

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 Mohammed Seddik Ben yahia-Jijel-

Faculté des Sciences de la Nature
et de la Vie
Département de Microbiologie Appliquée
et des Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية
و علوم التغذية

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme : Master 2 Académique en Biologie

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

***Résistance des Bactéries Lactiques encapsulées à
certaines conditions de stress.***

Membre de Jury :

Présidente : M^{me}. Amina Bouchefra

Examinatrice : Dr. Amel Aitmeddour

Encadreur : M^{me}. Samiya Amira

Présenté Par :

Afaf Boulhidja

Hadjer Amieur

Hanane Hafsaoui

Année Universitaire 2016-2017

N° D'ordre :

Remerciements



Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements :

Au début et avant tout, le remerciement et louange à «Allah» le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail, pour être bénéficié et bénéficiaire.

A cette occasion, nous remercions notre encadreur M^{me}. Samiya Amira, qui a sacrifié de son temps afin de nous soutenir et nous guider pour pouvoir réaliser ce travail, par ce que grâce à vous et votre assurance qu'on a pu atteindre notre but.

Nous remercions également s'adressent à M^{me}. Amina Bouchefra pour avoir accepté de présider le jury. Nous remercions le Dr. Amel Aitmeddour, de bien vouloir évaluer et examiner ce mémoire.

A nos parents, en témoignage de notre gratitude pour leur écoute, leur soutien et leurs encouragements dans les moments difficiles, sans vous rien n'aurait été possible, merci pour votre soutien et votre amour.

A nos amis, merci pour vos encouragements.

Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

Ayaf Hadjer Hanane



Sommaire

Liste des abréviations	i
Liste des figures	iii
Liste des tableaux	iv
Introduction	01
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1/ Bactéries lactiques.....	02
I.1.1/ Propriétés générales.....	02
I.1.2/ Critères de classification des bactéries lactiques.....	02
I.1.3/ Applications des bactéries lactiques.....	03
I.2/Microencapsulation.....	04
I.2.1/ Définition.....	04
I.2.2/ Systèmes d'encapsulation.....	04
I.2.3/ Avantages.....	05
I.2.4/ Biomatérial pour la microencapsulation.....	05
I.2.5/ Techniques de microencapsulation.....	06
I.3/ Stress.....	10
I.3.1/ Définition.....	10
I.3.2/ Types de stress.....	10
I.3.2.1/Stress osmotique.....	10
I.3.2.2/ Stress thermique.....	12
I.3.2.3/Stress acide.....	13

II. MATERIEL ET METHODES

II.1/ Matériel.....	15
II.1.1/ Milieu de culture et les réactifs.....	15
II.1.2/ Équipement	16
II. 2/ Méthodes.....	17
II.2.1.Réification et la vérification de la pureté des souches.....	17
II.2.2/Préparation des cellules pour le processus de microencapsulation	17
II.2.3/ Encapsulation de bactéries dans la matrice d'alginate	17
II.2.4/Cellules libres et microencapsulées dans les conditions de stress osmotique...	17
II 2.5/ Traitement acide de cellules libres et microencapsulées	18

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1/Aspect et taille des microencapsules	19
III.2/ Survie des souches Lb5, K18, 10, K3 et Lb6 après le traitement osmotique	20
III.3/ Nombre de cellules Lb5, K18, 10, K3 et Lb6 après le traitement acide.....	29

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexe

✓ **Liste des abréviations :**

ADI	Arginine déiminase
AG	Acide gras
ATP	Adénosine triphosphate
ATR	Acid Tolerance Response
BusA	Betaine uptake system
C	Contrôle
CAP	Cellulose Acétate phthalate
Car	Carnitine
Csp	Cold choc proteins
E	Encapsulé
Gad	Glutamate décarboxylase
GB	Glycine bétaine
GO	Oxyde de graphène
Hsps	Heat Shock Protein
LAB	Bactéries Lactiques.
MRS	Man Rogosa Sharp
PFOA	Perfluorooctanoate
Pro	Proline
QacT	Quaternary ammonium compound Transporter
OpuA	Osmoprotectant uptake A

✓ Liste des figures :

Figure	Page
Figure I.1 : Schéma représentant les systèmes d'encapsulation : (a) type réservoir, (b) type matrice, (c) type matrice revêtue.	04
Figure I.2 : Schéma de la technique de spray-drying.	07
Figure I.3 : Schéma de la procédure d'émulsion.	08
Figure I.4 : Schéma de la procédure d'extrusion.	09
Figure I.5 : Schéma representative de la réponse de la cellule bactérienne au stress osmotique.	10
Figure I.6 : Représentation schématique des systèmes de transport de solutés compatibles chez <i>Lc. Lactis</i> et <i>Lb. Plantarum</i> .	12
Figure III.7 : Aspect des billes de Lb5obtenus par la méthode d'extrusion.	19
Figure III.8 : Viabilité de Lb5 à différentes concentrations de NaCl.	20
Figure III.9 : Viabilité de K18 à différentes concentrations de NaCl.	21
Figure III.10 : Viabilité de 10 à différentes concentrations de NaCl.	22
Figure III.11 : Viabilité de K3 à différentes concentrations de NaCl.	23
Figure III.12 : Viabilité de Lb6 à différentes concentrations de NaCl.	24
Figure III.13 : Viabilité de Lb5 libre et encapsulé dans le jus de fruit.	26
Figure III.14 : Viabilité de K18 libre et encapsulé dans le jus de fruit.	26
Figure III.15 : Viabilité de 10 libre et encapsulé dans le jus de fruit.	27
Figure III.16 : Viabilité de K3 dans le jus de fruit.	27
Figure III.17 : Viabilité de Lb6 dans le jus de fruit.	28
Figure III.18 : Viabilité de Lb5 à différentes pH.	29
Figure III.19 : Viabilité de K18 à différentes pH.	30
Figure III.20 : Viabilité de 10 à différents pH.	31
Figure III.21 : Viabilité de K3 à différentes valeurs du pH.	31
Figure III.22 : Viabilité de Lb6 à différentes pH.	32

✓ **Liste des tableaux :**

Tableau	Page
Tableau III.1 : Caractères des billes de Lb5 dans la matrice d'alginate de sodium.	20

Le concept de probiotiques a été accepté par Elie Metchnikoff au début des années 1900 qui définit les probiotiques comme des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en une quantité appropriée, confèrent une santé bénéfique à l'hôte, car ils améliorent des propriétés de la microflore intestinale indigène et exercent beaucoup des effets positifs, parmi les probiotiques les plus fréquemment utilisées on trouve les bactéries lactiques (**Sabikhi *et al.*, 2010. Malmo *et al.*, 2013. Ribeiro *et al.*, 2014**).

Les bactéries lactiques (LAB) habitent le tractus gastro-intestinal. Ils jouent un rôle très important dans le maintien de l'écosystème microbien du côlon (**Li *et al.*, 2015**). Cependant, la plupart des LAB non encapsulées sont très sensibles aux conditions environnementales telles que les températures élevées, faible pH, pression osmotique élevée et à des niveaux élevés d'oxygène pendant le traitement et le stockage des aliments. La survie des organismes probiotiques est également affectée par l'acide de l'estomac et les sels biliaires dans l'intestin. Donc, afin de surmonter les problèmes mentionnés ci-dessus, il est nécessaire de développer des méthodes pour protéger la viabilité des bactéries lactiques (**Shi *et al.*, 2013. Ribeiro *et al.*, 2014. El-Shafei *et al.*, 2015**).

La microencapsulation des probiotiques a été étudiée pour améliorer la viabilité dans les produits alimentaires et le tractus gastro-intestinal (**Li *et al.*, 2015**). Les matériaux d'encapsulation (comme l'alginate, le chitosan, la pectine, l'amidon, carraghénine et protéines du lait) sont les matrices les plus étudiées et utilisées pour l'encapsulation des cellules en raison de leur efficacité de protection des LAB sous plusieurs conditions de stress en fonctionnant comme barrières physiques (**Marceau *et al.*, 2003. De Barros *et al.*, 2015. De Prisco et Mauriello, 2015**).

L'objectif de ce travail est donc à étudier l'effet de la microencapsulation sur la viabilité de certaines LAB probiotiques sous certaines conditions de stress, telles que le stress osmotique à différentes concentrations de sel et de sucre, et aussi le stress acide en comparant le tout aux cellules non encapsulées dans les mêmes conditions.

I.1/ Les bactéries lactiques

I.1.1/Propriétés générales :

Le terme bactéries lactiques (lactic acid bacteria LAB) a été progressivement accepté au début du vingtième siècle (**Khalisanni, 2011**). Les bactéries lactiques sont constituées d'un groupe des microorganismes à Gram positif (**Dhamale et al., 2015**), produisent divers composés tels que les acides organiques, le diacétyle, le peroxyde d'hydrogène et la bactériocine ou les protéines bactéricides lors des fermentations lactiques (**Saranraj et al., 2013**).

Le classement de ces bactéries en différents genres repose largement sur la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la température de la croissance, la configuration de l'acide produit, et la tolérance acide ou alcaline (**Motta et Gomes, 2015**).

Ce sont des formes bâtonnets ou des cocci généralement non-mobiles, anaérobies aéro-tolérants (**Khalisanni, 2011**), asporulés, catalase, pseudo-catalase et oxydase négatif qui produisent de l'acide lactique comme principal produit de fermentation à partir de glucose (**Domingos-Lopes et al., 2017**).

Selon le mode de la fermentation du glucose, LAB sont divisées en deux voies principales :

- Homofermentative : produisant principalement l'acide lactique comme : Streptococcus, Lactococcus (**Mozi et Vignolo, 2010**).
- Hétérofermentative : produisent de l'acide lactique et d'autres produits tels que l'éthanol, l'acide acétique et le gaz carbonique comme : Leuconostoc, Lactobacillus (**Jagadeesh, 2015**).

I.1.2/Les critères de classification des bactéries lactiques

Morphologiques :

La forme : les LAB peuvent être divisées en bacilles (*Lactobacillus, Carnobacterium, Bifidobacterium*) et en coques (*Lactococcus, Vagococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Aerococcus, Tetragenococcus, Streptococcus, Enterococcus*), en cellules simples ou en couple, tétrades et chaînes courtes ou longues (**Ongol, 2012**).

La mobilité : les LAB sont généralement immobiles (**Alaoui Ismaili et al., 2016**).

La sporulation : toutes les LAB sont non sporulées (**Domingos-lopes et al., 2017**).

Physiologiques et biochimiques :

La température de croissance optimale, l'activité antioxydant, production d'arôme et de saveur, la capacité d'hydrolyser des protéines sarcoplasmiques ou de résister aux sels biliaires et a différents valeurs de pH (**Pessione, 2012. Li et al., 2014. Han et al., 2017**).

Génétique :

L'analyse des acides nucléiques (ADN, ARNr) permet la construction arbres phylogénétiques significatifs. Les LAB ayant une composition de base d'ADN inférieure à 50% en moles de G + C (**Holzappel et Wood, 2014**).

I.1.3/Les applications des bactéries lactiques :

- Ajuster l'environnement intestinal, inhiber ou tuer les agents pathogènes et améliorer l'équilibre microbien dans le tractus gastro-intestinal, ainsi que réguler l'immunité de la muqueuse et maintenir la fonction de barrière intestinale (**Yang et al., 2015**).
- L'ingestion des lactobacilles peut atténuer les symptômes débilitants, comme les douleurs abdominales, la diarrhée osmotique, les ballonnements due à la malabsorption des sucres alimentaires est une cause fréquente d'inconfort gastro-intestinal (**Šeme et al., 2017**).
- Une source puissante pour diminuer la charge du cadmium du corps (la bioaccumulation de cadmium) (**kumar et al., 2016**), c'est une fonction des bactéries lactiques dérivées de tractus gastro-intestinal comme biosorbants naturels (**Polak-Berecka et al., 2016**).
- Elles peuvent bloquer la translocation de l'oxyde de graphène (GO) dans différents milieux génétiques, en conservant la perméabilité intestinale normale (**zahao et al., 2015**).
- L'utilisation des bactériocines des LAB comme conservateur naturel, est appropriée pour les viandes fermentées (**Woraprayote et al., 2016**).
- Les exopolysaccharides d'acide lactique présentent des propriétés physicochimiques similaires aux hydrocolloïdes commerciaux qui peut utiliser pour l'amélioration des produits céréaliers à la fois gluten et sans gluten (**Lynch et al., 2017**).
- La dégradation des substances cancérigènes d'origine alimentaire, un potentiel probiotique contre la toxicité du perfluorooctanoate (PFOA) (**Xing et al., 2016**).

I.2/La microencapsulation

I.2.1/ Définition :

Peut être définie comme un processus physico-chimique, qui consiste à revêtir ou piéger une substance dans un matériau afin de produire des particules de diamètres de quelques nanomètres à quelques millimètres (**Burgain et al., 2011**). C'est une technologie d'emballage de matériaux, liquides, solides ou gazeux, à l'intérieur de capsules miniatures scellées. Ces capsules peuvent libérer leur contenu dans des conditions contrôlées bien spécifiques (**Rokka et Rantamäki, 2010**). Le but de la microencapsulation est de protéger le matériau du noyau du stress de son environnement tel que l'acidité élevée (conditions gastriques par exemple) (**Arslan et al., 2015**).

I.2.2/Systèmes d'encapsulation :

La substance encapsulée appelée matière de noyau est dispersée dans une matrice nommée revêtement ou coquille. Il existe deux systèmes d'encapsulation : le système (type) de réservoir et le type de matrice :

- Le type réservoir est une enveloppe autour du matériau du noyau appelé aussi gélule.
- Le type matrice, l'agent actif est dispersés sur le matériau support et peut également être en surface.

Une combinaison de ces deux types, la matrice où l'agent actif est récupéré par un revêtement (**Burgain et al., 2011**).

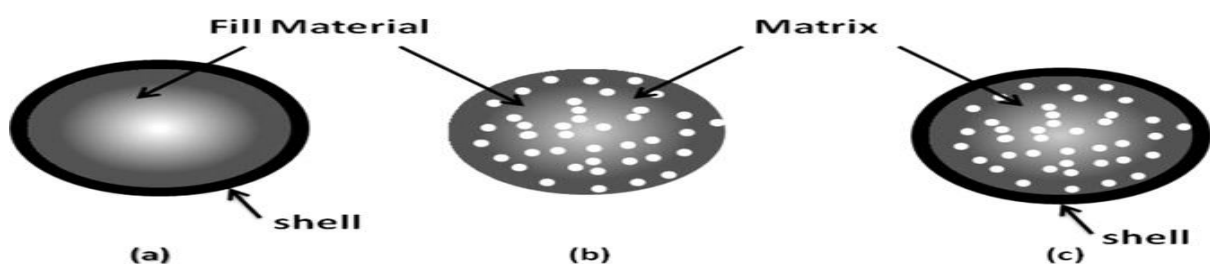


Figure I.1 : Schéma représentant les systèmes d'encapsulation : (a) type réservoir, (b) type matrice, (c) type matrice revêtue (**Burgain et al., 2011**).

I.2.3/Avantages de la microencapsulation :

La microencapsulation a beaucoup d'avantages :

- L'une des méthodes les plus puissantes pour maintenir une viabilité et une stabilité élevées des bactéries.

- Confèrent une protection des bactéries probiotiques lactiques de l'oxygène, la congélation, et des conditions acides pendant la fabrication.

- La membrane sert de barrière à la libération cellulaire et réduit au minimum la contamination (**Chopde et al., 2014**).

-La microencapsulation peut être utilisée pour diminuer la volatilité. Une substance volatile encapsulée peut être stockée pendant plus longtemps sans évaporation substantielle

-De nombreux médicaments ont été microencapsulés pour réduire l'irritation gastrique (**Singh et al., 2010**).

I.2.4/ Les biomatériau pour la microencapsulation :

✓ Alginate :

L'alginate est un hétéropolysaccharide linéaire, composé de deux unités monosaccharides : l'acide α -L-guluronique et l'acide β -D-mannuronique lié à la liaison glycosidique β (1-4) (**Sarao et Arora, 2017**). Les hydrogels d'alginate sont largement utilisés dans l'encapsulation cellulaire et l'alginate de calcium est préféré pour encapsuler les probiotiques en raison de sa simplicité, la non-toxicité, la biocompatibilité et le faible coût (**Dong et al., 2013**).

✓ Carraghénane :

Est un polysaccharide naturel extrait des macro-algues, nécessite habituellement des hautes températures (**Riaz et Masud, 2013**). Les probiotiques sont ajoutés à la solution de polymère à 40-45°C et la gélification se produit par refroidissement, après la formation des billes, on utilise des ions de calcium pour stabiliser le gel (**Martin et al., 2014**).

✓ **Protéines de lactosérum :**

Les protéines de lait sont des véhicules naturels pour les probiotiques et leurs propriétés structurales et physico-chimiques, les protéines ont une excellente propriété de gélification, et cette spécificité a été exploitée pour encapsuler les probiotiques (**Livney, 2010**).

✓ **Gélatine :**

Est une protéine dérivée de l'hydrolyse partielle du collagène. Elle a une structure spéciale, et forme une solution de viscosité élevée dans l'eau (**Martin et al., 2015**).

✓ **Chitosane :**

C'est un polysaccharide linéaire cationique, obtenu par désacétylation de la chitine, il est utilisé comme agent d'encapsulation pour de nombreuses substances sensibles telles que les médicaments car il n'est pas toxique, biodégradable et biocompatible (**Kumar et al., 2017**).

✓ **Acétate phtalate de cellulose (CAP) :**

L'CAP est utilisé pour contrôler la libération des médicaments dans l'intestin. L'avantage de ce composant qu'il n'est pas soluble à pH inférieur à 5 mais il est soluble à pH supérieur à 6 (**Riaz et Masud, 2013**). La CAP est largement utilisé comme agent de revêtement car elle offre une meilleure protection pour les microorganismes dans des conditions gastro- intestinale simulées (**Solanki et al., 2013**).

✓ **Xanthane :**

C'est un hétéropolysaccharide constituant des groupes poly-pentasacchrides formés à partir de deux glucoses, deux mannoses et une unité de glucuronique. Ce polymère est également utilisé en combinaison avec le gellan pour former des microcapsules stable à l'acide (**Cook et al., 2012**).

I.2.5/ Les techniques de microencapsulation :

✓ **Atomisation (Spray drying)**

Le spray drying ou le séchage par pulvérisation est la méthode de microencapsulation la plus couramment utilisée (**Heindebach et al., 2013**). Le procédé se fait par la pulvérisation d'un mélange de noyau et de matériaux, formant une émulsion, suivie d'une homogénéisation du liquide, puis l'atomisation du mélange dans une chambre chauffée. Ceci conduit à l'évaporation complète du solvant et à la formation des microcapsules. Il est important de souligner que dans cette technique,

l'alimentation du produit, le débit de gaz et la température doivent être contrôlés (**Jamekhorshid et al., 2014. Martin et al., 2015**). Cette technique se caractérise par la rapidité, le faible coût, une meilleure stabilité de stockage et le plus important est qu'elle est adaptée pour des applications industrielles (**Burgain et al., 2011. Maciel et al., 2014**). L'inconvénient du séchage par pulvérisation est le fait que la technique a un petit champ d'application, mais le principal problème est l'utilisation de la température qui n'est pas compatible avec la survie des bactéries (**Kent et Doherty, 2014**).

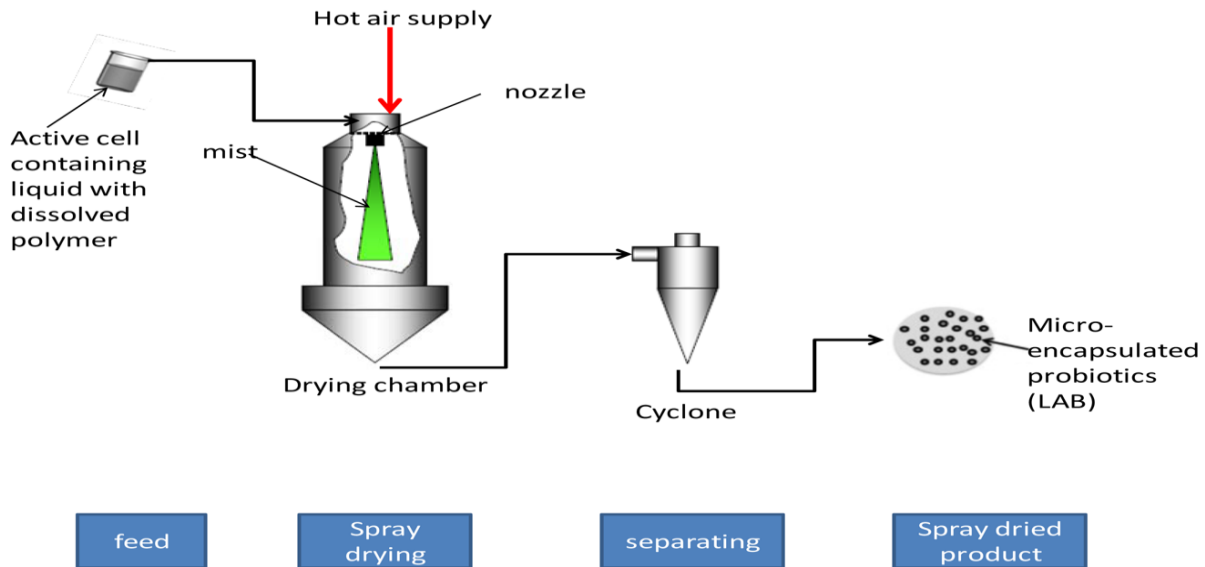


Figure I.2 : Schéma de la technique de spray-drying (**Feucht et Kwak, 2013**)

✓ Emulsification :

Il s'agit du processus consistant à disperser une phase liquide dans une autre phase liquide où la première pourrait être appelée la phase dispersée (phase interne ou discontinue) et l'autre phase est appelée la phase continue (la phase externe) (**Jacobs, 2014**). Pour l'encapsulation dans une émulsion, on utilise des hydrocolloïdes (alginate, carraghénane et pectine) comme matériaux d'encapsulation (**Burgain et al., 2011**).

Dans cette technique, la phase discontinue (suspension de polymère cellulaire) est ajoutée à un grand volume d'huile (phase continue). Le mélange est homogénéisé pour former une émulsion d'eau dans l'huile (**Martin et al., 2015**). La deuxième étape suivante comprend l'addition de CaCl_2 pour durcir la dispersion aqueuse, de sorte que de petites perles sont formées par insolubilisation de la cellule hydrocolloïde dispersée dans la phase huileuse. En variante, un procédé de refroidissement ou addition d'un gélifiant ou réticulant peut être appliqué pour solidifier les

gouttelettes (Feucht et Kwak, 2013). La taille des billes dépend donc de la vitesse d'agitation et peut varier entre 25 μm et 2 mm (Huq *et al.*, 2013). Les émulsions souffrent des mauvaises instabilités, besoin d'une agitation vigoureuse qui peut nuire à la survie des cellules, et l'incorporation aléatoire de cellules dans les capsules (El-Salam et El-Shibiny, 2015).

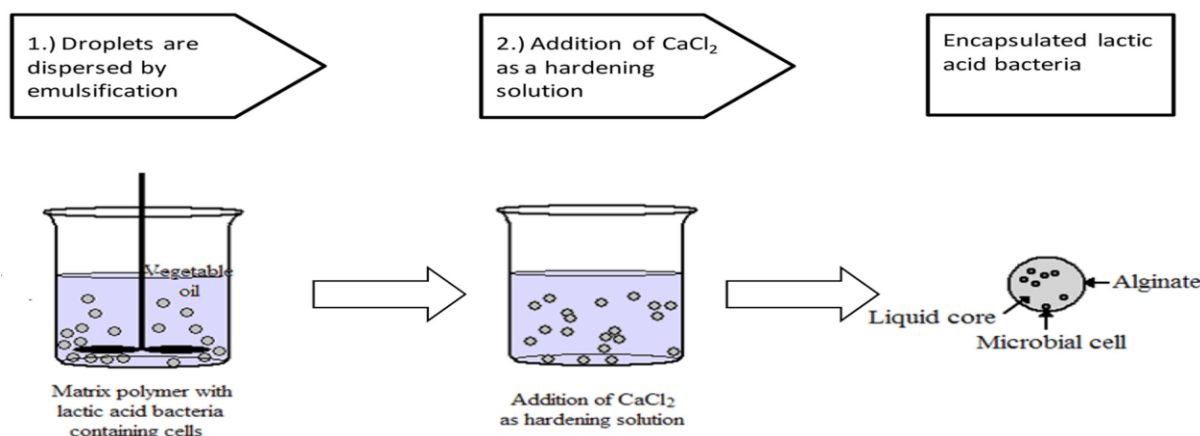


Figure I.3 : Schéma de la procédure d'émulsion (Feucht et Kwak, 2013)

✓ Extrusion :

Cette méthode est basée sur un gel de polysaccharide qui immobilise les cellules au contact d'un ion multivalent. L'extrusion consiste à incorporer les cellules viables dans une solution hydrocolloïdale, puis le mélange est soumis à une extrusion par goutte à goutte par l'intermédiaire d'une pipette ou d'une seringue de calibre réduit dans une solution de durcissement, telle que le chlorure de calcium (Silva *et al.*, 2014). La formation de gouttelettes se produit de manière contrôlée (contrairement à la pulvérisation) (Martin *et al.*, 2015). La technique d'extrusion est la méthode la plus populaire en raison de sa simplicité, flexibilité, faible coût, biocompatible, et assurent une viabilité cellulaire élevée (Huq *et al.*, 2013).

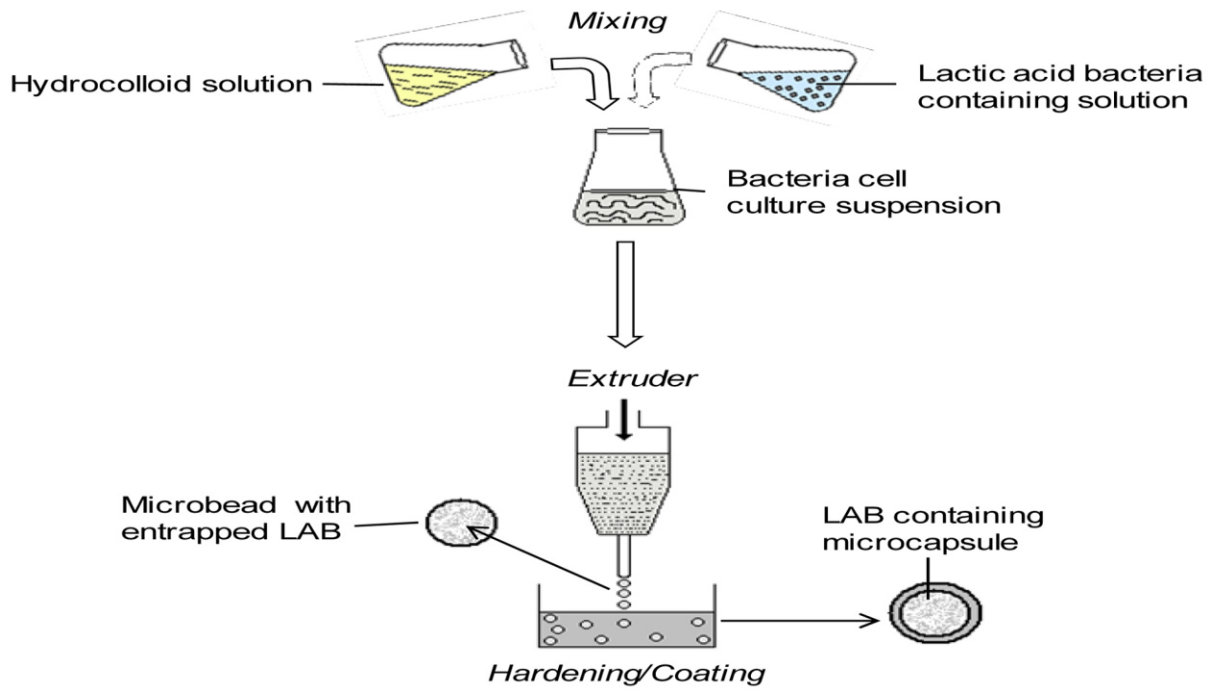


Figure I.4 : Schéma de la procédure d'extrusion (Feucht et Kwak, 2013)

I.3/Stress

I.3.1/Définition de stress

Selon **Booth (2002)**, le stress correspond à « toute modification dans le génome, le protéome ou dans l'environnement, qui provoque une croissance réduite ou affecte la capacité à survivre. De telles modifications conduisent la cellule à tenter de restaurer un profil métabolique qui serait favorable à la survie, ou bien à une croissance plus rapide »

I.3.2/Les types de stress

I.3.2.1/Stress osmotique

Le stress osmotique correspond à une diminution ou une augmentation de l'osmolarité de l'environnement de la bactérie (**Csonka, 1989**) qui, en modifiant la disponibilité de l'eau de la cellule, affecte sa survie et/ou sa croissance (**Potts, 1994**).

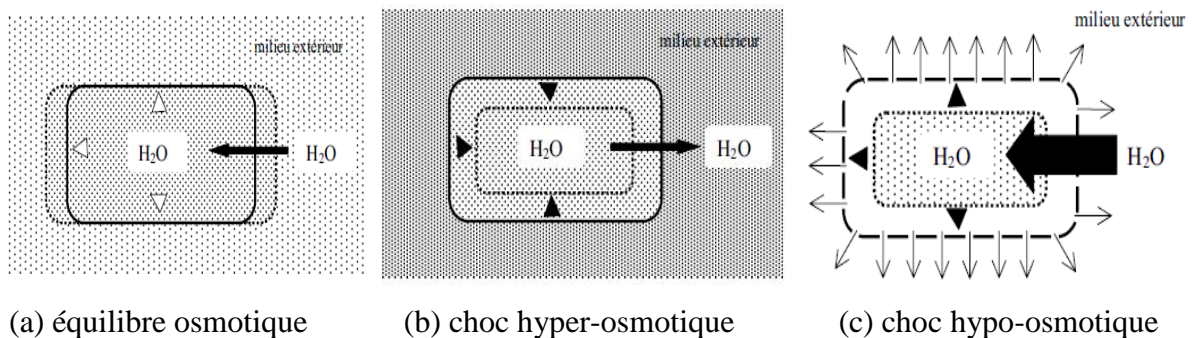


Figure I.5: Schéma représentative de la reponse de la cellule bactérienne au stress osmotique (**O'Byrne et Booth, 2002**).

L'effet du stress osmotique sur la cellule bactérienne :

✓ Environnement hypo-osmotique

Une diminution rapide de l'osmolarité du milieu extérieur (**choc hypo-osmotique**) provoque un afflux d'eau dans la cellule et par conséquent, une augmentation du volume cellulaire et de la pression de turgescence. Etant donné que la rigidité de la paroi bactérienne permet à la cellule de supporter des pressions élevées, un choc hypo-osmotique ne provoque, en général, qu'une faible augmentation du volume cellulaire (**Baliarda, 2003**).

✓ Environnement hyper-osmotique

Une augmentation soudaine de l'osmolarité de l'environnement (stress hyper-osmotique) entraîne le mouvement de l'eau de la cellule vers l'extérieur ; le volume du cytoplasme diminue. Ce phénomène de plasmolyse peut être détecté instantanément par une augmentation de la turbidité du milieu (**Koch, 1984. De Angelis et Gobbetti, 2004.**). La cinétique de plasmolyse dépend de l'importance de la variation de l'osmolarité du milieu et de la nature des solutés employés (sels, sucres...). Dans le cas d'un choc hyper-osmotique sévère, la brusque diminution de l'activité de l'eau du cytoplasme inhibe certaines fonctions cellulaires comme l'adsorption de nutriments, la réplication de l'ADN ou la biosynthèse de macromolécules (**Csonka, 1989**).

Réponse au stress osmotique des bactéries lactiques :

Les augmentations ou les diminutions de l'osmolalité extracellulaire engendrent couramment l'accumulation de molécules protectrices, appelées solutés compatibles dans le cytoplasme, qui permettent le rétablissement de l'équilibre osmotique à l'intérieur de la bactérie. (**Csonka et Hanson, 1991**). Les principaux solutés compatibles sont des ammoniums quaternaires (la bétaine et la carnitine), des acides aminés (la proline), des dérivés d'acides aminés (la proline-bétaine), des sucres (le tréhalose et le mannitol) et une gamme de peptides (prolyl-hydroxyproline). La bétaine et la carnitine sont les deux principaux solutés (**O'Byrne et Booth, 2002**).

De telles variations osmotiques étant délétères pour les bactéries, celles-ci possèdent des systèmes de transport et/ou de synthèse d'osmoprotectants ou solutés compatibles qui assurent le maintien de l'homéostasie par leur accumulation dans le cytoplasme ou leur rejet selon le type de stress osmotique. *Lactobacillus plantarum* n'est pas capable de synthétiser la glycine bétaine, et l'accumulation rapide de ce soluté dans le milieu intracellulaire observée en réponse à un choc hyperosmotique est due exclusivement au transport de ce composé depuis le milieu extérieur vers le cytoplasme. Des travaux ont mis en évidence l'existence chez cette espèce bactérienne d'un système de transport à haute affinité pour la glycine bétaine et la carnitine et à basse affinité pour la proline, nommé QacT (Quaternary ammonium compound Transporter). Une augmentation de l'activité de transport de la glycine bétaine via QacT a été observée spécifiquement lors d'une élévation de la concentration en sel du milieu extérieur et constituerait, pour *L.plantarum*, la réponse initiale à un choc hypertonique (**figure I.6**).

Des études chez *Lactococcus lactis* ont aussi démontré l'existence d'un opéron codant un système de transport à haute affinité pour la glycine bétaine appelé BusA (betaine uptake system A)

ou OpuA (osmoprotectant uptake A), dont l'expression augmente spécifiquement lors d'un choc hypertonique (**figure I.6**) (**Romeo et al, 2001**).



Figure I.6 : Représentation schématique des systèmes de transport de solutés compatibles chez *Lc. Lactis* et *Lb. Plantarum* (**Baliarda, 2003**). (Car : carnitine ; GB : glycine bêtaïne ; Pro : proline).

I.3.2.2/ Stress thermique :

Le stress thermique par élévation ou abaissement de la température à leur température optimale de croissance, provoque des perturbations importantes de la croissance qui font suite à des lésions de la membrane et de la paroi ainsi que des altérations des macromolécules cytoplasmiques (protéines, ADN, ARN, ribosomes) (**Béal, 2008. Cleiss, 2010**).

Réponse au stress thermique des bactéries lactiques

✓ Réponse au stress hyperthermique :

Cette élévation brusque de la température induit une augmentation rapide et transitoire de la synthèse des protéines de choc thermique, avec en parallèle une diminution temporaire de la synthèse des autres protéines cellulaires (**Harendeen et al., 1979**). Les protéases régularise jouent un rôle actif dans l'élimination des protéines endommagées de la cellule, modulent l'activité du régulateur principal de transcription (**Meyer et Baker, 2011**). Les protéines de type Hsps (Heat Shock Protein) ; Induites par un choc thermique chaud correspondent principalement à des protéines chaperons qui empêchent la formation d'agrégats irréversible des protéines dénaturant et aident les protéines dans l'acquisition de leurs structures autochtone (**Richter et al., 2010. Haslbeck et Vierling, 2015**).

✓ Réponse au stress hypothermique :

Une baisse importante de température les bactéries adaptent deux réponses distinctes :

- La première est à l'échelle cytoplasmique : qui entraîne la formation de structures secondaires sur l'ARNm, et par la suite une baisse de l'efficacité de la transcription et de la traduction, donc les bactéries augmentent la production des protéines de choc au froid de types Csp (cold choc proteins), qui déstabilisent les structures secondaires des ARNm, pour permettre le rétablissement optimal de la synthèse protéique (**Horn et al., 2007**).

- La deuxième réponse est au niveau membranaire : qui engendre la diminution de la fluidité membranaire, donc la bactérie réagit en augmentant la synthèse des lipides à courtes chaînes carbonées et des acides gras insaturés, qui ont une température de fusion plus basse, pour restaurer une fluidité membranaire optimale (**Abee et Wouters, 1999**).

I.3.2.3/Stress acide

Le stress acide est un stress important pour les LAB puisqu'elles acidifient leur milieu au cours de la croissance. La diminution du pH extracellulaire agit sur la flore microbienne des aliments en perturbant l'équilibre ionique du milieu extérieur, la perméabilité membranaire, les complexes cationiques saturés en ion H^+ n'assurant alors plus le transport d'autres cations indispensables à la bactérie (**Brul et Coote, 1999**).

Réponse au stress acide

L'exposition des LAB à un stress acide modéré (acide subléta) améliore fortement leur résistance vis-à-vis d'une contrainte acide létale. Ce phénomène est appelé « Acid Tolerance Response » (ATR). Cette ATR a été décrite chez différents Lactobacilles comme :

Lb. sanfranciscensis (**De Angelis et al., 2001. Drider et Prevost, 2009**), *Lb. collinoides* (**Laplace et al., 1999**), *Lb. acidophilus* (**Lorca et al., 1998**), *Lb. plantarum* (**Mc donald et al., 1990**).

Plusieurs mécanismes utilisés pour la résistance au stress acide sont : maintien de la force promotrice, la production des composés alcalins, et le changement dans la composition de l'enveloppe cellulaire (**Cotter et Hill, 2003**).

✓ Maintien de la force promotrice

Il s'agit des mécanismes visant à réduire les effets de l'accumulation intracellulaire de protons, en expulsant du milieu intracellulaire, en neutralisant par formation des espèces basiques, ou en

réparant les dégâts occasionnés. L'expulsion des protons est majoritairement assurée par la F₀F₁-ATPase. Ce système multimérique est surtout connu pour son rôle dans la production d'ATP dans le métabolisme respiratoire de nombreuses bactéries (**Dridier et Prevost, 2009**). Ce mécanisme de régulation du pH cytoplasmique a été étudié chez *Streptococcus faecalis* (**Kobayashi et al., 1982**).

✓ Production des composés alcalins

La production des composés alcalins comme l'ammoniac (NH₃), qui se combine avec un proton cytoplasmique et forme du NH₄⁺ peut augmenter ainsi le pH interne. Il y a deux voies enzymatiques utilisées par LAB pour produire le NH₃ : la voie de l'uréase et l'arginine déiminase (ADI) (**Cotter et Hill, 2003**). Dans la deuxième voie métabolique, l'ADI convertit l'arginine en ammoniac et citrulline, cette voie de dégradation de l'arginine permet donc non seulement d'augmenter le pH intracellulaire par production de NH₃, mais aussi de produire de l'énergie sous forme d'ATP (**Dridier et Prevost, 2009**).

✓ Modifications de l'enveloppe cellulaire

L'acidité entraîne des modifications dans les profils d'acides gras de la membrane en réponse aux changements du pH externe (**Cotter et Hill, 2003**). Cette modification a été observée chez de nombreuses LAB telles que : *Lb. acidophilus* (**Dridier et Prevost, 2009**).

Streptococcus mutans UA159 physiologiquement adapté à l'acidification pendant la croissance, implique plusieurs mécanismes différents, y compris la capacité de modifier sa proportion d'AG mono-insaturés de la membrane à longue chaîne, ces modifications qui pourraient contribuer à la diminution de perméabilité aux protons chez les cellules exposées à une acidité modérées. Les changements intervenus sont dus à la synthèse de protéines de novo ou à la novo biosynthèse des acides gras (**Fozo et al., 2004. Fozo et Quivey, 2004. Dridier et Prévost, 2009**).

II/Matériels et Méthodes

Notre travail a été réalisé au laboratoire de Microbiologie de l'Université Jijel pendant la période d'Avril- Juin 2017.

II.1. Matériel :

Cinq souches ont été utilisées :

Lactobacillus pentosus (Lb5), *Entérocooccus faecalis* (Lb6) : isolées de la viande cameline séchée

Lactobacilus plantarum (K3, K18) : isolées de Qlila (fromage traditionnel algérien)

Lactobacillus cellobiosus (10) : isolée de lait de chamelle.

II.1.1. Milieu de culture et réactifs :

✓ Milieu de culture :

Milieu MRS (Man Rogosa Sharp) bouillon et agar préparés au laboratoire.

✓ Réactifs et produits chimiques :

Solution tampon (PBS) 0,5 M. PH = 7,5 (NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4).

Alginate de sodium de qualité alimentaire à 2%.

Chlorure de calcium (CaCl_2) 0,5 M.

Solution d'éthanol.

HCl.

NaOH.

Solution de NaCl 3 % ,6% et 9%.

Eau physiologie 0,9% (ajusté pH 2, 4 et 7).

Eau distillée.

Eau physiologie + saccharose (10%).

Solution tampon (PBS) 0,5 M + saccharose (10%).

Boisson fruitée fraise (frutty).

II.1.2. Équipement :

Bain-marie (Gerhardt Bonn).

Vortex (Minishaker IKA).

Centrifugeuse (HETTICH ZENTRIFUGEN).

PH-mètre (HANNA instrument).

Incubateurs (Mettler).

Four (commandes).

Compteur de colonies (Funke Gerber).

Bec benzène.

Balance (Scout Pro).

Autoclave (Silli AVX électronique).

Microscope optique (Paralux).

Microfiltres (25 et 45mm).

Seringue (2,5 ml).

Balance analytique (Kern ALS 220.4N).

Barreau magnétique.

II.2. Méthodes :

II.2.1. Révifification et la vérification de la pureté des souches :

La revivification des souches est une étape essentielle avant chaque expérience. Pour cela, nous avons fait des prélèvements de quelques colonies des souches (Lb5, Lb6, K3, K18 et 10) avec l'anse de platine et nous l'avons ensemencé dans des tubes à essai contenant 10 ml de bouillon nutritif, ensuite les tubes sont incubés à 37°C sous agitation pendant 18h.

II.2.2. Préparation des cellules pour le processus de microencapsulation :

Les cinq souches cultivées dans le bouillon MRS à 37 ° C pendant 16 h ont été collectées après centrifugation (6 000 tr / min pendant 10 min). Le culot contient les cellules lavées une fois avec de l'eau physiologique et suspendue dans 10 ml de l'eau distillée pour obtenir une DO de 1,6 à 600 nm selon la méthode d'**Al-Furaih et al., 2016**.

II.2.3. L'encapsulation de bactéries dans la matrice d'alginate :

La technique d'extrusion :

La méthode de **Al-Furaih et al., 2016** a été adoptée avec quelques modifications : 40 ml d'alginate de sodium à 2% mélangé avec 10 ml de suspension bactérienne homogénéisé, le mélange a été introduit dans une seringue stérile (2,5 ml) et laissé tomber dans une solution de CaCl₂ (200 ml) froide avec une douce agitation à l'aide de barreau magnétique pendant 30 min et les billes ainsi formées sont filtrées et conservées dans de l'eau physiologique à 4°C pour une utilisation ultérieure.

II.2.4. Cellules libres et de microencapsulation dans les conditions de stress osmotique :

✓ Stress osmotique par NaCl :

1ml de cellules libres et 1ml (50 billes) de cellules encapsulées ont été placés dans des tubes à essai contenant 9 ml des solutions de NaCl (3, 6 et 9%) et pH 4,0. et après 3 h d'incubation à 37 °C et après dilution, les taux de survie des cellules libres et encapsulées ont été évalués par énumération sur gélose MRS. Et à l'aide de la cellule Malassez (**Bosnea et al., 2014**).

La viabilité des cellules libre et encapsulés a été surveillée après 7, 14, 21, 28j stocké à 4°C.

✓ **Stress osmotique par sucre :**

1ml de cellule libre et 1ml (50 billes) de cellules encapsulées ont été placés dans des tubes à essai contenant 9 ml de jus de fraises stériles. Les tubes ont été incubés à 4 °C, et la survie des cellules libres et encapsulées a été évaluée à 0h, 3h, 7j et après 14j sur gélose MRS et avec cellules de malassez (**De Prisco et Mauriello, 2015**).

II.2.5. Traitement acide de cellules libres et microencapsulées

1ml de cellules libres et 1ml (50 billes) de cellules encapsulées ont été placés dans des tubes à essai contenant 9 ml de l'eau physiologique (pH 2, 4 et 7), et le taux de survie des cellules libres et encapsulées a été évalué par énumération sur gélose MRS et avec cellule de Malassez à 3 h, 7 jours et 14 jours (**Bosnea et al., 2014**).

III.1/Aspect et taille des micrcapsules (billes) :

La microencapsulation a été préparée par la méthode d'extrusion avec l'alginate à 2 %, les billes obtenues ont structure sphérique de taille uniforme d'environ 1,62 mm de diamètre.

Tableau III.1 : Les caractères des billes des cinq souches dans la matrice d'alginate de sodium.

Caractères Souches	Diamètre (mm)	Aspect	Poids (mg)	Le nombre des cellules / bille	Le nombre des bille /ml de gel
Lb 5	1,62	Sphérique	7,3	$2,5 \times 10^9$	50
Lb 6	1,62	Sphérique	7,5	$2,5 \times 10^9$	50
K3	1,62	Sphérique	7,8	$2,87 \times 10^9$	50
K18	1,62	Sphérique	6,75	5×10^9	50
10	1,62	Sphérique	6,9	$2,5 \times 10^9$	50

Nous avons trouvé : $2,5 \times 10^9$ cellules/bille par la lyse de 4 billes dans 2 ml de PBS puis vortex et le comptage ce fait sur une cellule de Malassez.



Figure III.7 : Aspect des billes de Lb5 obtenus par la méthode d'extrusion.

III.2/Survie des souches Lb5, K18, 10, K3 et Lb6 libres et encapsulées exposées au stress osmotique :

✓ Stress osmotique par NaCl :

Trois différentes concentrations de NaCl (3%, 6% et 9%) ont été utilisées, le nombre de cellules viables de Lb5, K18, 10, K3 et Lb6 libres et encapsulées a été compté à des temps différents (de 3 heures (h) à 28 jours (j)).

-*Lactobacillus pentosus* (Lb5) :

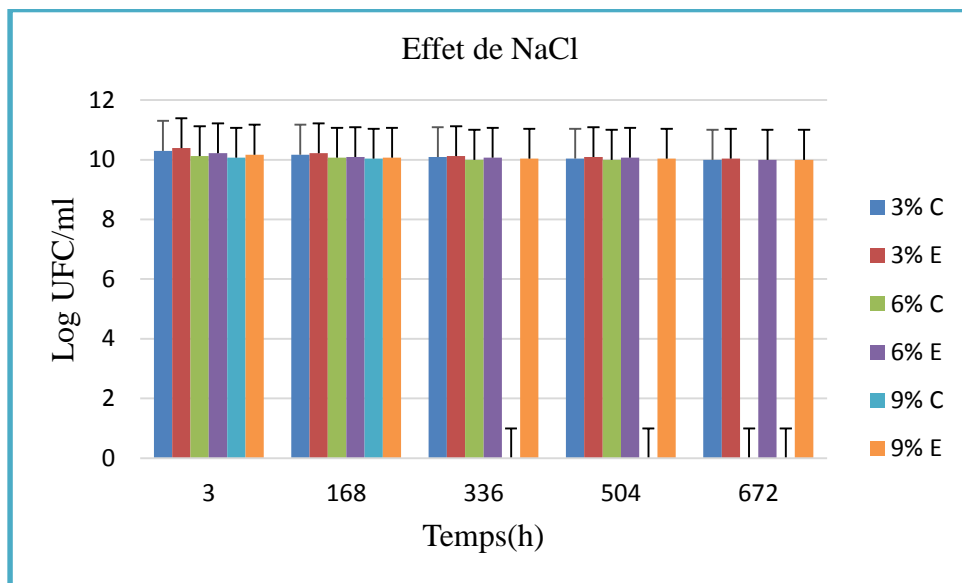


Figure III.8 : viabilité de Lb5 à différentes concentrations de NaCl.

(C : control, E : essai)

D'après les résultats montrés à la **figure III.8**. À une concentration de 3%, nous avons observé que le nombre des cellules libres a diminué de 10,30 au 10,00 Log UFC/ml (différence de 0,30) après 3 h d'incubation puis il reste presque stable pendant toute l'expérience. En ce qui concerne les cellules encapsulées, la différence de compte était de 0,35, avec un compte initial de 10,39 et finale 10,04 Log UFC/ml respectivement ces résultats sont non significatifs (NaCl a un effet sur les cellules libres et les cellules encapsulées, alors que la microencapsulation a donné une protection sur les cellules mais elle est très faible).

À 6% de concentration NaCl, nous avons remarqué une baisse de viabilité de bactéries libres de 10,12 à 10,00 Log UFC/ml après (de 3h jusqu'à 21j), puis une perte totale de viabilité après 28

jours. Pour les cellules encapsulées, la différence était de 0,15, allant de 10,22 à 10,07 Log UFC/ml pour le même temps d'incubation mais après 28 j, la différence était 0,12 (résultats non significatifs).

En présence de 9% les cellules de Lb5 à l'état libre subissent une perte de la viabilité plus que a 6%, ce qui présente un taux de survie varie de 10,07 à 10,04 Log UFC/ml après 3h d'incubation, cette réduction continue durant 7j, puis une mortalité totale après 14 jours. Pour les bactéries encapsulées, la différence était de 0,10, allant de 10,17 à 10,07 Log UFC/ml (de 3h jusqu'à 7j), après 28j (différences de 0,17) (résultats significatifs), la microencapsulation donne une bonne protection pour les cellules contre l'effet de la NaCl).

-Lactobacillus plantarum (k18) :

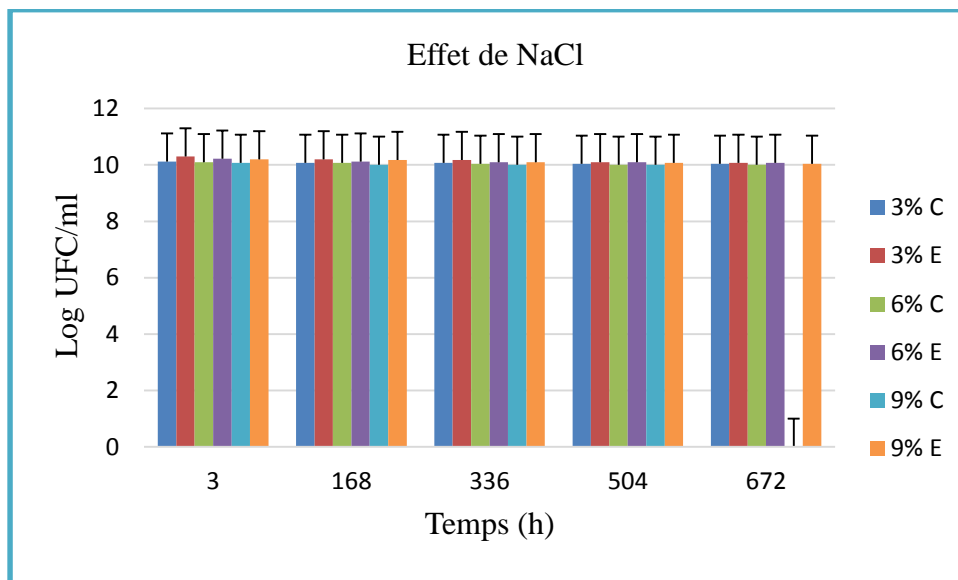


Figure III. 9 : viabilité de K18 à différentes concentrations de NaCl.

D'après les résultats montrés à la **figure III.9**. Nous avons remarqué une baisse de la viabilité de K18 de 10,12 à 10,04 Log UFC/ml (différence de 0,08) après incubation des cellules libres de 3h jusqu'à 28j dans la concentration de 3%, alors que pour les cellules encapsulées on a débuté cette expérience avec un nombre initial de 10,30 Log UFC/ml, puis cette valeur a diminué après 7j d'exposition ainsi cette diminution continue durant les 14j, 21j et 28j d'incubation jusqu'à 10,07 Log UFC/ml (la différence de compte était de 0,23).

À une concentration de 6% de NaCl, nous avons observé une diminution de la viabilité dont le nombre de bactéries libres varie de 10,09 à 10,00 Log UFC/ml (différence de 0,09). Pour les cellules encapsulées, la différence était de 0,15, allant de 10,22 à 10,07 Log UFC/ml.

Le nombre des cellules libres à la concentration 9% varie de 10,07 à 10,00 Log UFC/ ml entre 3h et 21j, puis une perte totale de mortalité après 28j. Pour les bactéries encapsulées, la différence était de 0,13, allant de 10,20 à 10,07 Log UFC/ml entre 3h et 21j, après 28j la différence était de 0,16.

-Lactobacillus cellobiosus (10) :

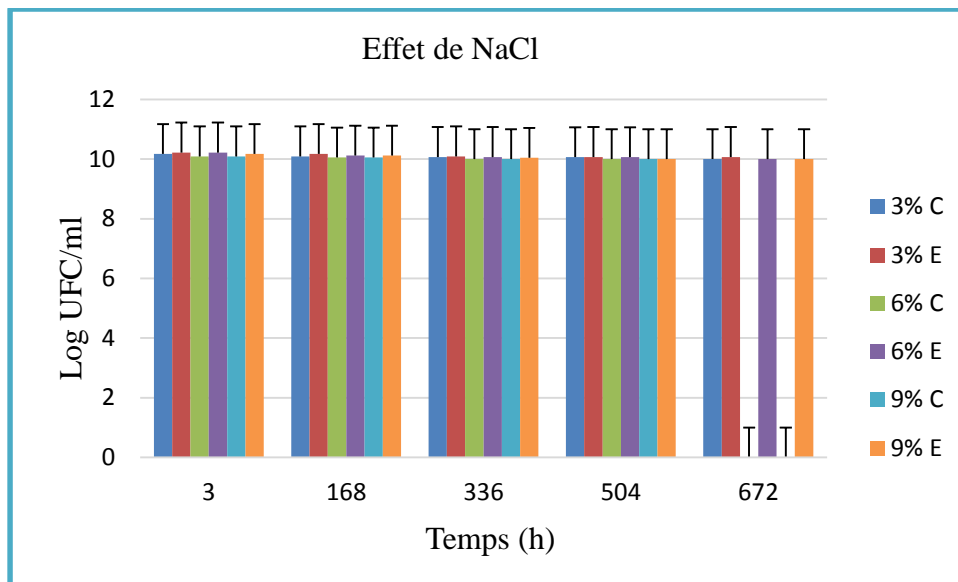


Figure III.10 : viabilité de 10 à différentes concentrations de NaCl.

D'après les résultats montrés à la **figure III.10**. À l'exposition à 3% de NaCl, il y avait un taux de survie initial de 10,17 Log UFC/ml pour les cellules libres après 3h, cette viabilité a diminué après 7j, cette diminution continue durant 14j, 21j et 28j qui donne un taux de survie final de 10,00 Log UFC/ml (différence de 0,17), pour les cellules encapsulées, une diminution de la viabilité à la fin du temps d'incubation de 0,15 (différence de 10,22 Log UFC/ml et 10,07 Log UFC/ml).

À une concentration de 6% de NaCl, nous avons remarqué une baisse de la viabilité plus que à 3% dont le nombre de bactéries libres varie de 10,09 à 10,00 Log UFC/ml pour le temps d'incubation de 3h à 21j, puis une perte de viabilité après 28j. Pour les cellules encapsulées, la différence était de 0,16, allant de 10,22 à 10,06 Log UFC/ml entre 3h à 21j, après 28j la différence était de 0,22.

Le nombre des cellules libres à la concentration 9% varie de 10,09 à 10,00 Log UFC/ml entre 3h et 21j, puis une perte totale de viabilité après 28j. Pour les bactéries encapsulées, la différence était de 0,17, allant de 10,17 à 10,00 Log UFC/ml, et on remarque une diminution de la viabilité plus que à 6%.

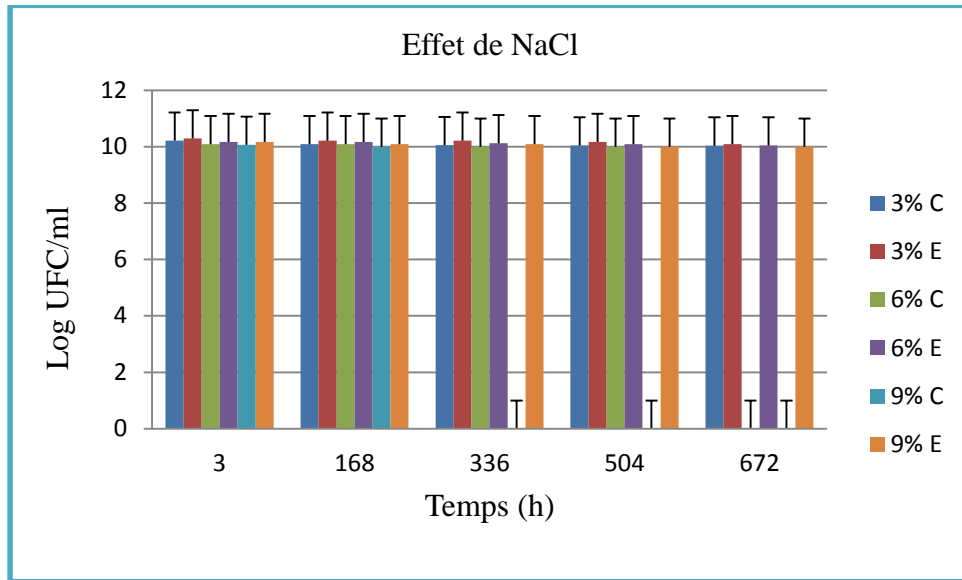
-Lactobacillus plantarum (k3) :

Figure III.11 : viabilité de K3 à différentes concentrations de NaCl.

D'après les résultats montrés à la **figure III.11**. À une concentration de 3%, le taux de survie a diminué de 10,22 à 10,04 Log UFC/ml (différence de 0,18). En ce qui concerne les cellules encapsulées, la différence était de 0,21 avec un nombre initial de 10,30 et nombre final de 10,09 Log UFC/ml dans ce cas, La baisse s'est produite jusqu'à la fin d'incubation, en gardant plus tendances des comptes par rapport aux cellules libres.

À une concentration de 6% de NaCl, nous avons remarqué une légère baisse de la viabilité par rapport de 3% dont le nombre de bactéries libres varié de 10,09 à 10,00 Log UFC/ml entre 3h et 21j, puis la perte de viabilité après 28j. Pour les cellules encapsulées, on a débuté cette expérience avec un nombre de cellule initiale 10,17 Log UFC/ml pendant 3h d'incubation, puis cette valeur a diminué après 7j d'exposition, cette réduction continue durant 28j d'incubation jusqu'à 10,05 Log UFC/ml (la différence était de 0,12).

Le nombre des cellules libres à la concentration 9% varie de 10,07 à 10,00 Log UFC/ml entre 3h et 7j, puis une perte de viabilité après 14j. Pour les bactéries encapsulées, la différence était de 0,08 allant de 10,17 à 10,09 Log UFC/ml entre 3h et 7j, après 28j la différence était de 0,17.

Entérocooccus faecalis (Lb6) :

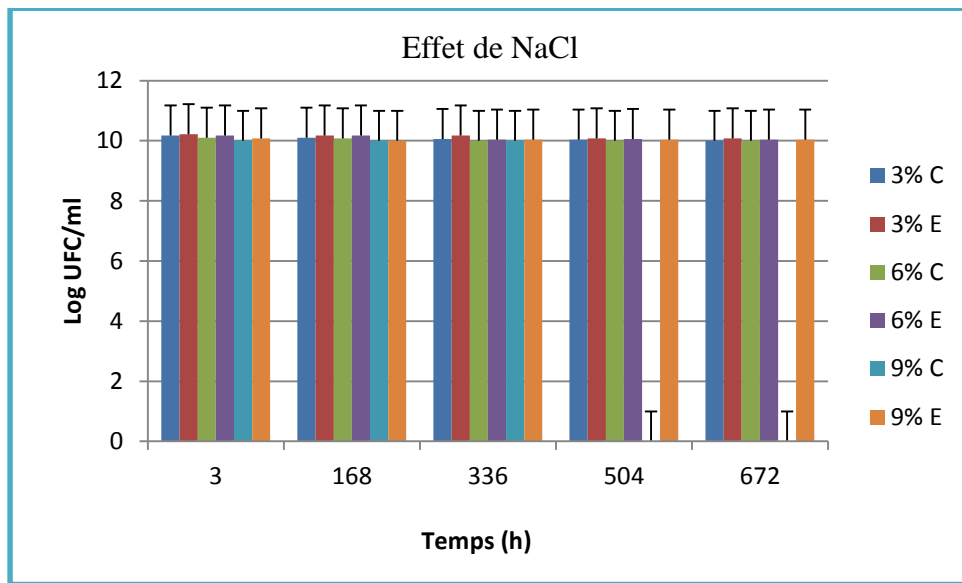


Figure III.12 : viabilité de Lb6 à différentes concentrations de NaCl.

D'après les résultats montrés à la **figure III.12**. En présence de 3% de NaCl, la réduction du nombre des bactéries encapsulées et libres a été signalé après 3h et continue à diminuer lentement au cours du temps, donc la différence entre le nombre initial et le nombre final pour les bactéries libres était de 0,18 allant de 10,18 à 10,00 Log UFC/ml, d'autre part la différence pour les cellules encapsulées est de 0,14, avec un nombre initiale de 10,22 et un nombre final 10,08 Log UFC/ml respectivement .

Avec 6% de NaCl, la viabilité de la souche, soit des formes libres soit des formes encapsulée était réduite après 3 h d'incubation par rapport à la concentration 3% ,donc le taux de survie pour les cellules libres a été varié entre 10,10 et 10,00 Log UFC/ml (différence de 0,10), pour les cellules encapsulées, la différence était de 0,14, allant de 10,18 à 10,04 Log UFC/ml (résultats non significatifs).

La viabilité de cellules libres et encapsulées à la concentration 9% de NaCl était plus lente par rapport à celles décrites précédemment, pour les cellules libres nous avons remarqué des valeurs stables à 10,00 Log UFC/ml entre 3h et 14j puis une perte totale de viabilité après ce temps, en revanche, la viabilité pour les cellules encapsulées varie entre 10,08 à 10,04 Log UFC/ml avec une différence de 0,04.

Comme résumé des résultats des cinq souches, avec chaque concentration de NaCl, le nombre des cellules encapsulées viables restent toujours supérieur aux nombre des cellules libres. On peut conclure que la viabilité était meilleure à concentration de 3% par rapport aux autres concentrations

(6% et 9%), et le taux de survie des cellules encapsulées est mieux que le taux de survie des cellules libres. Les cinq souches sont également capables de s'adapter rapidement à la baisse d'osmolarité, donc le taux de croissance a été plus rapide, cela indique que l'alginate de sodium a fourni une plus grande protection pour les cinq souches lorsqu'elles ont été soumises à un stress plus élevé de la pression osmotique. Nos résultats ont confirmé les données obtenues avec **Krasaekoopt et al., 2006** qui ont montré que l'encapsulation dans l'alginate et le chitosane était efficace pour améliorer la viabilité du *Lb.acidophilus* et *Lb.casei* dans le yaourt.

D'autre part, la viabilité des cellules bactériennes a été donnée une bonne résistance dans la concentration de 3% mais elle est diminué avec l'augmentation de cette concentration (6% et 9%). Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Gomes et al., 1998** qui rapporté la survie de *Lb. acidophilus* a diminué avec l'augmentation des taux de chlorure de sodium supérieurs à 3%, et dans une autre étude de **Cruz et al., 2015** lorsque *Lb. acidophilus* libre était exposée à une concentration de NaCl supérieure à (6%), une réduction de la viabilité a été remarquée montrant que a cette concentration, les microorganismes deviennent moins résistant à l'effet osmotique.

Pour les cellules encapsulées le nombre aussi a été diminué aux concentrations de 6% et 9% au cours du temps, dans leur cycle de vie normal, ces cellules subissent des transformations morphologiques, en outre, les effectifs de stress osmotique conduisent à des variations similaires qui provoquent un dommage au niveau de l'alginate, il y avait un gonflement avec un ramollissement avec le temps. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Piuri et al., 2005** qui a remarqué que lors de la croissance de de *Lb. casei* en milieu avec concentrations élevées en sel, un retard de croissance peut être associé à une augmentation de la taille cellulaire (les cellules sous stress sont 60% plus grandes que celles sans stress).

Stress osmotique par sucre :

Un jus de fraises (fruity, sucre concentrés de jus et pulpe de fraise, selon l'étiquette) a été acheté auprès d'un supermarché local et utilisé, le nombre de cellules viables de Lb5, K18, 10, K3 et Lb6 libres et encapsulées a été compté à des temps différents (de 0 h à 14 j).

-Lactobacillus pentosus (Lb5) :

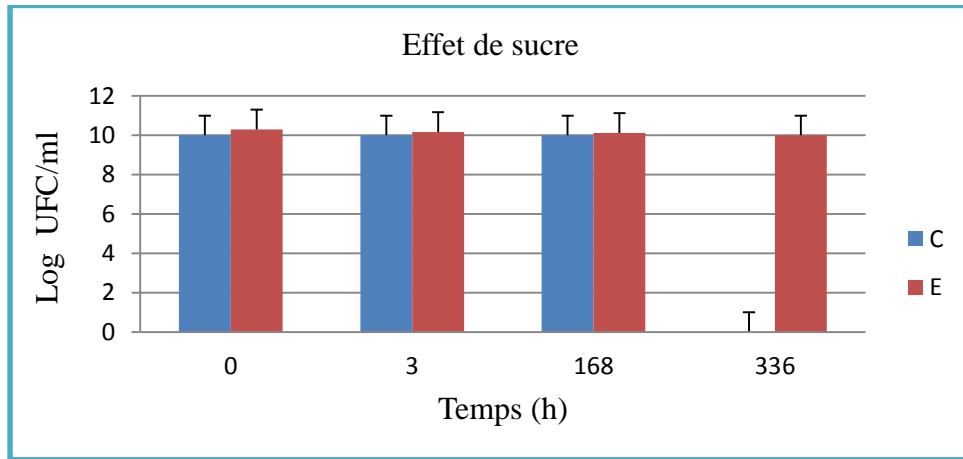


Figure III.13 : viabilité de Lb5 dans le jus de fruit.

D'après les résultats montrés à la **figure III.13**. Le nombre des bactéries libres était stable et environ 10,00 Log UFC/ml entre 0h et 7j, puis une perte de viabilité était observée après 14j, par contre pour les bactéries encapsulées le nombre varié de 10,30 à 10,00 UFC/ml après 14j d'incubation.

-Lactobacillus plantarum (k18) :

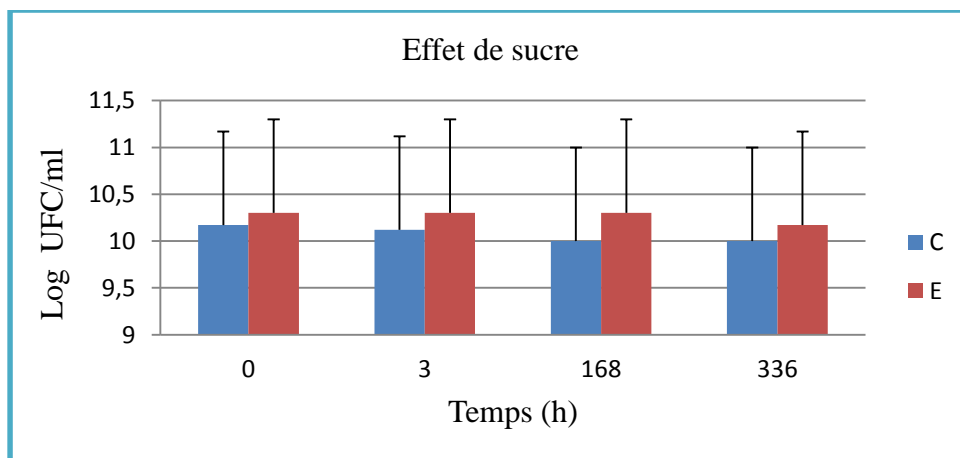


Figure III.14 : viabilité de K18 dans le jus de fruit.

D'après les résultats montrés à la **figure III.14**. Le nombre des bactéries libres varié de 10,17 à 10,12 Log UFC/ml après 3h d'incubation puis stabilisé après 14j, par contre pour le nombre des cellules encapsulées, nous avons observé une stabilisation de 10,30 Log UFC/ml après 7j d'incubation puis une petite diminution a 10,17 Log UFC/ml après 14j.

-Lactobacillus cellobiosus (10) :

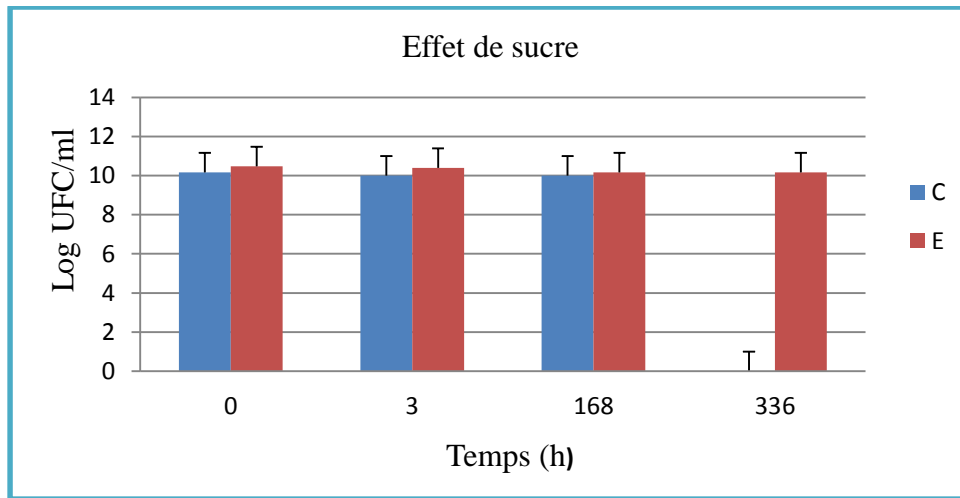


Figure III.15 : La viabilité de 10 dans le jus de fruit.

D'après les résultats montrés à la **figure III.15**. Nous avons remarqué un déclin de la viabilité de la souche 10 de 10,17 à 10,00 Log UFC /ml après 7j d'incubation des cellules libres, puis une mortalité totale après 14j, alors que pour les cellules encapsulées le nombre viable diminue de 10,47 à 10,17 Log UFC/ml entre 0 h et 7 j puis une stabilisation jusqu'à 14j a 10,17 Log UFC /ml.

-Lactobacillus plantarum (k3) :

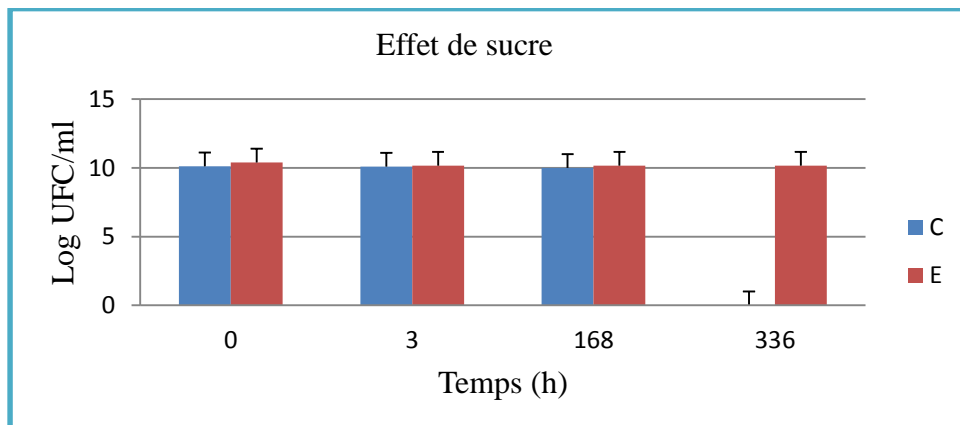


Figure III.16 : viabilité de K3 dans le jus de fruit.

D'après les résultats montrés en dessus, nous avons remarqué une variation de viabilité de K3 du nombre initial (10,12 Log UFC/ ml) pour atteindre (10,09. 10,00 et non détectable) après 3h, 7j et 14j d'incubation des cellules libres, alors que pour les cellules encapsulées, nous avons observé une diminution de 10,39 à 10,17 Log UFC/ml après 3h puis une stabilisation a 10,17 Log UFC/ml après 14j d'incubation.

-Entérocooccus faecalis (Lb6) :

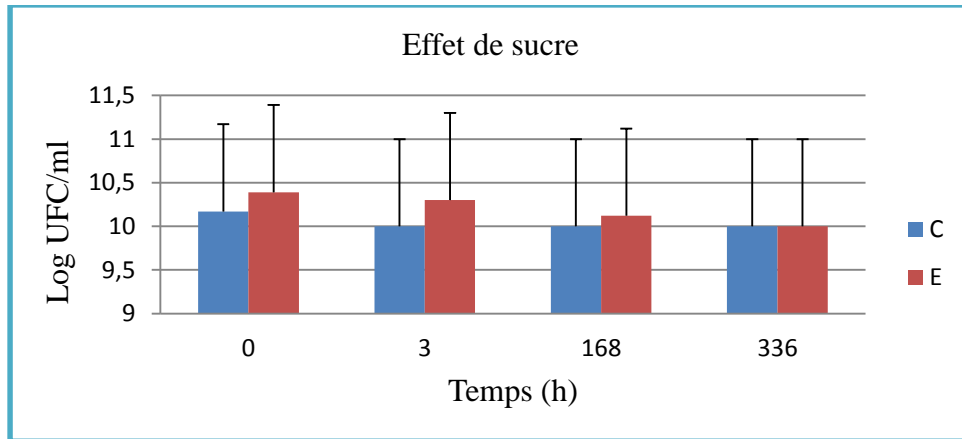


Figure III.17 : viabilité de Lb6 dans le jus de fruit.

D'après les résultats montrés à la **figure III.17**. Le nombre de bactéries libres varie de 10,17 à 10,00 Log UFC/ml entre 0h et 3h puis une stabilisation da 10,00 Log UFC/ml après 14j, alors que pour les cellules encapsulées, le nombre des varie du nombre initial (10,39 Log UFC/ ml) pour atteindre (10,30. 10,12. 10,00 Log UFC/ml) après 3h ,7j et 14j respectivement.

D'après ces résultats on peut conclure que la viabilité des souches pour les deux cas libres et encapsulées été réduite au cours du temps. Mais le nombre des cellules encapsulées reste supérieur aux nombre des cellules libres. Cela indique que l'alginate de sodium a amélioré la survie cellulaire des cinq souches lorsqu'elles ont été soumises au stress osmotique par sucre. Nos résultats ont confirmé les données obtenues avec **Nualkaekul et al., 2013** qui ont montré que l'encapsulation dans l'alginate et la pectine a légèrement amélioré la survie de *Lb. plantarum* mais pas celle de *Bifidobacterium longum* dans le jus de fruit.

La diminution de la viabilité au cours de temps indique que la composition de jus affecte fortement à la viabilité des probiotiques pendant le stockage. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Vinderola et al., 2002** qui ont noté que les jus de fruits peuvent contenir des inhibiteurs de croissance microbiens ou des additifs, tels que des colorants et des arômes, qui peuvent être associe à la perte de viabilité, et qui ont constaté aussi que la plupart des souches testées étaient

sensibles aux arômes des fraises, de bananes et de pêche. Et dans une autre étude de **Sheehan et al., 2007**, le pH des jus de fruits, généralement compris entre 2,5 et 3,7 combiné à l'effet acide benzoïque et lactones, disponibles en quantités élevées dans certains jus de fruits, pourrait être responsable d'une perte importante de la viabilité des probiotiques.

III.3/Nombre de cellules Lb5, K18, 10, K3 et Lb6 libres et microencapsulées après traitement acide

Le pH est un facteur important qui détermine les interactions entre les biopolymères et les différents environnements. Dans cette étude, les bactéries microencapsulées ont été testées pour la survie dans différentes valeurs de pH (2, 4, 7) à des temps différents (3h, 7j et 14j). Les figures (12, 13, 14, 15, 16) illustrent que la survie des souches était plus faible à des valeurs de pH plus faibles et a diminué que la période d'incubation est augmentée.

En général, le nombre de cellules viables a été diminué dans tous les pH testés avec le temps. La diminution la plus observée était de pH 2 suivie de pH 4 respectivement. Noter également que le déclin était plus rapide pour les cellules libres que pour les cellules microencapsulées.

-*Lactobacillus pentosus* (Lb5) :

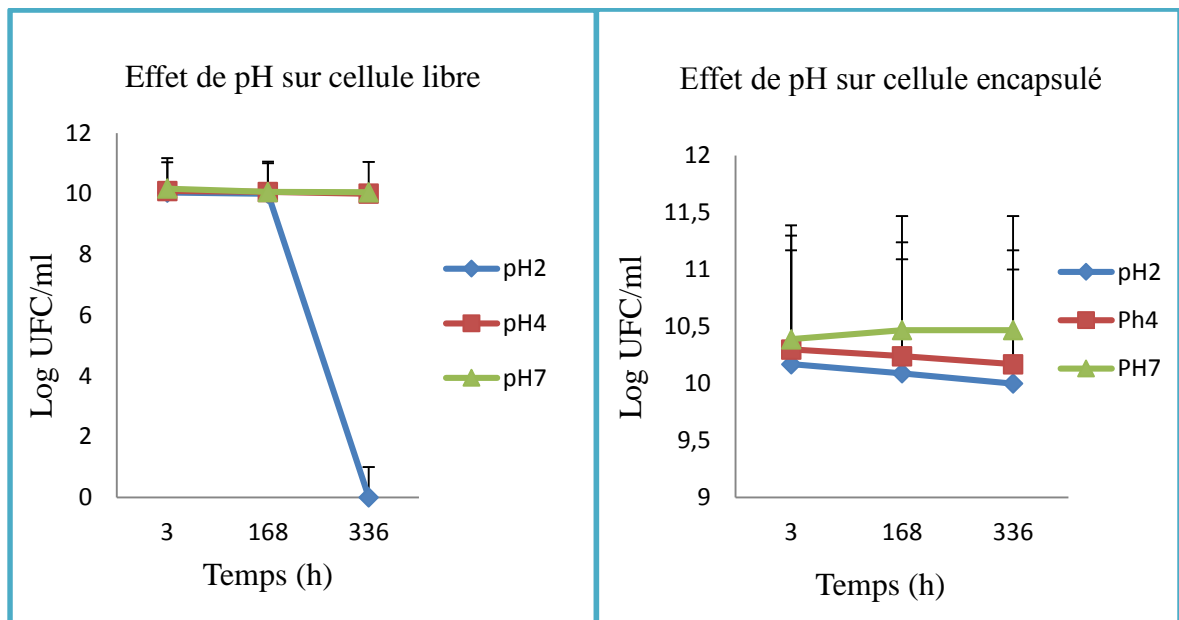


Figure III.18 : viabilité de Lb5 à différents pH.

D'après les résultats montrés à la **figure III.18**. A pH 2, le nombre de cellules libres a été décliné du nombre initial (10,30 log UFC/ ml) pour atteindre (10,04.10, 00 et non détectable) après 3h, 7j et 14j d'incubation à 4°C, pour les cellules microencapsulées, le nombre a diminué du nombre initial

(10,39 Log UFC/ ml) pour atteindre (10,17. 10,09. 10,00 Log UFC/ml) après les mêmes intervalles du temps, respectivement. Mais à pH7, le dénombrement des cellules libres a diminué du nombre initial puis a resté approximativement stable cependant, le nombre de cellules microencapsulées a augmenté du nombre initial (10,93 Log UFC/ ml) pour atteindre (10,39. 10,47. 10,47 Log UFC/ ml) après 3h, 7j et 14j respectivement.

-Lactobacillus plantarum (k18) :

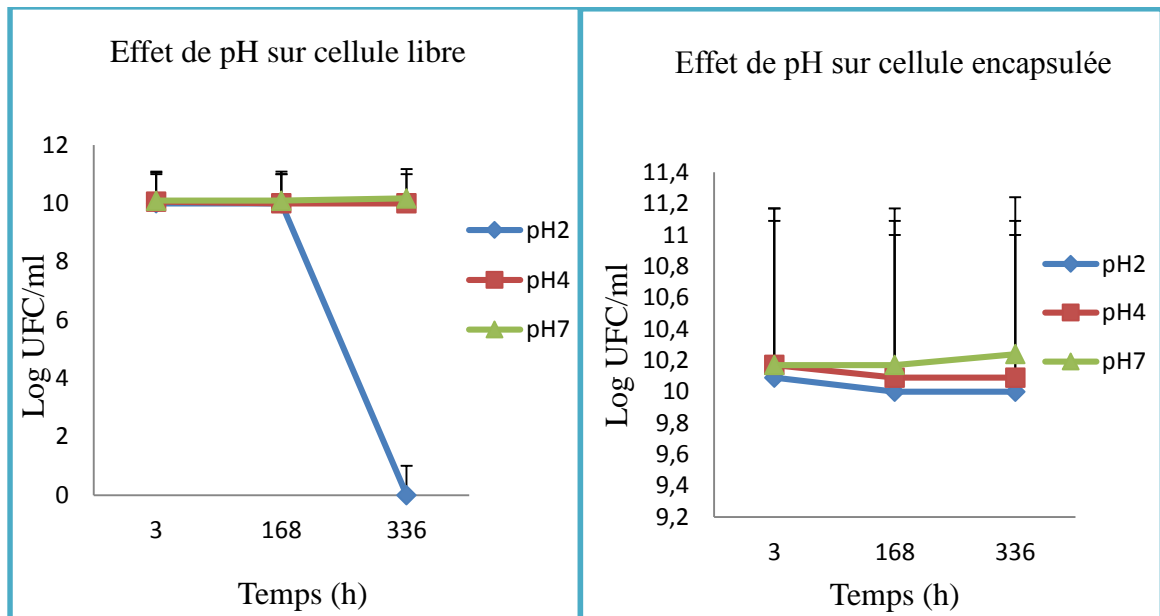


Figure III.19 : viabilité de K18 à différents pH.

D’après les résultats montrés à la **figure III.19**. A pH 2 le nombre des cellules libres a été décliné du nombre initial (10,17 Log UFC/ ml) pour atteindre (10,00. 10,00 et 0,00) après 3h, 7j et 14j d’incubation à 4°C, pour les cellules microencapsulées le nombre viable a diminué du nombre initial (10,30 Log UFC/ ml) pour atteindre (10,09. 10,00. 10,00 Log UFC/ml) après les même périodes du temps, respectivement. A pH4, le nombre des cellules libres a resté approximativement stable, le nombre des cellules encapsulées a subit une diminution légère soit négligeable mais reste le nombre des cellules encapsulées supérieures à celui des cellules libres. Mais à pH 7, le nombre des cellules libres ou encapsulées a resté stable jusqu’à 14j, alors que les cellules encapsulée reste augmente avec le temps.

-Lactobacillus cellobiosus (10) :

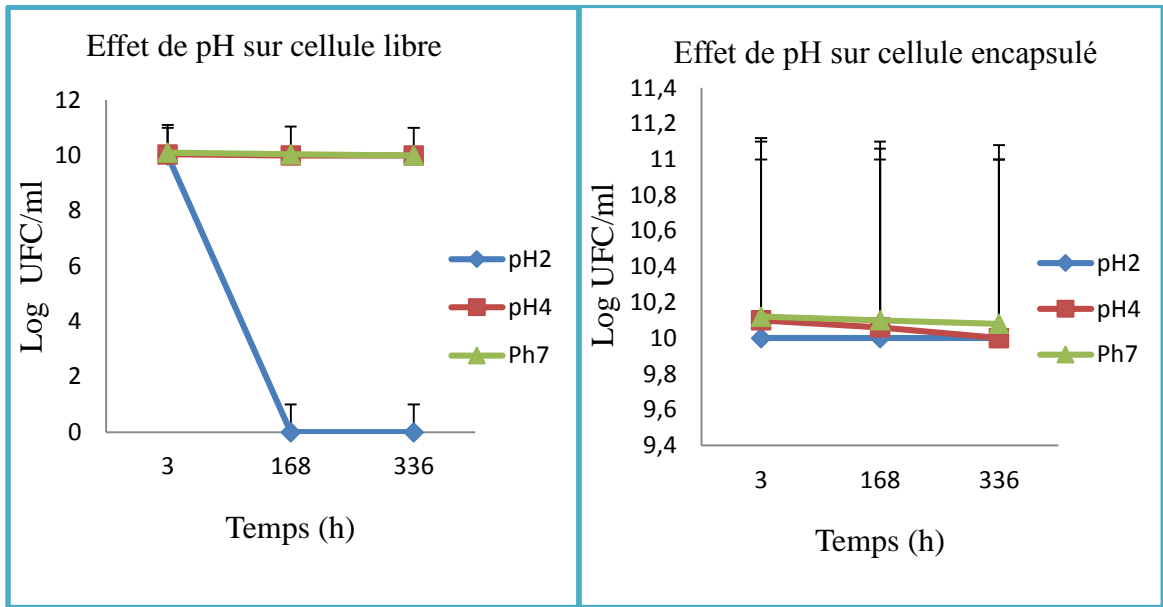


Figure III.20 : viabilité de 10 à différents pH.

D'après les résultats montrés à la **figure III.20**. A pH 2 nous avons remarqué une stabilisation des nombre des cellules encapsulées à 10,00 Log UFC/ml à toutes les périodes d'incubation, par contre pour les cellules libres 10,00 Log UFC/ml à 3 h puis perte de viabilité jusqu'à 14j. A pH 4 et 7 le nombre des cellules libres a resté stable. Alors que le nombre des cellules encapsulées à pH4 varié de 10,10 à 10,00 Log UFC/ml (différence de 0,1), mais a pH 7 le nombre a resté inchangé.

-Lactobacillus plantarum (K3) :

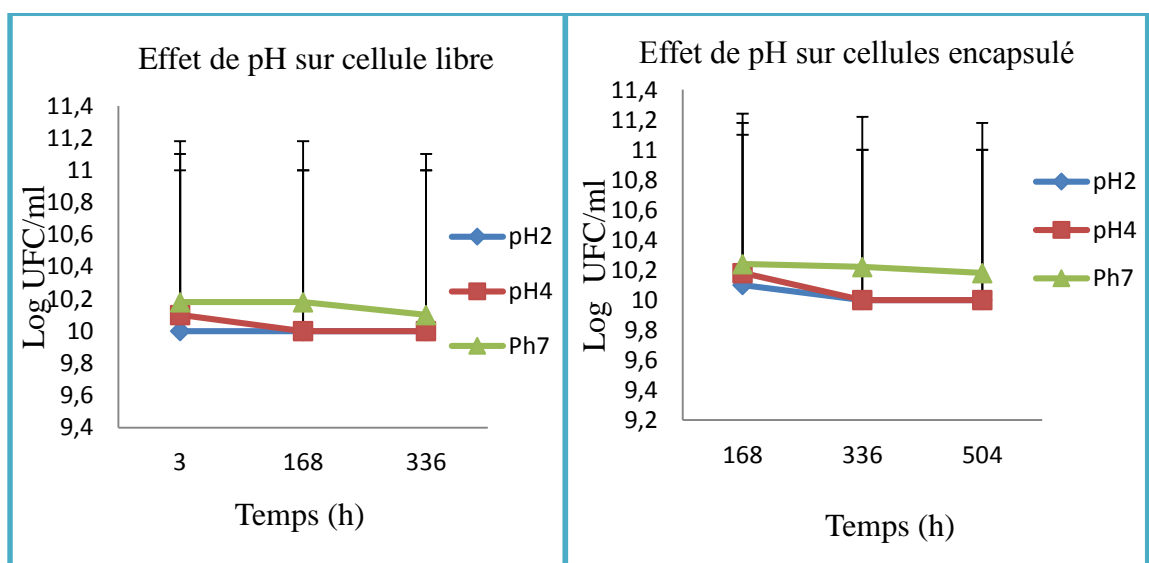


Figure III.21 : viabilité de K3 à différentes pH.

D'après les résultats montrés à la **figure III.21**. À différentes valeurs de pH, le nombre de minimum et maximum de cellules libres, varié de 10,00 à 10,18 Log UFC/ml alors que pour les cellules encapsulées il a varié entre 10,00 et 10,24 Log UFC/ml.

-Entérocooccus faecalis (Lb6) :

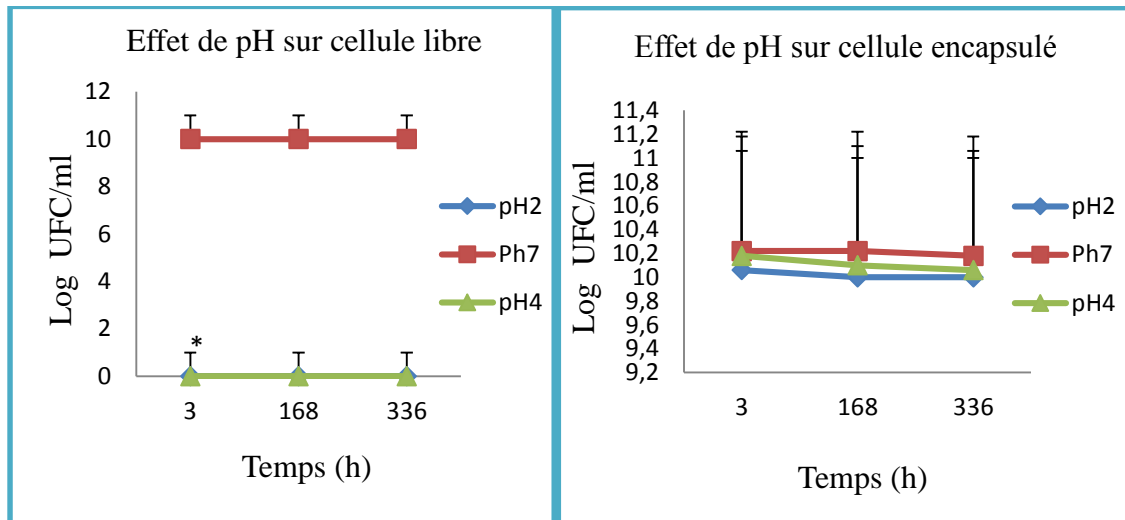


Figure III.22 : viabilité de Lb6 à différents pH.

D'après les résultats montrés à la **figure III.22**. Les résultats sont significatifs ($p < 0,05$). On note qu'à pH 2 et à pH 4, les cellules libres ne résistent pas avec absence totale de viabilité tout au long de l'expérience, alors que le nombre des cellules encapsulées à pH 2 a varié de 10,06 à 10,00 Log UFC/ml et à pH 4 le nombre a légèrement diminué. Une stabilisation du nombre des cellules a été remarquée que ce soit pour les libres ou les encapsulées à pH 7.

On résulte que les souches Lb5, K18, 10, K3 et Lb6 sont adaptées au pH7 et donc c'est le meilleur pH. Les résultats concordent avec plusieurs rapports antérieurs ; **Shi et al., (2013)** ont étudié la tolérance de *Lb. Bulgaricus* encapsulées à des environnements défavorables tels que le faible pH (pH 2 et 2,5), forte concentration de sel biliaries (1% et 2%) et longue durée de stockage (1 mois). Cette étude a montré que l'encapsulation pourrait améliorer la tolérance de *Lb. bulgaricus* à des environnements défavorables.

Dans une étude de **Bosnea et al., (2014)**, la viabilité des cellules encapsulées à faible pH a indiqué clairement la résistance à l'environnement acide, c'est-à-dire les polymères utilisés semblent être une protection supplémentaire pour les cellules microbiennes.

En tant que mécanisme de défense, beaucoup des bactéries possèdent des pompes à protons ou des systèmes échange de protons et de cations dans leur membrane plasmique pour compenser

l'afflux de protons et de maintenir le cytoplasme près de la neutralité. Cependant, si ces systèmes de réglementation du pH ne sont pas capables de fonctionner suffisamment (c'est-à-dire, si la concentration de protons est très haute), puis le gradient de pH (la différence entre l'intracellulaire et le pH extracellulaire) s'effondreront. L'acidification intracellulaire se produira ainsi, entraînant la perte de viabilité cellulaire et la destruction des cellules comme il se produit dans les cellules libres **Bosnea et al., (2014)**.

De Castro-Cislaghi et al., (2012) a rapporté que les cellules de *Bifidobacterium Bb-12* microencapsulées avec du lactosérum par le séchage par pulvérisation ont conservé leur viabilité à faible pH. Cette diminution de viabilité lors de l'exposition de ces probiotiques à un environnement à faible pH peuvent différer selon les souches des microorganismes étudiés, puisque de nombreux probiotiques montrent des différences spécifiques vis-à-vis l'acide et la bile.

À partir de l'étude menée, il a été possible d'étudier l'effet de la microencapsulation sur la survie des quelques bactéries lactiques probiotiques dans certaines conditions de stress notamment le stress osmotique causé par le NaCl et par le sucre, et de tester leur résistance au stress acide à différents pH.

Selon notre étude, la microencapsulation des cinq souches (*Lactobacillus pentosus* (Lb5), *Lactobacillus plantarum* (k18), *Lactobacillus cellobiosus* (10), *Lactobacillus plantarum* (k3) et *Entérocooccus faecalis* (Lb6)) avec de l'alginate de sodium à 2% a donné les résultats suivants :

- La souche *Entérocooccus faecalis* (Lb6) encapsulée donne la meilleure résistance au stress osmotique en présence de NaCl (3%).
- La souche *Lactobacillus plantarum* (K3) encapsulée donne un taux de survie élevé dans le cas de stress osmotique par sucre.
- La souche *Lactobacillus pentosus* (Lb5) encapsulée donne la meilleure viabilité dans le cas du traitement acide.

Dans toutes les simulations des conditions de stress (sels, jus et pH), la létalité des cinq souches encapsulées était plus faible que dans la forme libre, indiquant que l'alginate de sodium a agi comme agent protecteur.

D'autres études ultérieures sont recommandées et sont nécessaires pour prouver l'utilisation de LAB probiotiques microencapsulées dans l'industrie agroalimentaire (jus, fromage) pour résister toutes conditions défavorables.

A

Abee, T., & Wouters, J. A. (1999). Microbial stress response in minimal processing. *International journal of food microbiology*, 50(1), 65-91.

Alaoui Ismaili, M., Guilal, J., Hamama, A., Saidi, B., & Zahar, M. (2016). Identification de bactéries lactiques du lait cru de chamelle du sud du Maroc. *The International Journal of Multi-disciplinary Sciences*, (1) : 81-94.

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.

Arslan, S., Erbas, M., Tontul, I., & Topuz, A. (2015). Microencapsulation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* with different wall materials by spray drying. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 685-690.

B

Baliarda, A. (2003). *Evaluation de la réponse au stress chez les bactéries lactiques appartenant aux genres *Pediococcus* et *Tetragénococcus*: approches physiologiques et génétiques* (Doctoral dissertation, Bordeaux 1).

Béal, C., Marin, M., Fontaine, E., Fonseca, F., Obert, J.-P., Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. IN, Corrieu, G., Luquet, F.-M., 2008. Bactéries lactiques de la génétique aux ferments, Lavoisier : 746, Paris.

Benachour, A., Sauvageot, N., Pichereau, V., Christophe, J., Les réponses aux stress technologiques et environnementaux. IN, Prévost, D., 2009. Les bactéries lactiques, *economica*: 138-140.

Booth, I. R. (2002). Stress and the single cell: intrapopulation diversity is a mechanism to ensure survival upon exposure to stress. *International journal of food microbiology*, 78(1), 19-30.

Bosnea, L. A., Moschakis, T., & Biliaderis, C. G. (2014). Complex coacervation as a novel microencapsulation technique to improve viability of probiotics under different stresses. *Food and bioprocess technology*, 7(10), 2767-2781.

Brul, S., & Coote, P. (1999). Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International journal of food microbiology*, 50(1), 1-17.

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(4), 467-483.

C

Chapot-Chartier, M. P., & Kulakauskas, S. (2014). Cell wall structure and function in lactic acid bacteria. *Microbial cell factories*, 13(1), S9.

Chopde, S., Pawar, N., Kele, V., & Changade, S. (2014). Microencapsulation of probiotic bacteria of available techniques, focusing on biomaterials-a review. *Agricultural Reviews*, 35(4).

- Cleiss, J. (2010). *Réponse bactérienne au stress arsénié* (Doctoral dissertation, Strasbourg).
- Cook, M. T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., & Khutoryanskiy, V. V. (2012). Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*, 162(1), 56-67.
- Cotter, P. D., & Hill, C. (2003). Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(3), 429-453.
- Cruz, R. G., Pereira, S. G. F., Araújo, E. A., & Dores, M. T. (2015). Viability of *Lactobacillus acidophilus* Immobilized in Calcium Alginate Spheres and Submitted to Different Conditions of Stress. *Nutr Food Technol*,(1), 1.
- Csonka, L. N. (1989). Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiological reviews*, 53(1), 121-147.
- Csonka, L. N., & Hanson, A. D. (1991). Prokaryotic osmoregulation: genetics and physiology. *Annual Reviews in Microbiology*, 45(1), 569-606.
- D
- De Angelis, M., Bini, L., Pallini, V., Cocconcelli, P. S., & Gobbetti, M. (2001). The acid-stress response in *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1. *Microbiology*, 147(7), 1863-1873.
- De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2004). Environmental stress responses in *Lactobacillus*: a review. *Proteomics*, 4(1), 106-122.
- De Barros, J. M., Lechner, T., Charalampopoulos, D., Khutoryanskiy, V. V., & Edwards, A. D. (2015). Enteric coated spheres produced by extrusion/spheronization provide effective gastric protection and efficient release of live therapeutic bacteria. *International journal of pharmaceuticals*, 493(1), 483-494.
- De Castro-Cislaghi, F. P., Carina Dos Reis, E. S., Fritzen-Freire, C. B., Lorenz, J. G., & Sant'Anna, E. S. (2012). *Bifidobacterium* Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: Survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage. *Journal of Food Engineering*, 113(2), 186-193.
- De Nadra, M. C. M., de Ruiz Holgado, A. A. P., & Oliver, G. (1988). Arginine dihydrolase pathway in *Lactobacillus buchneri*: a review. *Biochimie*, 70(3), 367-374.
- De Prisco, A., & Mauriello, G. (2016). Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 27-39.
- Dhamale, K. S., Sonawane, P. D., Jaybhaye, A. S., & Chand, P. (2015). Lactic Acid Bacteria: Antimicrobial activity and in vitro, in vivo studies of LAB activity on *Fusarium oxysporum* infected tomato seeds. *Int J of Advanc Resear*, 3(5), 954-963.

Domingos-Lopes, M. F. P., Stanton, C., Ross, P. R., Dapkevicius, M. L. E., & Silva, C. C. G. (2017). Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food microbiology*, 63, 178-190.

Dong, Q. Y., Chen, M. Y., Xin, Y., Qin, X. Y., Cheng, Z., Shi, L. E., & Tang, Z. X. (2013). Alginate-based and protein-based materials for probiotics encapsulation: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(7), 1339-1351.

E

El-Salam, M. H. A., & El-Shibiny, S. (2015). Preparation and properties of milk proteins-based encapsulated probiotics: a review. *Dairy science & technology*, 95(4), 393-412.

F

Feucht, A., & Kwak, H. S. (2013). Microencapsulation of lactic acid bacteria (LAB). *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 33(2), 229-238.

Fozo, E. M., Kajfasz, J. K., & Quivey, R. G. (2004). Low pH-induced membrane fatty acid alterations in oral bacteria. *FEMS microbiology letters*, 238(2), 291-295.

Fozo, E. M., & Quivey, R. G. (2004). Shifts in the membrane fatty acid profile of *Streptococcus mutans* enhance survival in acidic environments. *Applied and environmental microbiology*, 70(2), 929-936.

G

Gomes, A. M. P., Teixeira, M. G. M., & Malcata, F. X. (1998). Viability of *bifidobacterium la ctis* and *lactobacillus acidophilus* in milk: sodium chloride concentration and storage temperature. *Journal of food processing and preservation*, 22(3), 221-240.

H

Han, Q., Kong, B., Chen, Q., Sun, F., & Zhang, H. (2017). In vitro comparison of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Harbin dry sausages and selected probiotics. *Journal of Functional Foods*, 32, 391-400.

Haslbeck, M., & Vierling, E. (2015). A first line of stress defense: small heat shock proteins and their function in protein homeostasis. *Journal of molecular biology*, 427(7), 1537-1548.

Heidebach, T., Först, P., & Kulozik, U. (2012). Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(4), 291-311.

Herendeen, S. L., Vanbogelen, R. A., & Neidhardt, F. C. (1979). Levels of major proteins of *Escherichia coli* during growth at different temperatures. *Journal of Bacteriology*, 139(1), 185-194.

Holzappel, W. H., & Wood, B. J. (Eds.). (2014). *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*. John Wiley & Sons.

Horn, G., Hofweber, R., Kremer, W., & Kalbitzer, H. R. (2007). Structure and function of bacterial cold shock proteins. *Cellular and molecular life sciences*, 64(12), 1457.

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.

I

Jacobs, I. C. Process Scale-up Considerations for Microencapsulation Processes. *Microencapsulation in the Food Industry*, 391-389.

Jagadeesh, K. S. (2015). Lactic acid bacteria as a source of functional ingredients. *South Indian Journal of Biological Sciences*, 1(2), 70-71.

Jamekhorshid, A., Sadrameli, S. M., & Farid, M. (2014). A review of microencapsulation methods of phase change materials (PCMs) as a thermal energy storage (TES) medium. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 31, 531-542.

K

Kent, R. M., & Doherty, S. B. (2014). Probiotic bacteria in infant formula and follow-up formula: Microencapsulation using milk and pea proteins to improve microbiological quality. *Food research international*, 64, 567-576.

Khalisanni, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International journal of Biosciences*, 1(3), 1-13.

Kobayashi, H., Murakami, N., & Unemoto, T. (1982). Regulation of the cytoplasmic pH in *Streptococcus faecalis*. *Journal of Biological Chemistry*, 257(22), 13246-13252.

Koch, A. L. (1984). Shrinkage of growing *Escherichia coli* cells by osmotic challenge. *Journal of bacteriology*, 159(3), 919-924.

Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. C. (2006). Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT-and conventionally treated milk during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 39(2), 177-183.

Kumar, L. R., Chatterjee, N. S., Tejpal, C. S., Vishnu, K. V., Anas, K. K., Asha, K. K., ... & Mathew, S. (2017). Evaluation of chitosan as a wall material for microencapsulation of squalene by spray drying Characterization and oxidative stability studies. *International Journal of Biological Macromolecules*.

Kumar, N., Kumar, V., Panwar, R., & Ram, C. (2016). Efficacy of indigenous probiotic *Lactobacillus* strains to reduce cadmium bioaccessibility-an in vitro digestion model. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(2), 1241-1250.

L

- Laplace, J. M., Sauvageot, N., Hartke, A., & Auffray, Y. (1999). Characterization of *Lactobacillus collinoides* response to heat, acid and ethanol treatments. *Applied microbiology and biotechnology*, *51*(5), 659-663.
- Li, C., Li, W., Chen, X., Feng, M., Rui, X., Jiang, M., & Dong, M. (2014). Microbiological, physicochemical and rheological properties of fermented soymilk produced with exopolysaccharide (EPS) producing lactic acid bacteria strains. *LWT-Food Science and Technology*, *57*(2), 477-485.
- Li, Q., Liu, X., Dong, M., Zhou, J., & Wang, Y. (2015). Aggregation and adhesion abilities of 18 lactic acid bacteria strains isolated from traditional fermented food. *Int J Agric Policy Res*, *3*(2), 84-92.
- Livney, Y. D. (2010). Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, *15*(1), 73-83.
- Lorca, G. L., Raya, R. R., Taranto, M. P., & De Valdez, G. F. (1998). Adaptive acid tolerance response in *Lactobacillus acidophilus*. *Biotechnology Letters*, *20*(3), 239-241.
- Lynch, K. M., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2017). Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria: Their techno-functional role and potential application in gluten-free bread products. *Food Research International*.

M

- Maciel, G. M., Chaves, K. S., Grosso, C. R. F., & Gigante, M. L. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-5 by spray-drying using sweet whey and skim milk as encapsulating materials. *Journal of dairy science*, *97*(4), 1991-1998.
- Malmo, C., La Stora, A., & Mauriello, G. (2013). Microencapsulation of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 cells coated in alginate beads with chitosan by spray drying to use as a probiotic cell in a chocolate soufflé. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(3), 795-805.
- Martín, M. J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M. A., & Morales, M. E. (2015). Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *27*, 15-25.
- Mc donald, L. C., Fleming, H. P., & Hassan, H. M. (1990). Acid tolerance of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, *56*(7), 2120-2124.
- Meyer, A. S., & Baker, T. A. (2011). Proteolysis in the *Escherichia coli* heat shock response: a player at many levels. *Current opinion in microbiology*, *14*(2), 194-199.
- Motta, A. D. S., & Gomes, M. (2015). Technological and functional properties of lactic acid bacteria: the importance of these microorganisms for food. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, *70*(3), 172-184.

Mozzi, F., & Vignolo, G. M. (Eds.). (2010). *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications*. John Wiley & Sons.

N

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(1), 304-311.

O

O'Byrne, C. P., & Booth, I. R. (2002). Osmoregulation and its importance to food-borne microorganisms. *International journal of food microbiology*, 74(3), 203-216.

Ongol, M. P. (2012). Lactic acid bacteria in health and disease. *Rwanda Journal of Health Sciences*, 1(1), 39-50.

P

Pessione, E. (2012). Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2.

Piuri, M., Sanchez-Rivas, C., & Ruzal, S. M. (2005). Cell wall modifications during osmotic stress in *Lactobacillus casei*. *Journal of applied microbiology*, 98(1), 84-95.

Polak-Berecka, M., Boguta, P., Cieśla, J., Bieganski, A., Skrzypek, T., Czernecki, T., & Waśko, A. (2017). Studies on the removal of Cd ions by gastrointestinal lactobacilli. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(8), 3415-3425.

Potts, M. (1994). Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiological reviews*, 58(4), 755-805.

R

Riaz, Q. U. A., & Masud, T. (2013). Recent trends and applications of encapsulating materials for probiotic stability. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(3), 231-244.

Ribeiro, M. C. E., Chaves, K. S., Gebara, C., Infante, F. N., Grosso, C. R., & Gigante, M. L. (2014). Effect of microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 on physicochemical, sensory and microbiological characteristics of stirred probiotic yoghurt. *Food research international*, 66, 424-431.

Richter, K., Haslbeck, M., & Buchner, J. (2010). The heat shock response: life on the verge of death. *Molecular cell*, 40(2), 253-266.

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

Romeo, Y., Bouvier, J., & Gutierrez, C. (2001). La réponse au stress osmotique des bactéries lactiques *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus plantarum* (mini-revue). *Le Lait*, 81(1-2), 49-55.

S

Sabikhi, L., Babu, R., Thompkinson, D. K., & Kapila, S. (2010). Resistance of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* LA1 to processing treatments and simulated gut conditions. *Food and Bioprocess Technology*, 3(4), 586-593.

Saranraj,P., Naidu,M.A., Sivasakthivelan,P.(2013). Lactic Acid Bacteria and its Antimicrobial Properties. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*, 4(6), 1124 – 1133.

Sarao, L. K., & Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(2), 344-371.

Šeme, H., Matijašić, B. B., Švigelj, K., Langerholc, T., Fujs, Š., Horvat, J., ... & Kos, B. (2017). Generation of *Lactobacillus plantarum* strains with improved potential to target gastrointestinal disorders related to sugar malabsorption. *Food Research International*, 94, 45-53.

Sheehan, V. M., Ross, P., & Fitzgerald, G. F. (2007). Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2), 279-284.

Shi, L. E., Li, Z. H., Zhang, Z. L., Zhang, T. T., Yu, W. M., Zhou, M. L., & Tang, Z. X. (2013). Encapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure. *LWT-Food Science and Technology*, 54(1), 147-151.

Silva, P. T. D., Fries, L. L. M., Menezes, C. R. D., Holkem, A. T., Schwan, C. L., Wigmann, É. F., ... & Silva, C. D. B. D. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, 44(7), 1304-1311.

Singh, M. N., Hemant, K. S. Y., Ram, M., & Shivakumar, H. G. (2010). Microencapsulation: A promising technique for controlled drug delivery. *Research in pharmaceutical sciences*, 5(2), 65.

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. *BioMed research international*, 2013.

V

Vinderola, C. G., Costa, G. A., Regenhardt, S., & Reinheimer, J. A. (2002). Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 12(7), 579-589.

W

Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwiwathana, A., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2016). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat science*, 120, 118-132.

X

Xing, J., Wang, F., Xu, Q., Yin, B., Fang, D., Zhao, J., ... & Chen, W. (2016). Screening of potential probiotic lactic acid bacteria based on gastrointestinal properties and perfluorooctanoate toxicity. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(15), 6755-6766.

Y

Yang, F., Hou, C., Zeng, X., & Qiao, S. (2015). The use of lactic acid bacteria as a probiotic in swine diets. *Pathogens*, 4(1), 34-45.

Z

Zhao, Y., Yu, X., Jia, R., Yang, R., Rui, Q., & Wang, D. (2015). Lactic acid bacteria protects *Caenorhabditis elegans* from toxicity of graphene oxide by maintaining normal intestinal permeability under different genetic backgrounds. *Scientific reports*, 5.

1. Bouillon MRS :**Tableau 1 :** La composition de bouillons MRS (Man Rogosa Sharp) pour 1 litre.

Composant	Quantité
Glucose	20 g
Extrait de levure	8 g
Extrait de viande	4 g
Acétate de sodium	5 g
Phosphate bipotassique	2 g
Citrate d'ammonium 7H ₂ O	2 g
Sulfate de magnésium 4H ₂ O	0,2 g
Sulfate de manganèse	0,05 g
Tween 80	1 ml
Eau distillée	1000 ml

2. Gélose MRS :

Bouillon MRS additionné de 15 g d'agar.

3. Tampon de PBS à PH 7,4 :**Tableau 2 :** La composition de PBS (Phosphate Buffer Saline) pour 1 litre.

composant	NaH ₂ PO ₄	Na ₂ HPO ₄	Eau distillée
Quantité	13,8g	63,9g	1000ml

4. Chlorure de calcium (CaCl₂) 0,5 M pour 1L : 55,49g de CaCl₂ dans 1L de l'eau distillée.

5. Alginate de sodium à 2% : 2g d'alginate de sodium dans 100 ml de l'eau distillée.

6. L'eau physiologie : 9g de NaCl dans 1000 ml de l'eau distillée.

7. Boisson fruitée fraise (fruity) : eau traitée, sucre concentrés de jus et pulpe de fraise, fruits granulées, arôme fraise, additifs alimentaires, cocktail de vitamines.

8. Détermination de viabilité des cellules libres et encapsulées

Le nombre de cellules microencapsulées ou libres a été déterminé selon la méthode décrite par **Bosnea et al., 2014**, après lyse des billes et dénombrement des cellules viables sur gélose MRS, les résultats sont exprimés en UFC/ml :

$$\text{Viabilité \%} = (\log \text{UFC } t / \log \text{UFC } t_0) \times 100$$

UFC t : Le nombre final dans le temps.

UFC t₀ : Le nombre initia

Tableau 3 : nombre des cellules de Lb5 à différentes concentrations de NaCl.

[NaCl] Temps		cellule/ ml					
		3%		6%		9%	
		C	E	C	E	C	E
3 h	200 x10 ⁸	250x10 ⁸	133x10 ⁸	166x10 ⁸	120x10 ⁸	150x10 ⁸	
7j	150x10 ⁸	166x10 ⁸	120x10 ⁸	125x10 ⁸	112x10 ⁸	120x10 ⁸	
14j	125x10 ⁸	133x10 ⁸	100x10 ⁸	120x10 ⁸	0	112x10 ⁸	
21j	112x10 ⁸	125x10 ⁸	100x10 ⁸	120x10 ⁸	0	112x10 ⁸	
28j	100x10 ⁸	112x10 ⁸	0	100x10 ⁸	0	100x10 ⁸	

Tableau 4 : viabilité de Lb5 à différentes concentrations de NaCl.

[NaCl] Temps		Log UFC/ ml					
		3%		6%		9%	
		C	E	C	E	C	E
3 h	10,30	10,39	10,12	10,22	10,07	10,17	
7j	10,17	10,22	10,07	10,09	10,04	10,07	
14j	10,09	10,12	10,00	10,07	0	10,04	
21j	10,04	10,09	10,00	10,07	0	10,04	
28j	10,00	10,04	0	10,00	0	10,00	

Tableau 5 : viabilité de Lb5 à des différentes concentrations de NaCl.

[NaCl] Temps		Log UFC/ml					
		3%		6%		9%	
		C	E	C	E	C	E
3 h	98	99	89	91	86	85	
7j	97	97	87	89	83	84	
14j	80	79	82	78	73	76	
21j	77	77	73	72	0	67	
28j	0	67	0	0	0	0	

Tableau 6 : nombre des cellules de K18 à différentes concentrations de NaCl.

[NaCl] Temps		cellule/ ml					
		3%		6%		9%	
		C	E	C	E	C	E
3 h	133x10 ⁸	200x10 ⁸	125x10 ⁸	166x10 ⁸	120x10 ⁸	160x10 ⁸	
7j	120x10 ⁸	160x10 ⁸	120x10 ⁸	133x10 ⁸	100x10 ⁸	150x10 ⁸	
14j	120x10 ⁸	150x10 ⁸	112x10 ⁸	125x10 ⁸	100x10 ⁸	125x10 ⁸	
21j	112x10 ⁸	125x10 ⁸	100x10 ⁸	125x10 ⁸	100x10 ⁸	120x10 ⁸	
28j	112x10 ⁸	120x10 ⁸	100x10 ⁸	120x10 ⁸	0	112x10 ⁸	

Tableau 7 : viabilité de K18 à différentes concentrations de NaCl.

Temps \ [NaCl]	Log UFC/ml					
	3%		6%		9%	
	C	E	C	E	C	E
3 h	10,12	10,30	10,09	10,22	10,07	10,20
7j	10,07	10,20	10,07	10,12	10,00	10,17
14j	10,07	10,17	10,04	10,09	10,00	10,09
21j	10,04	10,09	10,00	10,09	10,00	10,07
28j	10,04	10,07	10,00	10,07	0	10,04

Tableau 8 : viabilité de K18 à des différentes concentrations de NaCl.

Temps \ [NaCl]	Log UFC/ml					
	3%		6%		9%	
	C	E	C	E	C	E
3h	91	94	88	90	86	86
7j	85	90	82	86	74	81
14j	80	89	74	85	0	78
21j	77	87	70	84	0	77
28j	0	71	0	67	0	67

Tableau 9 : nombre des cellules de 10 à différentes concentrations de NaCl.

Temps \ [NaCl]	Cellule/ml					
	3%		6%		9%	
	C	E	C	E	C	E
3 h	150x10 ⁸	166x10 ⁸	125x10 ⁸	166x10 ⁸	125x10 ⁸	150x10 ⁸
7j	125x10 ⁸	150x10 ⁸	114x10 ⁸	133x10 ⁸	114x10 ⁸	133x10 ⁸
14j	120x10 ⁸	125x10 ⁸	100x10 ⁸	120x10 ⁸	100x10 ⁸	112x10 ⁸
21j	116x10 ⁸	120x10 ⁸	100x10 ⁸	116x10 ⁸	100x10 ⁸	100x10 ⁸
28j	100x10 ⁸	120x10 ⁸	0	100x10 ⁸	0	100x10 ⁸

Tableau 10 : viabilité de 10 à différentes concentrations de NaCl.

Temps \ [NaCl]	Log UFC/ ml					
	3%		6%		9%	
	C	E	C	E	C	E
3 h	10,17	10,22	10,09	10,22	10,09	10,17
7j	10,09	10,17	10,05	10,12	10,05	10,12
14j	10,07	10,09	10,00	10,07	10,00	10,04
21j	10,06	10,07	10,00	10,06	10,00	10,00
28j	10,00	10,07	0	10	0	10,00

Tableau 11 : viabilité de 10 à différentes concentrations de NaCl.

Temps \ [NaCl]	Log UFC/ml					
	3%		6%		9%	
	C	E	C	E	C	E
3 h	99	99	97	97	94	94
7j	93	93	91	93	92	93
14j	91	91	89	90	87	89
21j	84	84	80	83	75	80
28j	80	83	0	80	0	77

Tableau 12 : nombre des cellules de K3 à différentes concentrations de NaCl.

Temps \ [NaCl]	Cellule/ml					
	3%		6%		9%	
	C	E	C	E	E	C
3h	166x10 ⁸	200x10 ⁸	125x10 ⁸	150x10 ⁸	120x10 ⁸	150x10 ⁸
7j	125x10 ⁸	166x10 ⁸	125x10 ⁸	150x10 ⁸	100x10 ⁸	125x10 ⁸
14j	116x10 ⁸	166x10 ⁸	100x10 ⁸	133x10 ⁸	0	125x10 ⁸
21j	114x10 ⁸	150x10 ⁸	100x10 ⁸	125x10 ⁸	0	100x10 ⁸
28j	111x10 ⁸	125x10 ⁸	0	114x10 ⁸	0	100x10 ⁸

Tableau 13 : viabilité de K3 à différentes concentrations de NaCl.

Temps \ [NaCl]	Log UFC/ml					
	3%		6%		9%	
	C	E	C	E	C	E
3h	10,22	10,30	10,09	10,17	10,07	10,17
7j	10,09	10,22	10,09	10,17	10,00	10,09
14j	10,06	10,22	10,00	10,12	0	10,09
21j	10,05	10,17	10,00	10,09	0	10,00
28j	10,04	10,09	0	10,05	0	10,00

Tableau 14 : viabilité de K3 à différentes concentrations de NaCl.

Temps \ [NaCl]	Log UFC/ml					
	3%		6%		9%	
	E	C	E	C	E	C
3h	99,17	99,55	95,57	95,10	91,41	92,12
7j	93,91	95,25	92,11	91,83	89,75	84,70
14j	87,53	91,83	86,98	86,92	85,87	81,43
21j	80,06	84,70	75,90	0	73,41	0
28j	80,06	80	73,41	0	70	0

Tableau 15 : nombre des cellules de Lb6 à différentes concentrations de NaCl.

[NaCl] Temps		Cellule/ ml					
		3%		6%		9%	
		C	E	C	E	C	E
3h	150 × 10 ⁸	166 × 10 ⁸	125 × 10 ⁸	150 × 10 ⁸	100 × 10 ⁸	120 × 10 ⁸	
7j	125 × 10 ⁸	150 × 10 ⁸	120 × 10 ⁸	150 × 10 ⁸	100 × 10 ⁸	100 × 10 ⁸	
14j	114 × 10 ⁸	150 × 10 ⁸	100 × 10 ⁸	116 × 10 ⁸	100 × 10 ⁸	111 × 10 ⁸	
21j	111 × 10 ⁸	120 × 10 ⁸	100 × 10 ⁸	114 × 10 ⁸	0	111 × 10 ⁸	
28j	100 × 10 ⁸	120 × 10 ⁸	100 × 10 ⁸	111 × 10 ⁸	0	111 × 10 ⁸	

Tableau 16 : viabilité de Lb6 à différentes concentrations de NaCl.

[NaCl] Temps		Log UFC/ml					
		3%		6%		9%	
		C	E	C	E	C	E
3h	10,18	10,22	10,10	10,18	10,00	10,08	
7j	10,10	10,18	10,08	10,18	10,00	10,00	
14j	10,06	10,18	10,00	10,04	10,00	10,04	
21j	10,04	10,08	10,00	10,06	0	10,04	
28j	10,00	10,08	10,00	10,04	0	10,04	

Tableau 17 : viabilité de Lb6 à différentes concentrations de NaCl.

[NaCl] Temps		log UFC /ml					
		3%		6%		9%	
		C	E	C	E	C	E
3h	98,6	89,5	95,9	83,4	92,0	80,5	
7j	96,6	86,8	94,7	83,4	91,3	80,5	
14j	92,0	86,4	89,6	83,2	84,0	77,8	
21j	87,4	81,1	76,7	71,0	0	0	
28j	69,00	71,00	0	68,00	0	0	

Tableau 18 : nombre des cellules des cinq souches dans le jus de fruit (Cellule/ ml).

	Lb5		Lb6		K3		K18		10	
	C	E	C	E	C	E	C	E	C	E
0 h	100×10 ⁸	200×10 ⁸	150×10 ⁸	250×10 ⁸	133×10 ⁸	250×10 ⁸	150×10 ⁸	200×10 ⁸	150×10 ⁸	300×10 ⁸
3 h	100×10 ⁸	150×10 ⁸	100×10 ⁸	200×10 ⁸	125×10 ⁸	150×10 ⁸	133×10 ⁸	200×10 ⁸	100×10 ⁸	250×10 ⁸
7 j	100×10 ⁸	133×10 ⁸	100×10 ⁸	133×10 ⁸	100×10 ⁸	150×10 ⁸	100×10 ⁸	200×10 ⁸	100×10 ⁸	150×10 ⁸
14 j	0	100×10 ⁸	100×10 ⁸	100×10 ⁸	0	150×10 ⁸	100×10 ⁸	150×10 ⁸	0	150×10 ⁸

Tableau 19 : viabilité des cinq souches dans le jus de fruit (Log UFC/ml).

	Lb5		Lb6		K3		K18		10	
	C	E	C	E	C	E	C	E	C	E
0 h	10	10,3	10,17	10,39	10,12	10,39	10,17	10,3	10,17	10,47
3 h	10	10,17	10	10,3	10,09	10,17	10,12	10,3	10	10,39
7 j	10	10,12	10	10,12	10	10,17	10	10,3	10	10,17
14 j	0	10	10	10	0	10,17	10	10,17	0	10,17

Tableau 20 : viabilité des cinq souches dans le jus de fruits (Log UFC/ml).

	Lb 5		Lb 6		K3		K18		10	
	C	E	C	E	C	E	C	E	C	E
3h	98,3	99,38	95,85	98,9	91,53	97,8	0	0	95,45	99,4
7j	91	97,12	0	97,5	86,34	90,6	0	0	77,4	98,56

Tableau 21 : nombre des cellules de Lb5 à différents pH.

Temps \ pH	Cellule/ml					
	2		4		7	
	E	C	E	C	E	C
3h	150×10 ⁸	111×10 ⁸	200×10 ⁸	125×10 ⁸	250×10 ⁸	150×10 ⁸
7j	125×10 ⁸	100×10 ⁸	175×10 ⁸	116×10 ⁸	300×10 ⁸	116×10 ⁸
14j	100×10 ⁸	0	150×10 ⁸	100×10 ⁸	300×10 ⁸	114×10 ⁸

Tableau 22 : viabilité de Lb5 à différents pH.

Temps \ pH	Log UFC/ml					
	2		4		7	
	E	C	E	C	E	C
3h	10,17	10,04	10,30	10,09	10,39	10,17
7j	10,09	10,00	10,24	10,06	10,47	10,06
14j	10,00	0	10,17	10,00	10,47	10,05

Tableau 23 : viabilité de Lb5 à différents pH.

pH \ Temps		Log UFC/ml					
		2		4		7	
		C	E	C	E	C	E
3h		77,83	82,61	83,70	83,97	88,11	99,18
7j		0	77,45	73,42	85,33	80,47	98,10

Tableau 24 : nombre des cellules de K18 à différents pH.

pH \ Temps		Cellule/ml					
		2		4		7	
		E	C	E	C	E	C
3h		125x10 ⁸	100x10 ⁸	150x10 ⁸	116x10 ⁸	150x10 ⁸	125x10 ⁸
7j		100x10 ⁸	100x10 ⁸	125x10 ⁸	100x10 ⁸	150x10 ⁸	125x10 ⁸
14j		100x10 ⁸	0	125x10 ⁸	100x10 ⁸	175x10 ⁸	150x10 ⁸

Tableau 25 : viabilité de K18 à différents pH.

pH \ Temps		Log UFC/ml					
		2		4		7	
		E	C	E	C	E	C
3h		10,09	10,00	10,17	10,06	10,17	10,09
7j		10,00	10,00	10,09	10,00	10,17	10,09
14j		10,00	0	10,09	10,00	10,24	10,17

Tableau 26 : viabilité de K18 à différents pH.

pH \ Temps		Log UFC/ml					
		2		4		7	
		E	C	E	C	E	C
3h		94,20	89,70	97,98	94,22	99,33	99,56
7j		85,83	0	93,93	70,52	96,90	77,29

Tableau 27 : nombre des cellules de 10 à différents pH.

pH \ Temps		Cellule/ml					
		2		4		7	
		C	E	C	E	C	E
3h		100x10 ⁸	100x10 ⁸	111x10 ⁸	125x10 ⁸	125x10 ⁸	133x10 ⁸
7j		0	100x10 ⁸	100x10 ⁸	114x10 ⁸	111x10 ⁸	125x10 ⁸
14j		0	100x10 ⁸	100x10 ⁸	100x10 ⁸	100x10 ⁸	120x10 ⁸

Tableau 28 : viabilité de 10 à différents pH.

Temps \ pH	Log UFC/ml					
	2		4		7	
	C	E	C	E	C	E
3h	10,00	10,00	10,04	10,10	10,10	10,12
7j	00	10,00	10,00	10,06	10,04	10,10
14j	00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,08

Tableau 29 : viabilité de 10 à différents pH.

Temps \ pH	Log UFC/ml					
	2		4		7	
	C	E	C	E	C	E
3h	0	74,4	68,50	94,00	80,00	95,4
7j	0	65,3	68,50	69,20	72,60	90,00

Tableau 30 : nombre des cellules de K3 à différents pH.

Temps \ pH	Cellule/ml					
	2		4		7	
	C	E	C	E	C	E
3h	100×10^8	125×10^8	125×10^8	150×10^8	150×10^8	175×10^8
7j	100×10^8	100×10^8	100×10^8	100×10^8	150×10^8	166×10^8
14j	100×10^8	100×10^8	100×10^8	100×10^8	125×10^8	150×10^8

Tableau 31 : viabilité de K3 à différents pH.

Temps \ pH	Log UFC/ml					
	2		4		7	
	E	C	E	C	E	C
3h	10,00	10,10	10,10	10,18	10,18	10,24
7j	10,00	10,00	10,00	10,00	10,18	10,22
14j	10,00	10,00	10,00	10,00	10,10	10,18

Tableau 32 : viabilité de K3 à différents pH.

Temps \ pH	Log UFC/ml					
	2		4		7	
	C	E	C	E	C	E
3h	0	73,40	47,3	88,90	99,80	91,90
7j	0	69,2	0	86,30	78,80	89,30

Tableau 33 : nombre des cellules de Lb6 à différents pH.

pH Temps		Cellule/ml					
		2		4		7	
		C	E	C	E	C	E
3h	0	114×10^8	100×10^8	166×10^8	0	150×10^8	
7j	0	100×10^8	100×10^8	166×10^8	0	125×10^8	
14j	0	100×10^8	100×10^8	150×10^8	0	114×10^8	

Tableau 34 : viabilité de Lb6 à différentes pH.

pH Temps		Log UFC/ml					
		2		4		7	
		C	E	C	E	C	E
3h	00	10,06	10,00	10,22	0	10,18	
7j	00	10,00	10,00	10,22	0	10,10	
14j	00	10,00	10,00	10,18	0	10,06	

Tableau 35 : viabilité de Lb6 à différents pH.

pH Temps		Log UFC/ml					
		2		4		7	
		C	E	C	E	C	E
3h	0	71,00	92,00	78,80	93,80	98,60	
7j	0	0	81,3	72,60	85,90	89,20	

Présenté par :

Afaf Boulhidja

Hadjer Amieur

Hanane Hafsaoui

Membres de Jury :Présidente : M^{me}. Amina Bouchefra

Examinatrice : Dr. Amel Aitmeddour

Encadreur : M^{me}. Samiya Amira**Thème****Résistance des Bactéries Lactiques encapsulées à certaines conditions de stress.****Abstract :**

The objective of this work was to investigate the effect of microencapsulation on the viability of some probiotic lactic acid bacteria in different conditions. The cells were exposed to osmotic stress at different NaCl concentrations 3%, 6% and 9%, to juice sugars, and to acid stress at different values of pH including pH 2, 4 and 7. For this purpose, five strains were examined (Lb5, K18, 10, K3 and Lb6), the coating agent used was sodium alginate 2% using the extrusion method.

The results showed that all encapsulated strains gave the best viability at 3% NaCl (166×10^8 cell/ml of encapsulation cell, 150×10^8 cell/ml of free cell) (*Entérocooccus faecalis* was the best one), and low viability in juice sugar (*Lactobacillus plantarum* K3 showed the best resistance). The effect of the pH showed that the survival rate was higher at pH 7 for all strains (the viability to *Lactobacillus pentosus* better than other strains). Therefore, the encapsulation in sodium alginate gave better protection to stress conditions than non encapsulated ones.

Key words : Microencapsulation, Probiotic bacteria, Osmotic stress, Acid stress

Résumé :

L'objectif de ce travail est de tester l'effet de la microencapsulation sur la viabilité des quelques bactéries lactiques sous certaines conditions de stress. Les cellules ont été exposées au stress osmotique de NaCl à différentes concentrations 3%, 6% et 9%, au jus, et au stress acide à différentes valeurs de pH 2, 4 et 7. Cinq souches ont été utilisées (Lb5, K18, 10, K3 et Lb6) elles sont encapsulées dans l'alginate de sodium à 2% par l'extrusion.

Les résultats ont montré que toutes les souches encapsulées avaient la meilleure viabilité à 3% de la NaCl (166×10^8 cellule/ml pour les cellules encapsulées, 150×10^8 pour les cellules libres) (le taux de survie de *Entérocooccus faecalis* mieux que les autres souches), avec une faible viabilité dans le jus (le taux de survie de *Lactobacillus plantarum* K3 mieux que les autres souches). L'effet de pH a montré que le pH 7 a donné la viabilité la plus élevée avec toutes les souches (la viabilité de *Lactobacillus pentosus* la plus élevée). Par conséquent, la technique d'encapsulation dans l'alginate de sodium a montré une meilleure protection aux conditions de stress par rapport aux cellules libres.

Mots clés : Microencapsulation, Bactéries probiotiques, Stress osmotiques, Stress acide.

المخلص:

الهدف المنشود من هذه الدراسة هو تأثير عملية الكبسلة على بعض أنواع البكتيريا اللبنية في ظروف معينة، حيث نقوم بتعريض الخلايا للإجهاد الاسموزي في تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم 3%، 6% و9%، ومعرض اخر من عصير السكر، ونفس الشيء بالنسبة لحمض التوت في درجة حموضة 2، 4 و7. لهذا الغرض تم فحص خمس سلالات Lb5، K18، 10، K3 وLb6 وذلك باستعمال هلام جينات الصوديوم 2%. وقد أظهرت النتائج ان جميع السلالات أعطت حيوية في 3% من كلوريد الصوديوم (معدل البقاء على قيد الحياة عند Lb6 أفضل من السلالات الأخرى)، مع قابلية منخفضة في عصير السكر (معدل البقاء على قيد الحياة عند K3 أفضل من السلالات الأخرى). وفي موضوع اخر من الدراسة تبين ان معدل البقاء على قيد الحياة اعطى حيوية أفضل في درجة الحموضة 7 (السلالة Lb5 اعطت استدامة أفضل من السلالات الأخرى). وهكذا فان تقنية التغليف في جينات الصوديوم أعطت حماية أفضل للظروف العصبية مقارنة بالخلايا الحرة.

الكلمات المفتاحية: عملية الكبسلة، بكتيريا بروبيوتيكية، الإجهاد الاسموزي، تأثير الحموضة.

