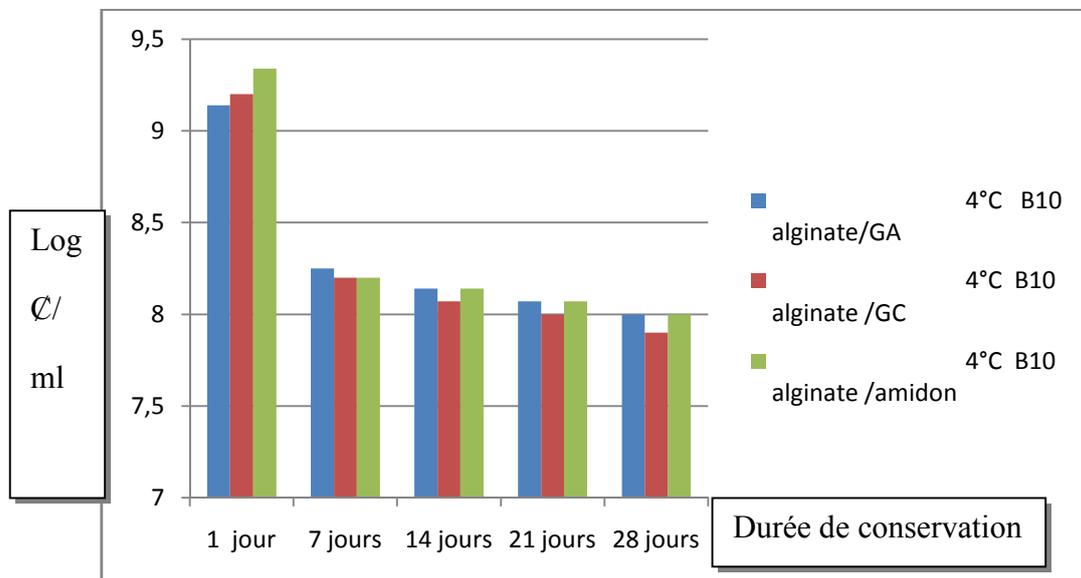


Figure II. 15. Nombre de *Lb. plantarum* encapsulée et conservée dans le jus en fonction de temps.

D'après les résultats montrés ci-dessus dès le 1^{er} jour jusqu'à le 28^{ème} jours une baisse au nombre des cellules *Lb. plantarum* est remarquée avec tous les polymères, mais à la fin de la période de conservation l'alginate/gomme arabique et l'alginate/amidon conservent un nombre plus élevée des cellules (8 Log CFU/ml).

D'après les résultats présentés dans les figures précédentes (**figure II. 13, II. 14, II. 15**) on conclue que le jus exerce un effet négatif sur le nombre des cellules encapsulées au cours de temps au niveau des souches et des polymères. Mais le nombre des cellules *Lb. brevis* encapsulées dans l'alginate /gomme de caroube est le plus élevé en comparaison avec les autres polymères et les autres souches.

Ding et Shah., 2008 ont montré que les bactéries probiotiques encapsulées ont été protégées contre les conditions acides de jus d'orange et que les cellules encapsulées n'ont pas perdu leur viabilité assez rapidement que les cellules libres. Cela permet de conclure l'effet protecteur des capsules qui joue le rôle d'une barrière physique en assurant un environnement anaérobie plus favorable aux bactéries.

D'après **Chaikham et al., 2015**, *Lactobacillus casei* 01, *Lactobacillus acidophilus* LA5 et *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 encapsulées résistent mieux les conditions de jus. Ils ont conclu que l'encapsulation des probiotiques dans l'alginate est une technique qui améliore la survie des microorganismes probiotiques dans les conditions de jus. De plus **Ying et al., 2013** montrent que *Lactobacillus rhamnosus* GG(LGG) microencapsulées dans les protéines de lactosérum seules ou en combinaison avec l'amidon avaient une meilleure protection dans le jus de pomme (pH 3.5) conservé à 4°C ou à 25°C pendant 5 semaines.

La viabilité des bactéries conservées dans le jus est affectée par plusieurs facteurs tels que la souche, la méthode de préparation de la culture, l'état des cellules inoculées, la température de conservation, le niveau d'oxygène, le pH et la présence des fibres et des sucres (stress osmotique) [**Burgain et al., 2011; Ying et al., 2013**]. De plus les composés phénoliques contenus dans le jus ont un effet antimicrobien contre les lactobacilles [**Nualkaekul et al., 2013**].

III. 4. Viabilité des cellules libres et encapsulées exposées aux conditions gastro-intestinales simulées :

L'encapsulation a pour but de protéger les probiotiques non seulement contre les conditions défavorables, mais aide également les bactéries encapsulées à atteindre le tractus intestinal avec un nombre élevé [**Damodharan et al., 2017**]. Pour étudier l'effet des conditions gastro-intestinales sur la viabilité des bactéries libres ainsi encapsulées on les expose aux solutions gastriques ainsi intestinale.

La survie des cellules *Lb. brevis* libres et encapsulées après exposition aux conditions gastro-intestinales simulées est représentée dans la **figure II. 16**.

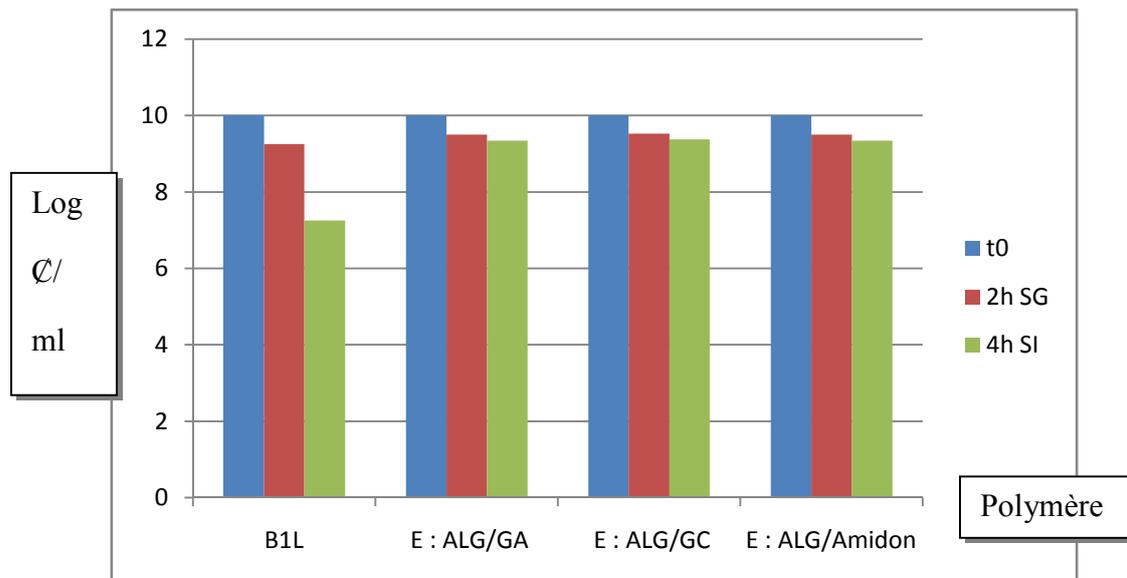


Figure II. 16. Nombre de *Lb. brevis* libres et encapsulées exposées aux conditions gastro-intestinales simulées.

La **figure II. 16.** Montre que le nombre des cellules libres subit une légère diminution après 2h d'incubation pour atteindre 9,25 Log CFU/ml, le nombre a été diminué une autre fois après les 4h suivants pour atteindre 7,35 Log CFU/ml.

D'un autre côté, le nombre des cellules encapsulées a été diminué aussi lorsque sont incubées dans la solution gastrique, mais cette diminution est plus élevée durant les deux premières heures et légère pendant les 4h suivant et cela avec tous les polymères.

La survie des cellules *Lb.casei* libres et encapsulées après exposition aux conditions gastro-intestinales est représentée dans la **figure II. 17.**

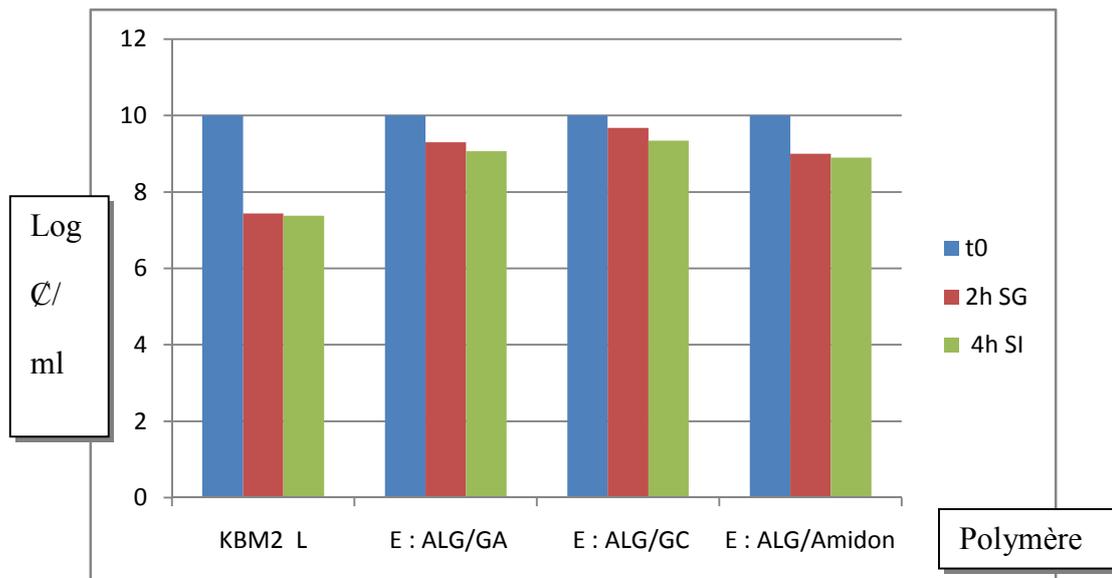


Figure II. 17. Nombre de *Lb. casei* libres et encapsulées exposées aux conditions gastro-intestinales simulées.

En se basant sur la **figure II. 17**, le nombre des cellules libres ont diminué considérablement pendant les 2h premiers et légèrement après exposition à la solution intestinale. Par contre les cellules encapsulées perdent leur nombre progressivement durant toute la durée d'exposition aux conditions gastro-intestinales simulées.

La survie des cellules *Lb. plantarum* libres et encapsulées après exposition aux conditions gastro-intestinales est représentée dans la **figure II. 18**.

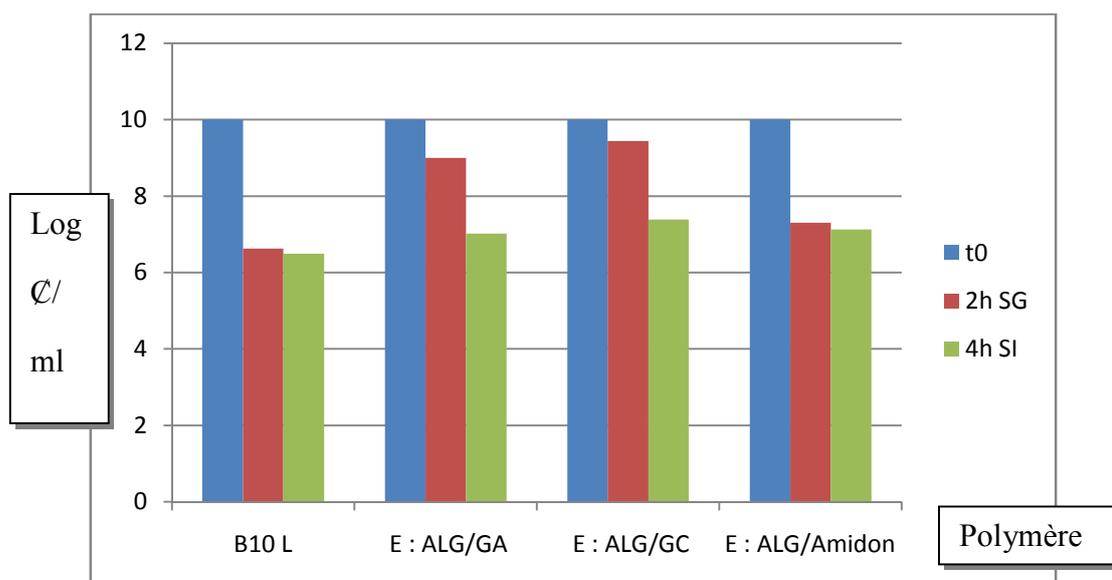


Figure II. 18. Nombre de *Lb. plantarum* libres et encapsulées exposées aux conditions gastro-intestinales simulées.

La **figure II. 18.** Montre que le nombre des cellules encapsulées est réduit légèrement au cours de la durée d'exposition aux conditions gastro-intestinales, par ailleurs les bactéries libres perdent environ 40% de leur nombre initial dès les deux premières heures pour atteindre 6,49 Log C/ml après 4 h.

D'après les figures précédentes (**figures II. 16, II. 17, II. 18**) on conclue que les conditions gastro-intestinales simulées affectent le nombre des cellules libres et encapsulées et que l'encapsulation était capable de protéger les cellules durant l'exposition aux conditions gastro-intestinales (pH, enzymes) contrairement aux cellules libres.

L'alginate avec la gomme de caroube montre une efficacité plus élevée par rapport aux autres polymères et la souche *Lb. brevis* encapsulée dans l'alginate /gomme de caroube parait la meilleure souche résistante aux conditions gastro-intestinales simulées.

Nos résultats sont similaires au résultats de **Lian et al., 2003** qui ont montré que *Bifidobacterium longum* B6 encapsulées dans la gomme arabique étaient relativement stables pendant toute la période d'exposition au suc gastrique ainsi intestinal, de plus **Ouled-Haddar et al., 2016** ont montré que l'encapsulation était capable de protéger *Lactobacillus plantarum* devant les conditions gastro-intestinales.

Ding et Shah., 2009 ont montré que l'encapsulation des probiotiques *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. paracasei*, dans l'alginate, xanthane, carraghénane, gomme de caroube et d'autres matrices améliore la viabilité des probiotiques lors de l'exposition aux conditions gastro-intestinales simulées.

Cheow et al., 2014 ont prouvé que l'encapsulation de *Lactobacillus rhamnosus* dans l'alginate /gomme de caroube fournit le plus haut niveau de protection aux cellules encapsulées où 92% des cellules encapsulées survivent à la solution gastrique, ainsi les capsules d'alginate /GC possèdent le profil de libération cellulaire optimal dont la majorité de cellules libérées dans le suc intestinal simulé.

CONCLUSION

Pour que les bactéries lactiques probiotiques exercent son effet bénéfique sur le corps humain elles doivent atteindre l'intestin grêle en quantités suffisantes, cependant plusieurs facteurs affectent la survie des bactéries probiotiques quel que soit durant la conservation ou durant leur passage à travers le tractus gastro-intestinal.

Dans notre travail on a testé l'effet d'encapsulations des souches probiotiques : *Lactobacillus brevis*(B1), *Lactobacillus casei* (KBM₂) et *Lactobacillus plantarum* (B10) dans l'alginate /gomme arabique, l'alginate /gomme de caroube et l'alginate /amidon après conservation et exposition aux conditions gastro-intestinales simulées et on a trouvé que :

- Les résultats obtenus indiquent que les polymères utilisés exercent un effet protecteur avec toutes les souches face aux conditions de conservations aussi les conditions gastro-intestinales.
- Les souches *Lactobacillus brevis* (B1) et *Lactobacillus casei* (KBM₂) encapsulées dans l'alginate/gomme de caroube donne la meilleure résistantes aux conditions de conservation.
- Les souches encapsulées qui donnent une meilleur résistantes aux conditions de jus d'ananas sont : *Lactobacillus brevis* encapsulée dans l'alginate /gomme de caroube, *Lb. casei* encapsulée dans l'alginate /gomme de caroube et *Lb. plantarum* encapsulée dans l'alginate /gomme arabique.
- La souche *Lb. brevis* encapsulée dans l'alginate /gomme de caroube est la plus résistante aux conditions gastro-intestinales simulées.
- En générale la souche la plus résistante est *Lb. brevis* encapsulée dans l'alginate /gomme de caroube.

Des tests ultérieurs sont recommandés pour confirmer la résistance et la viabilité des bactéries probiotiques encapsulées a d'autres boissons et aliments et aussi aux conditions gastro-intestinales, cela se fait par des essais sur des animaux de physiologie proche à l'être humaine.

REFERENCES

A

Al –Furaih, L. Y., Ababutain, I. M., Abd-El-Khalek, A. B., & Abdel-Salam, A. M. (2016). Effect of different microencapsulation materials on stability of *Lactobacillus plantarum* DSM 20174. *African Journal of Biotechnology*.15 (24), 1207-1216.

Aloys, H., Korma, S. A., Alice, T. M., Chantal, N., Ali1, A. H., Abed, S. M., & Ildephonse, H. (2016). Microencapsulation by complex coacervation: Methods, Techniques, Benefits, and Applications. A Review. *American Journal of Food Science and Nutrition Research*. 3(6), 188-192.

Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*.18 (5), 240-251.

B

Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*.104, 467-483.

C

Casas, J. A., & García-Ochoa, F. (1999). Viscosity of solutions of xanthan/locust bean gum mixtures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.79, 25-31.

Caplice, E., & Fitzgerald, G. F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International journal of food microbiology*. 50, 131–149.

Cook, M. T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., & Khutoryanskiy, V. V. (2012). Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*. 162, 56-67.

Chaikham, P., Chunthanom, P., & Jirasatid, S. (2015). Survivability of recoated probiotic capsules in simulated gastrointestinal environment and Mao juice containing herbal extracts and antioxidants. *International Food Research Journal*. 22(6), 2601-2609.

Cheow, W. S., Kiew, T. Y., & Hadinoto, K. (2014). Controlled release of *Lactobacillus rhamnosus* biofilm probiotics from alginate-locust bean gum microcapsules. *Carbohydrate Polymers*. 103, 587–595.

Chun, H., Kim, C., & Cho, Y. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* DKL 109 using External Ionic Gelation Method. *Korean Society for Food Science of Animal Resources*. 34(5), 692-699.

D

Dakia, P. A., Blecker, C., Robert, C., Wathelet, B., & Paquot, M. (2008). Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloids*. 22, 807-818.

Damodharan, K., Palaniyandi, S. A., Yang, S. H., & Suh, J. W. (2017). Co-encapsulation of Lactic Acid Bacteria and prebiotic with alginate-fenugreek gum-locust bean gum matrix: Viability of encapsulated bacteria under simulated gastrointestinal condition and during storage time. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 22, 265-271.

De Prisco, A., Maresca, D., Ongeng, D., & Mauriello, G. (2015). Microencapsulation by vibrating technology of the probiotic strain *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 to enhance its survival in foods and in gastrointestinal environment. *LWT - Food Science and Technology*. 61(1), 452-562.

De Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*. 20, 292-302.

Ding, W. K. & Shah, N. P. (2008). Survival of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria in Orange and Apple Juices. *International Food Research Journal*. 15(2), 219-232.

Ding, W. K. & Shah, N. P. (2009). Effect of Various Encapsulating Materials on the Stability of Probiotic Bacteria. *Journal of Food Science*. 74, 100-107.

E

Espinosa-Andrews, H., Báez-González, J. G., Cruz-Sosa, F., & Jaime Vernon-Carter, E. (2007). Gum arabic-chitosan complex coacervation. *Biomacromolecules*. 8(4), 1313-1318.

Etchepare, M. D., Barin, J. S., Cichoski, A. J., *et al.* (2015). Microencapsulation of probiotics using sodium alginate. *Rural Science*. 45(7), 1319-1326.

F

FAO/WHO (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, London, UK.

G

Gbassi, G. K., & Vandamme, T. (2012). Probiotic encapsulation technology: From microencapsulation to release into the gut. *Pharmaceutics*. 4(1), 149–163.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*. 40, 1107-1121.

Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I., & Mulligan, C. N. (1999). Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 50, 213-224.

H

Hazal Ozyurt, V., & Ötles, S. (2014). Properties of probiotics and encapsulated probiotics in food. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 13(4), 413-424.

Huq, T., Khan, A., Khan, R. A., Riedl, B., & Lacroix, M. (2013). Encapsulation of Probiotic Bacteria in Biopolymeric System, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 53(9), 909-916.

J

Jankowski, T., Zielinska, M., & Wyszakowska, A. (1997). Encapsulation of lactic acid bacteria with alginate/starch capsules. *Biotechnology Techniques*. 11(1), 31-34.

K

Kamalian, N., Mirhosseini, H., Mustafa, S., & Manap, M. Y. (2014). Effect of alginate and chitosan on viability and release behavior of *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4 in simulated gastrointestinal fluid. *Carbohydrate Polymers*. 111, 700-706.

Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: Technology and Potential Applications. *Microbiology. Current Issues Intestinal Microbiology*. 3, 39-48.

Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT-Food Science and Technology*. 39, 1221-1227.

ℒ

Li, X. Y., Chen, X. G., Cha, D. S., Park, H. J., & Liu, C. S. (2008). Microencapsulation of a probiotic bacteria with alginate–gelatin and its properties. *Journal of Microencapsulation*. 26(4), 315-324.

Lian, W-C., Hsiao, H-C., & Chou, C.C. (2003). Viability of microencapsulated bifidobacteria in simulated gastric juice and bile solution. *International Journal of Food Microbiology*. 86, 293–301.

Lopes, S., Bueno, L., Júnior, F. D. A., & Finkler, C. (2017). Preparation and characterization of alginate and gelatin microcapsules containing *Lactobacillus rhamnosus*. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*. 89 (3), 1601-1613.

ℳ

Meunier, L et al. (2014). Locust bean gum safety in neonates and young infants: An integrated review of the toxicological database and clinical evidence. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 70(1), 155–169.

Mohamed, H. N., Mustafa, S., Fitrianto, A., & Manap, Y. A. (2017). Development of alginate–gum arabic beads for targeted delivery of protein. *Journal of Biomolecular Research & Therapeutics*. 6(2), 2167-7956.

ℕ

Nedovic, V., Kalusevic. A., Manojlovic.V., Levic. S., & Bugarski. B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*. 1, 1806 – 1815.

Nualkaekul, S., Cook, M.T., Khutoryanskiy,V.V., & Charalampopoulos, D. (2013). Influence of encapsulation and coating materials on the survival of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum* in fruit juices. *Food Research International*. 53, 304-311

O

Ouled-Haddar, H., Sifour, M., Idoui, T., Bouridane, H., & Arida, S. (2016). *Lactobacillus plantarum* G1 Microencapsulation enhanced its Viability during Storage and Gastrointestinal Transit. *Sains Malaysiana*. 45(7), 1049–1055.

P

Papadimitriou, K., et al. (2016). Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 80, 837– 890.

Pavli, F., Tassou, C., Nychas, G.-J. E., & Chorianopoulos, N. (2018). Probiotic incorporation in edible films and coatings: bioactive solution for functional foods. *International Journal of Molecular Sciences*. 19, 150.

Q

Quinto, E. J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J. & Girbés, T. (2014). Probiotic lactic acid bacteria: A Review. *Food and Nutrition Sciences*. 5, 1765-1775.

R

Rajam, R., karthik, P., Parthasarathi, S., Joseph, G., Anandharamakrishnan, C. (2012). Effect of whey protein – alginate wall systems on survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*. 4(4), 891-898.

Rathore, S., Desai, P. M., Liew, C. V., Chan, L. W., & Heng, P. W. (2013). Microencapsulation of microbial cells. *Journal of Food Engineering*. 116(2), 369-381.

Ré, M. I. (1998). Microencapsulation By Spray Drying. *Drying Technology*. 16(6), 1195-1236.

Riaz, Q. U., & Masud, T. (2013). Recent trends and applications of encapsulating materials for probiotic stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 53(3), 231-244.

Rokka, S., & Rantamäki, P. (2010). Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: Challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*. 231, 1-12.

Ruiz-Ángel, M. J., Simó-Alfonso, E. F., Mongay-Fernández, C., & Ramis-Ramos, G. (2002). Identification of Leguminosae gums and evaluation of carob-guar mixtures by capillary zone electrophoresis of protein extracts. *Electrophoresis*. 23(11), 1709.

S

- Savadogo, A., Ouattara Cheik, A. T., Bassole Imael, H. N., & Traore S. A. (2006). Bacteriocins and lactic acid bacteria. *African Journal of Biotechnology*. 5 (9), 678-683.
- Serna-Cock, L., & Vallejo-Castillo, V. (2013). Probiotic encapsulation. *African Journal of Microbiology Research*. 7(40), 4743-4753.
- Solanki, H. K., Pawar, D. D., Shah, D. A., Prajapati, V. D., Jani, G. K., Mulla, A. M., & Thakar, P. M. (2013). Development of microencapsulation delivery system for long-term preservation of probiotics as biotherapeutics agent. *Bio Med Research International*. 2013, 21.
- Shori, A. B.(2017). Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit. *HAYATI Journal of Biosciences*. 24, 1-5.
- Suhartatik, N., Cahyanto, M. N., Rahardjo, S., Miyashita, M., & Rahayu, E .S. (2014). Isolation and identification of lactic acid bacteria producing β glucosidase from Indonesian fermented foods. *International Food Research Journal* .21(3), 973-978.

T

- Trifković, K., Tadić, G., & Bugarski, B. (2016). Short overview of encapsulation technologies for delivery of bioactives to food. *Journal of Engineering & Processing Management*. 8(1), 103-111.

V

- Van de Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. D., & Maguin, E. (2002). Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. 82, 187–216.

W

- Wedajo, B. (2015). Lactic acid bacteria: benefits, selection criteria and probiotic potential in fermented food. *Journal of Probiotics & Health*. 3, 129.
- Weinbreck, F., Minor, M., & Dekruif, C. G. (2004). Microencapsulation of oils using whey protein/gum arabic coacervates. *Journal of Microencapsulation*. 21(6), 667–679.
- Weinbreck, F., Bodnár, I., & Marco, M. (2010). Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry products?. *International Journal of Food Microbiology*. 136(3), 364-367.

Υ

Ying, D.Y., Schwanderc, S., Weerakkody, R., Luz Sanguansri, L., Gantenbein-Demarchic, C., & Augustin, M. A.(2013). Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein and resistant starch matrices: Probiotic survival in fruit juice. *Journal of functional foods*. 5(1), 98-105.

Z

Zanjani, M. A., Ehsani, M. R., Tarzi, B. G., & Sharifan, A. (2018).Promoting *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium adolescentis* survival by microencapsulation with different starches and chitosan and poly L-lysine coatings in ice cream. *Journal of food processing and preservation*. 42(1). Doi.org/10.1111/jfpp.13318.

ANNEXES

1. Bouillon MRS :

Tableau 1 : Composition de bouillon MRS

Composant	Quantité
Glucose	20g
Extrait de levure	8g
Extrait de viande	4g
Acétate de sodium	5g
Phosphate dipotassique	2g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0.2g
Sulfate de manganèse	0.05g
Tween 80	1ml
Eau distillée	1000ml

2. Gélose MRS :

Bouillon MRS additionné de 15g d'agar.

3. L'eau physiologique : 9g de NaCl dans 1L d'eau distillée.

4. Chlorure de calcium(CaCl₂)0.5M pour 1L : 55.49 g de CaCl₂ dans 1 L d'eau distillée.

5. Tampon phosphate saline (PBS) à pH 7.4 :

La solution PBS est préparée par le mélange de 190 ml de solution **A** avec 810 ml de solution **B** dont les compositions des deux solutions sont :

Solution **A**: 13.8g de NaH₂PO₄ dans 200ml de d'eau distillée.

Solution **B** : 63.6g de Na₂ HPO₄ dans 900ml d'eau distillée.

6. Citrate de sodium à 5% : 50g de citrate de sodium dans 1L de l'eau distillée.

7. Alginate de sodium à 1% : 1g d'alginate de sodium dans 100ml de l'eau distillée.

8. Gomme arabique à 1% : 1g de gomme arabique dans 100ml de l'eau distillée.

9. Amidon à 1% : 1g d'amidon dans 100ml de l'eau distillée.

10. Gomme de caroube à 1% : 1g de gomme de caroube dans 100ml de l'eau distillée.

11. Solution intestinale :

Tableau2 : Composition de solution intestinale pour 1L

Composant	Quantité
NaCl	1.28g
KCl	0.23g
NaHCO ₃	6.4g

12. Solution gastrique :

Tableau3 : la composition de solution gastrique pour 1L

Composant	Quantité
NaCl	5g
Kcl	2.2g
NaHCO ₃	1.2g
CaCl ₂	0.22g

13. Jus (N'GAOUS, goût ananas, UHT) :

Eau, sucre, concentré d'ananas, concentré de pomme, stabilisant : (pectine, gomme de caroube) (1.14g/L), arôme, colorant : carotène, régulateur d'acidité, acide citrique, antioxydant, acide ascorbique (vitamine C).

Présenté par :

Sabah Khebli
Zina Debbagh

Membres de jury :

Président : Mr. Tarek Khennouf
Examineur : Mr. Yazid Rahmoune
Encadreur : M^{me}. Samiya Amira

Les bactéries lactiques encapsulées dans l'alginate, la gomme arabique et la gomme de caroube: viabilité dans des conditions gastro-intestinales simulées et pendant la conservation**Résumé**

Ce travail a pour but de comparer la survie de *Lactobacillus brevis* (B1), *Lactobacillus casei* (BM₂), *Lactobacillus plantarum* (B10) libres et encapsulées dans les polymères alginate /gomme arabique, alginate/ gomme de caroube, alginate/ amidon et conservées à 0°C, 4 °C et 25°C durant une période de 4 semaines dans l'eau physiologique et le jus d'ananas.

Pour les différentes bactéries probiotiques encapsulées, la tolérance aux conditions gastro-intestinales à été étudiée et les bactéries probiotiques libres ont été utilisées comme témoin.

Les résultats indiquent que les bactéries probiotiques encapsulées dans les polymères résistent mieux que les bactéries probiotiques libres, dans les conditions de conservation ainsi que les conditions gastro-intestinales simulées.

En général, les capsules résultantes d'alginate/gomme de caroube montrent la meilleure protection des cellules d'autre côté la souche la plus résistante était *Lactobacillus brevis* (B1).

Mots clés: Bactéries probiotiques, encapsulation, viabilité, conditions gastro-intestinales, conservation.

Abstract

This work aimed to compare the survival of free and encapsulated *Lactobacillus brevis* (B1), *Lactobacillus casei* (KBM₂), *Lactobacillus plantarum* (B10). Matrices of encapsulation were alginate/arabic gum matrix, alginate/ locust bean gum, alginate /starch and stored at 0°C, 4 °C and 25°C for a period of 4 weeks in normal saline and pineapple juice.

For the different encapsulated probiotic bacteria, tolerance to gastrointestinal conditions was studied and free probiotic bacteria were used as control.

Results indicated that the probiotic bacteria encapsulated in the polymers survived better than free probiotic bacteria, in the storage condition as well as in the simulated gastrointestinal conditions.

In general, beads of alginate/ locust bean gum showed the best protection of cells, on the other hand the best resistance has been reported with the strain *Lactobacillus brevis* (B1).

Key word: Probiotic bacteria, encapsulation, viability, gastrointestinal conditions, storage.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو مقارنة حيوية السلالات B1، KBM₂، B10 الحرة والمغلقة في ألجينات/الصمغ العربي، ألجينات/صمغ الخروب، ألجينات/النشاء المحفوظة في 0° درجة مئوية، 4 درجة مئوية و 25 درجة مئوية في الماء الفسيولوجي وعصير الاناناس.

قمنا بدراسة مقاومة بكتيريا البروبيوتيك المغلفة لظروف الجهاز الهضمي مقارنة مع البكتيريا الحرة.

أظهرت النتائج أن بكتيريا البروبيوتيك المغلفة قاومت ظروف الحفظ وظروف الجهاز الهضمي أفضل من البكتيريا الحرة.

بصفة عامة كبسولات ألجينات/صمغ الخروب تحافظ أكثر على الخلايا والسلاسة الأكثر مقاومة هي B1.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا بروبيوتيك، الكبسولة، حيوية، ظروف الجهاز الهضمي، الحفظ.