

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 Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم  
التغذية

Mémoire de fin de cycle

**En vue de l'obtention de diplôme Master en Biologie**

Option : *Microbiologie appliquée*

**Thème**

**Viabilité des bactéries lactiques encapsulées avec des extraits de plantes dans les conditions gastro-intestinales simulées**

**Membres de Jury :**

Présidente : Dr. A. AIT MEDDOUR

Examinatrice : Dr. F. BEKKA

Encadreur : Dr. S. AMIRA

**Réalisé par :**

M<sup>elle</sup> Fatima Zohra SLIMOUNE

M<sup>elle</sup> Imen ZEGHAD

M<sup>elle</sup> Rayen SAHNOUN

Année Universitaire : 2019 - 2020

**Numéro d'ordre** (bibliothèque) : .....

## *Remerciements*

*On remercie tout d'abord le Dieu puissant, qui nous a donné la patience, la volonté et le courage pour terminer ce travail.*

*Notre gratitude s'adresse au D<sup>r</sup> Samiya Amira pour son encadrement, son orientation, sa disponibilité et ses conseils.*

*Nous remercions vivement D<sup>r</sup> Fahima Bekka d'avoir accepté de faire partie du jury afin d'examiner ce travail, et D<sup>r</sup> Amel Ait meddour d'avoir accepté de participer au jugement de ce travail.*

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

*Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A ma chère mère,*

*A mon cher père,*

*Qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études.*

*A mes frères, Ismaïl et Ibrahim*

*Qui ont été toujours présents quand j'en ai besoin.*

*A toute mes amies qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.*

*A toute ma famille*

*Fatima Zohra*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*À mes chers parents*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.*

*Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*À mes frères, Tarek, Aimen et Salah*

*À ma sœur Bouchra*

*Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chères.*

*À mon trinôme Fatima Zohra et Rayen*

*Pour tous les souvenirs pendant les années d'études ensemble je vous souhaite plus de succès.*

***Imen***

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*À mes chers parents qui m'ont tout donné, encouragement, soutiens, amour et qui ont sacrifiés leur vie pour ma réussite.*

*J'espère qu'un jour, je pourrai leurs rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que dieu leur prête bonheur et longue vie.*

*À mes sœurs Aya et Rîtadje*

*À mon frère Mouad*

*Puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout la réussite.*

*A toute ma famille et mes amies qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.*

*À tous ceux que j'aime.*

**Rayen**

<b>Remerciements</b>	
<b>Liste des abréviations</b> .....	I
<b>Liste des figures</b> .....	III
<b>Liste des tableaux</b> .....	IV
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I : Bactéries lactiques et probiotiques</b>	
I.1. Définition des bactéries lactiques.....	3
I.2. Caractéristiques générales .....	3
I.3. Habitats et sources.....	3
I.4. Bactéries lactiques probiotiques.....	4
I.5. Critères de sélection des probiotiques .....	4
I.6. Effets bénéfiques des probiotiques.....	5
I.7. Mécanismes d'action des probiotiques .....	6
<b>Chapitre II : Encapsulation des probiotiques</b>	
II.1. Définition et principe de l'encapsulation .....	9
II.2. Matrices utilisées pour l'encapsulation.....	9
II.2.1. Alginate .....	10
II.2.2. $\kappa$ -Carraghénane .....	10
II.2.3. Gomme gellane et gomme de xanthane .....	11
II.2.4. Amidon.....	11
II.2.5. Chitosane.....	12
II.2.6. Gélatine .....	13
II.2.7. Protéines de lactosérum.....	13
II.2.8. Phtalate d'acétate de cellulose .....	14
II.3. Techniques d'encapsulation.....	14
II.3.1. Extrusion .....	14
II.3.2. Emulsion .....	15
II.3.3. Séchage par pulvérisation .....	16

II.3.4. Encapsulation dans liposome .....	17
II.3.5. Coacervation .....	17
II.3.6. Séchage en lit fluidisé .....	17
II.3.7. Lyophilisation .....	18
II.4. Facteurs affectant l'efficacité de la microencapsulation des probiotiques .....	18
II.5. Applications des probiotiques encapsulés .....	19
II.5.1. Production de culture starter .....	19
II.5.2. Viabilité des probiotiques dans le tractus gastro-intestinal .....	20
II.5.3. Applications dans les fermenteurs .....	21
II.5.4. Production de produits alimentaires .....	21
II.5.5. Applications dans certaines pathologies .....	21
<b>Chapitre III : Encapsulation des bactéries lactiques probiotiques dans l'alginate de sodium et les extraits de plantes</b>	
III. Microencapsulation et les prébiotiques .....	22
III.1. Inuline .....	23
III.2. Fructooligosaccharides .....	24
III.3. Amidon résistant extrait de pomme de terre , psyllium et inuline extrait de chicorée ..	25
III.4. Extrait de la peau des pommes (le marc de pomme) .....	26
III.5. Mucilage de graine de lin .....	27
III.6. Arabinoxylane extrait de son de maïs .....	28
III.7. Poudre de citrouille .....	28
III.8. Extrait de thé vert .....	29
<b>Conclusion</b> .....	30
<b>Références</b> .....	31





## Liste des abréviations

AAD	Antibiotic associated diarrhea
ADN	Acide désoxyribonucléique
AG	Acide guluronique
AGCC	Acides gras à chaîne courte
A/I	Alginate/Inuline
AI	Autoinducteur
ALG	Alginate
AM	Acide mannuronique
AX	Arabinoxylane
AXOS	Arabinoxylan oligosaccharide
CAP	Cellulose acetate phthalate
CDD	<i>Clostridium difficile</i> associated diarrhea
EE	Efficacité d'encapsulation
EHEC	Enterohaemorrhagic <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvasive <i>Escherichia coli</i>
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FM	Flaxeed mucilage
FOS	Fructooligosaccharide
G+C	Guanine + Cytosine
GIT	Gastrointestinal tract
GRAS	Generally Recognized As Safe
ID	Infectious diarrhea

IFN- $\gamma$	Interféron gamma
IgA	Immunoglobulines de type A
IgG	Immunoglobulines de type G
IL	Interleukine
INU	Inuline
LAB	Bactéries lactiques (Lactic Acid Bacteria)
NK	Natural killer
OMS	Organisation mondiale de la santé
P/V	Pression / Volume
pIgR	Polymeric immunoglobulin receptor
PS	Potato starch
PSY	Psyllium
QS	Quorum sensing
SA	Sodium alginate
SCI	Syndrome du côlon irritable
TD	Travelers diarrhea
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor Bêta
TLR2	Le récepteur de type Toll 2
TNF	Tumor necrosis factor
UFC	Unités formant colonies

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Page</b>
<b>Figure I. 1</b> : Mécanismes général d'action des probiotiques.	<b>6</b>
<b>Figure II. 1</b> : Les types des capsules.	<b>9</b>
<b>Figure II. 2</b> : Structure chimique de l'alginate.	<b>10</b>
<b>Figure II. 3</b> : Structure chimique du $\kappa$ -carraghénane.	<b>11</b>
<b>Figure II. 4</b> : Structure chimique du chitosane.	<b>12</b>
<b>Figure II. 5</b> : Structure chimique de la gélatine.	<b>13</b>
<b>Figure II. 6</b> : Schéma représentant la technique d'extrusion.	<b>15</b>
<b>Figure II. 7</b> : Schéma représentant la méthode d'émulsion.	<b>16</b>
<b>Figure II. 8</b> : Schéma représentant la méthode de séchage par pulvérisation.	<b>17</b>
<b>Figure II. 9</b> : Applications de la microencapsulation de LAB.	<b>19</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I. 1</b> : Micro-organismes considérés comme probiotiques.	<b>5</b>



Au cours de la dernière décennie, les habitudes des consommateurs ont évolué vers des aliments pouvant influencer positivement leur santé (**Panghal et al., 2019**). Les aliments fonctionnels peuvent être décrits comme des aliments incorporés avec des ingrédients bénéfiques tels que des probiotiques qui sont capable de développer des avantages pour la santé lors de la consommation (**Hassan et al., 2020**).

Parmi les différents groupes de bactéries, certaines espèces de bactéries lactiques faisant l'objet de recherches approfondies sont considérées comme les probiotiques les plus importants ayant des propriétés bénéfiques sur le tractus gastro-intestinal humaine (GIT) (**Afzaal et al., 2019**).

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités suffisantes, confèrent des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte (**FAO/WHO, 2002 ; Pech-Canul et al., 2020**). Pour exercer des effets sur la santé, il est recommandé d'ingérer des aliments contenant au moins  $10^6$ - $10^7$  unités formant colonies (UFC) / g de probiotiques viables (**Qi et al., 2020**). Cependant, l'efficacité des probiotiques est souvent questionné en raison de la perte de leur viabilité pendant le stockage et dans le système gastro-intestinal humain (**Chen et al., 2017 ; Rovinaru et Pasarin, 2019**) à cause des défis environnementaux rencontrés, tels que les acides gastriques, les enzymes digestives et les sels biliaires (**Gu et al., 2019**).

Il existe diverses méthodes de protection qui peuvent améliorer la viabilité des bactéries probiotiques ; cependant, le taux de survie et de réussite est encore plus bas. Actuellement, la technique d'encapsulation a beaucoup d'attention car elle améliore l'endurance des bactéries probiotiques dans les aliments porteurs ainsi que dans le système gastro-intestinale (**Afzaal et al., 2019**).

La microencapsulation est une technologie en pleine expansion dans laquelle de très petites gouttelettes ou particules de matériau liquide ou solide sont entourées ou recouvertes d'un film continu de matériau polymère (**Suganya et Anuradha, 2017**).

L'alginate (ALG) reste l'hydrocolloïde le plus couramment utilisé pour la microencapsulation (**Shafizadeh et al., 2020**). De nos jours, les extraits végétaux contiennent des fibres, des vitamines et des minéraux font l'objet de plusieurs recherches qui ont introduit ces extraits avec les probiotiques dans les billes encapsulées (**Sathyabama et Vijayabharathi, 2014**). En fait, ces extraits font un matériau approprié pour favoriser la croissance bactérienne (**El- Abd et al., 2018**).

L'objectif de notre travail est de faire une synthèse bibliographique sur les recherches qui ont étudié l'effet de l'encapsulation sur la survie des bactéries lactiques notamment après incorporation des extraits de plantes dans des microcapsules d'alginate de sodium et après leurs exposition aux conditions gastro-intestinales simulées.

## I.1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (lactic acid bacteria, LAB) ou bactéries de l'acide lactique sont un groupe hétérogène de microorganismes qui ont la capacité de produire de l'acide lactique comme produit principal à partir de la fermentation des sucres (**Badis et al., 2005 ; Labioui et al., 2005 ; Sun et al., 2014**). Elles sont, généralement, non pathogènes et considérées comme « GRAS » (Generally Recognized As Safe) (**Cintas et al., 2001**).

## I.2. Caractéristiques générales

Les bactéries lactiques sont des procaryotes à Gram positif, non sporulées, généralement catalase négatifs, tolérantes aux acides, préférant des conditions anaérobies mais sont en général aérotolérantes. Elles peuvent avoir différentes formes : sphériques (coques : *Streptococcus*, *Lactococcus*), bâtonnets (bacilles : *Lactobacillus*) ou encore ovoïdes (coccobacilles : *Leuconostoc sp*) (**Pringsulaka et al., 2012 ; Sun et al., 2014**). Les LAB ont une faible teneur en G+C (inférieure à 55% molaire) (**König et Fröhlich, 2017**). Elles sont généralement mésophiles mais peuvent se développer à des températures aussi basses que 5°C ou aussi élevées que 45°C. Elles se caractérisent par de faibles activités protéolytique et lipolytique et sont très exigeantes en acides aminés et en vitamine B (**Caplice et Fitzgerald, 1999**).

Les bactéries lactiques ont un métabolisme strictement fermentaire, elles sont classées en bactéries homofermentaires qui produisent uniquement l'acide lactique, et bactéries hétérofermentaires qui produisent de l'acide lactique, de l'acide acétique, du CO<sub>2</sub> et/ou de l'éthanol (**Georges et François-Marie, 2008**).

## I.3. Habitats et sources

Les bactéries lactiques sont ubiquistes très fréquentes dans la nature. Elles se trouvent dans différents habitats, tels que les caries humaines, le tractus gastro-intestinal, la cavité buccale, la cavité vaginale, elles se trouvent aussi dans les végétaux, les produits laitiers et carnés (**Sun et al., 2014 ; König et Fröhlich, 2017**).

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont largement répandues dans la nature, essentiellement au niveau des végétaux, animaux et l'Homme. Peu d'espèces ont un caractère pathogène (**Denis et al., 2016**).

Les espèces du genre *Pediococcus* sont associées à l'altération des boissons fermentées, en particulier des bières. Bien que les espèces du genre *Lactococcus* ont été isolées à partir de matériel végétal, mais sont le plus souvent associés aux produits laitiers (**Mokoena, 2017**).



### I.4. Bactéries lactiques probiotiques

Le microbiote intestinal ou microflore intestinale est l'ensemble des bactéries qui vivent dans le tube digestif. À l'âge adulte, le tube digestif humain renferme jusqu'à  $10^{14}$  micro-organismes (100 000 milliards), c'est-à-dire dix fois plus de cellules que n'en contient l'organisme humain. Le microbiote intestinal humain représente une biomasse considérable (estimée à 1 kg de bactéries) dotée de multiples fonctions physiologiques, ce qui le fait considérer par certains comme un véritable organe « caché » (**Barbut et Joly, 2010**).

Parmi les nombreux microbes intestinaux, ceux qui devraient avoir un effet bénéfique sur l'hôte en améliorant l'équilibre microbien intestinal, sont donc sélectionnés comme probiotiques (**Ishibashi et Yamazaki, 2001**).

Le terme «probiotique», issu des termes Grec «pros» et «bios», signifie « pour la vie » (**Faure et al., 2013**). Il a été introduit pour la première fois par Lilly et Stillwell en **1965**. En **2002**, l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ont adopté la définition suivante « Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte » (**Xiao et al., 2014**).

### I.5. Critères de sélection des probiotiques

Plusieurs critères spécifiques, sont pris en considération pour permettre aux espèces et aux souches de bactéries lactiques d'être probiotiques y compris les critères de sécurité, les critères fonctionnels et technologiques, telles que : l'origine de la souche (souche d'origine humaine pour un usage sur des humains), la résistance aux acides gastriques et aux sels biliaries, elles ne doivent pas être toxiques, la capacité à adhérer et à coloniser la muqueuse intestinale, production de substances d'intérêt (bactériocine, acide lactique), possibilité de production à grande échelle et la conservation des propriétés organoleptiques et technologiques (**Saarela et al., 2000 ; Strompfovà et al., 2004**). Des tests *in vitro* doivent donc être réalisés afin de déterminer si les souches microbiennes répondent aux critères cités précédemment (**Klaenhammer et Kullen, 1999**).

Lors de la consommation des produits, l'efficacité des probiotiques est dépendante de leur viabilité. Selon la Fédération Internationale de Laiterie, au moins  $10^7$  UFC / g de bactéries doivent rester vivantes, abondantes, et métaboliquement actives dans les produits laitiers pour exercer des effets positifs (**Zhao et al., 2019**). Le **tableau I. 1** résume les principaux microorganismes probiotiques.

**Tableau I. 1:** Micro-organismes considérés comme probiotiques (Holzapfel *et al.*, 2001).

Espèce de <i>Lactobacillus</i>	Espèce de <i>Bifidobacterium</i>	Autres LAB	Probiotiques non LAB
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i> var . toyoi
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> souche nissle
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. bulgaricus</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidolactici</i>	<i>Saccharomyces Boulardii</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. johnsonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

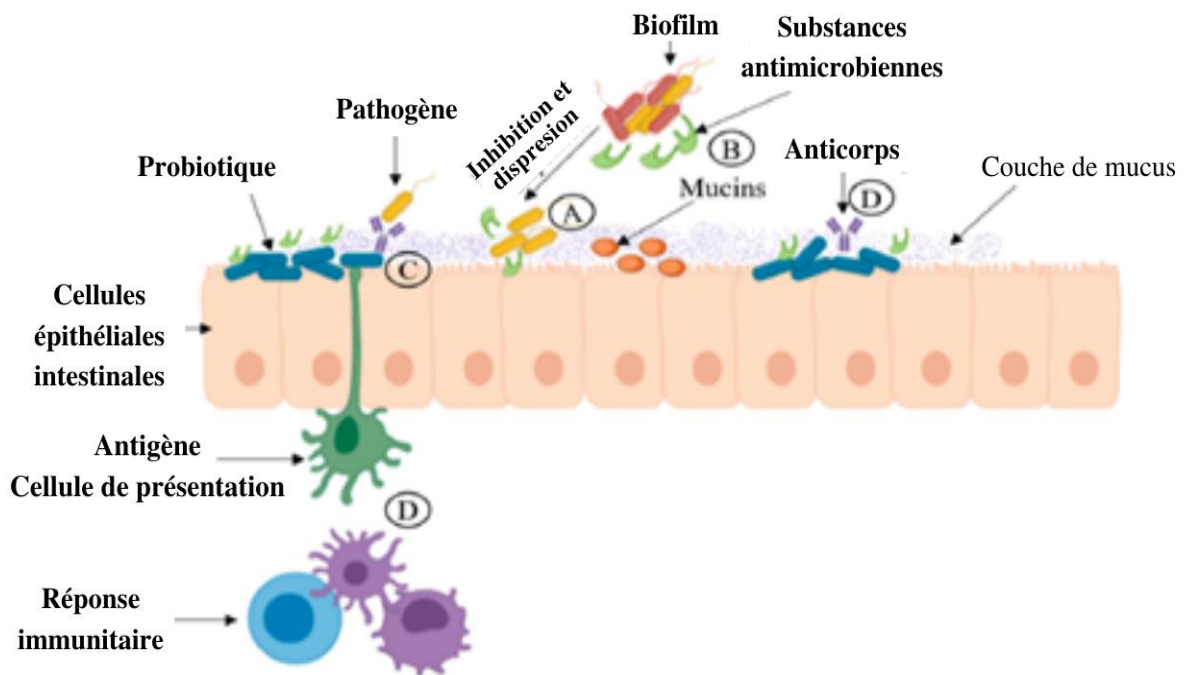
### I.6. Effets bénéfiques des probiotiques

L'utilisation des probiotiques pour prévenir et traiter une grande variété de conditions a gagné en popularité. Ceci est en partie dû à la nécessité de trouver des alternatives aux thérapies traditionnelles telles que les antibiotiques ainsi qu'au manque de bons traitements pour les maladies gastro-intestinales et autres (Britton et Versalovic, 2008), qui sont souvent le résultat de l'altération de la symbiose entre le microbiote et l'hôte « phénomène de dysbiose » qui est apparait aujourd'hui comme un déterminant majeur des pathologies intestinales, c'est-à-dire des anomalies qualitatives du microbiote (Joly *et al.*, 2017). La consommation de probiotique est associée à une gamme d'avantages pour la santé, notamment la stimulation du système immunitaire, la protection contre les maladies diarrhéiques (diarrhée associée aux antibiotiques (AAD), maladie de *Clostridium difficile* (CDD), diarrhée infectieuse (ID) et diarrhée du voyageur (TD)) (Ritchie et Romanuk, 2012), diminution de l'intolérance au lactose, soulagement des symptômes des maladies inflammatoires de l'intestin ; le syndrome

du côlon irritable (SCI), les colites, la constipation et les maladies alcooliques du foie (Gareau *et al.*, 2010). De nombreux travaux cliniques plaident en faveur de certains micro-organismes probiotiques (surtout les lactobacilles et les bifidobactéries) (Barbut et Joly, 2010).

### I.7. Mécanismes d'action des probiotiques

Les mécanismes d'action des probiotiques tels que l'exclusion compétitive, la production de substances inhibitrices ou l'immunomodulation (figure I. 1) interfèrent avec la composition et les fonctions des cellules épithéliales intestinales et immunitaires. Plusieurs aperçus sur les mécanismes des probiotiques sont déduits et tous les mécanismes n'ont pas été confirmés dans chaque souche probiotique ou chez l'Homme car une cellule probiotique peut présenter plusieurs mécanismes simultanément, encore complexifiés par divers facteurs (Ashaolu, 2020).



**Figure I. 1 :** Mécanismes d'action des probiotiques. (A) Exclusion compétitive des microorganismes pathogènes. (B) Production de substances antimicrobiennes. (C) Augmentation de l'adhésion à la muqueuse intestinale et amélioration de la barrière épithéliale. (D) Stimulation du système immunitaire (Silva *et al.*, 2020).

Le mécanisme d'exclusion compétitive implique des sites d'adhésion et une compétition de nutriments entre l'organisme probiotique et l'organisme pathogène. Cela permet au probiotique d'inhiber la croissance du pathogène (Ashaolu, 2020).

Une étude menée avec *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus gasseri* et *Lactobacillus plantarum* a montré que ces espèces inhibent l'adhérence d'*Escherichia coli* entéro-invasive (EIEC) et *Escherichia Coli* entéro-hémorragique (EHEC) et l'invasion des cellules HT-29 (une lignée cellulaire de cancer du côlon humain), apparemment via le blocage des sites de liaison aux récepteurs cellulaires. De plus, la protéine Ip\_1643 exprimée par *Lactobacillus plantarum* WCFSI s'est avérée d'inhiber l'adhésion de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* ATCC14028 et *Shigella flexneri* CMCC (B) 51572 à la mucine gastrique de plus de 95% (Do Carmo *et al.*, 2018).

Les bactéries probiotiques produisent des substances aux effets bactéricides ou bactériostatiques sur d'autres populations microbiennes telles que les bactériocines, le peroxyde d'hydrogène, les sidérophores, les lysozymes, les protéases, parmi beaucoup d'autres. De plus, certaines bactéries produisent l'acide organique (par exemple les acides lactique, acétique, butyrique et propionique) et des acides gras volatils, qui peuvent entraîner une réduction du pH dans la lumière gastro-intestinale, empêchant ainsi la croissance de microorganismes pathogènes opportunistes (Zorriehzahra *et al.*, 2016).

La pédiocine est un peptide antimicrobien produit par une bactérie probiotique importante, *Pediococcus pentosaceus* OZF, qui est généralement isolée du lait maternel. La pédiocine appartient au type de bactériocines de classe II-a et est très efficace contre la listériose. En tant que mode d'action, la pédiocine interagit fortement avec la paroi cellulaire du pathogène puis perturbe la membrane. Une fois que la pédiocine entre dans le cytoplasme, elle inhibe la synthèse des protéines en interférant avec la réplication et la transcription d'acide désoxyribonucléique (ADN) (Khaneghah *et al.*, 2020).

Le quorum sensing (QS) est un mécanisme de communication bactérienne basé sur la perception de la densité de population et la sécrétion de molécules de signal appelées autoinducteurs (AI) qui régule l'expression de la virulence (Kiymaci *et al.*, 2018).

De plus, certaines bactéries probiotiques telles que les souches de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* dégradent les molécules signal des bactéries pathogènes par sécrétion enzymatique ou production d'antagonistes d'autoinducteurs (Zorriehzahra *et al.*, 2016). Medellin-Peña *et al.* (2007) ont démontrés que *Lactobacillus acidophilus* sécrète une molécule qui inhibe le QS ou interagit avec la transcription bactérienne du gène *Escherichia coli* O157.

Le microbiote intestinal est essentiel à la maturation du système immunitaire et au développement de la tolérance immunologique, un mécanisme par lequel le système immunitaire est modulé pour protéger l'organisme hôte contre les agents pathogènes (**Dos Reis et al., 2017**). L'amélioration de la production des anticorps tels que les immunoglobulines de type G (IgG) et les immunoglobulines de type A (IgA) par des probiotiques comme LAB et les bifidobactéries peut être utile pour prévenir l'invasion des barrières muqueuses car LAB peuvent agir sur les cellules dendritiques et épithéliales intestinales ou améliorer l'expression du récepteur polymère d'immunoglobuline (pIgR). Certaines espèces de LAB peuvent utiliser les récepteur de type Toll 2 (Toll-like receptor 2 (TLR2)) pour stimuler la production d'interleukine-6 (IL-6) ou facteur de croissance transformant bêta (Transforming Growth Factor bêta (TGF- $\beta$ )) à partir de cellules dendritiques. Les bactéries lactiques stimulent également la production d'IL-12 médiée par des polysaccharides afin d'augmenter l'activité des tueurs naturels (Natural Killer (NK)), ce qui améliore ensuite la défense de l'hôte. Certains probiotiques démontrent également leur capacité à augmenter la production d'anticorps dans le but d'améliorer les défenses contre les invasions pathogènes et servent ainsi de vaccins adjuvants (**Ashaolu, 2020**).

En plus de ceux-ci, les probiotiques peuvent induire des cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10 et le TGF- $\beta$ , en régulant la baisse d'expression de cytokines pro-inflammatoires, telles que le facteur de nécrose tumorale (TNF) et l'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ) afin d'améliorer les réponses immunitaires muqueuses (**Corr et al., 2009**).

### II.1. Définition et principe de l'encapsulation

La microencapsulation est souvent définie comme un processus par lequel un matériau solide, liquide et gazeux est recouvert ou piégé à l'intérieur d'un autre matériau ou système (Huq *et al.*, 2013), sous forme des capsules de très petite taille qui protègent le matériau contre les risques environnementaux et libèrent leur contenu aux taux souhaités lorsque les conditions deviennent spécifiques (Amine *et al.*, 2014).

Les matériaux à revêtir sont dénommés noyau, phase interne ou encapsulât tandis que la couche qui forme la microcapsule se nomme aussi la paroi, la capsule ou la phase externe (Saraf *et al.*, 2007), la bille obtenue donc est constituée d'une membrane semi-perméable, sphérique, mince et solide entourant un noyau solide / liquide, avec un diamètre variant de quelques microns à 1 mm (Ouled-Haddar *et al.*, 2013).

Différents types des capsules pourraient être caractérisés (figure II. 1) : une microcapsule est le type de réservoir (substance à protéger) qui a une couche autour du matériau de base, ou une microsphère qui est le type de matrice à l'agent actif dispersé sur le matériau support et peut également être trouvé sur la surface, Ou bien une combinaison de ces deux types donne une troisième encapsulée appelée matrice enrobée, dans laquelle l'agent actif est une capsule recouverte d'une couche supplémentaire (Serna-Cock et Vallejo-Castillo, 2013).

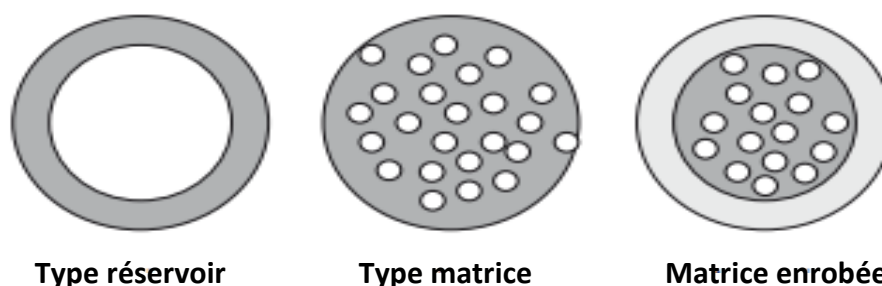


Figure II. 1 : Types des capsules (Serna-Cock et Vallejo-Castillo, 2013).

### II.2. Matrices utilisées pour l'encapsulation

L'un des facteurs clés du succès de la microencapsulation est le choix d'une matrice adaptée (Raddatz *et al.*, 2020), puisqu'elle détermine les propriétés des microparticules et donc l'efficacité de protection des bactéries probiotiques (Burgain *et al.*, 2016). Les matrices comprennent des polymères d'origines naturels et d'origines synthétiques qui sont directement en contact avec les cellules vivantes (Nazzaro *et al.*, 2012 ; Suganya et Anuradha, 2017). Il est important que ces matrices soient biocompatible, biodégradable et reconnus comme GRAS (Generally Recognized As Safe) (De Andrade *et al.*, 2019).

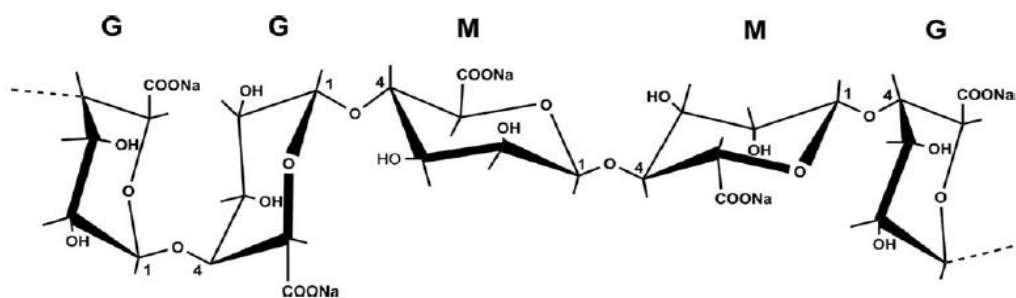
### II.2.1. Alginate

L'alginate est un polysaccharide linéaire d'origine naturelle extrait de diverses espèces d'algues bruns et de bactéries (*Azotobacter* et *Pseudomonas*). Il est composé d'acides  $\beta$ -D-mannuroniques et  $\alpha$ -L-guluroniques (**Figure II. 2**) (**Krasaekoopt *et al.*, 2003 ; Dordevié *et al.*, 2016 ; Qin *et al.*, 2018 ; Dhamecha *et al.*, 2019**).

L'alginate est le polymère le plus utilisé pour l'encapsulation et préférable car il est peu coûteux, biocompatible, non toxique, extrait de sources naturelles et aboutit à la formation des matrices douces avec du chlorure de calcium pour piéger les matériaux sensibles tels que les bactéries probiotiques (**Bevilacqua *et al.*, 2019 ; Dhamecha *et al.*, 2019 ; Dimitrello *et al.*, 2019**).

En raison de la présence des groupes acide mannuronique (AM) et acide guluronique (AG) fonctionnels ouverts, les alginates subissent des réactions avec d'autres polymères cationiques tels que le chitosane (**Dhamecha *et al.*, 2019**).

Selon **El-Abd *et al.* (2018)** la microencapsulation utilisant uniquement de l'alginate est limitée en raison de sa faible stabilité à pH très bas provoquant la libération du noyau ainsi, l'intensification du processus de production (processus d'extrusion en particulier) qui est très difficile, et les microparticules très poreuses ne peuvent pas protéger les cellules de son environnement (**Gouin, 2004 ; Burgain *et al.*, 2011 ; Dordevié *et al.*, 2016**).



**Figure II. 2 :** Structure chimique de l'alginate (G : Acide guluronique M : Acide mannuronique) (**Ghayempour et Mortazavi, 2015**).

### II.2.2. $\kappa$ -Carraghénane

Le carraghénane est utilisé dans l'industrie alimentaire et comme support d'encapsulation en raison de sa propriété de gélification. C'est un polysaccharide naturel extrait des macro-algues marines, comprenant une structure de réticulation par D-galactose-4-sulfate et 3,6-D-galactose déshydraté (**Figure II. 3**) (**Anal et Singh, 2007 ; Shori, 2017 ; Panghal *et al.*, 2019**).

Les billes de  $\kappa$ -carraghénane sont formées en chauffant la solution polymère à une température comprise entre 40 et 50°C (**Burgain *et al.*, 2011**). En refroidissant le mélange à la



température ambiante, la gélification se produit puis, les microparticules sont stabilisées en ajoutant des ions potassium (sous forme de KCl) (Krasaekoopt *et al.*, 2003 ; Burgain *et al.*, 2011). L'encapsulation de cellules probiotiques dans des billes de  $\kappa$ -carraghénane maintient les bactéries dans un état viable mais les gels produits sont cassants et ne peuvent pas résister aux stress (Dordevié *et al.*, 2016).

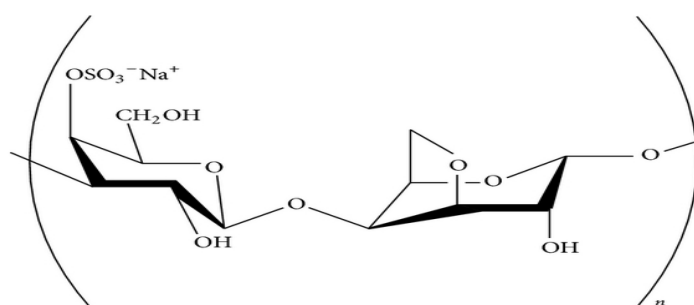


Figure II. 3 : Structure chimique du  $\kappa$ -carraghénane (Rane *et al.*, 2014).

### II.2.3. Gomme gellane et gomme de xanthane

La gomme gellane est un polysaccharide microbien dérivé de *Sphingomonas elodea*, constitué d'une molécule de L-rhamnose, d'une molécule d'acide D-glucuronique et de deux molécules de D-glucose. La gomme de gellane a la capacité de supporter la chaleur et les gels composés de ce polymère sont très stables à faible pH (Dordevié *et al.*, 2016 ; Marcial-Coba *et al.*, 2019).

La gomme de xanthane est un exopolysaccharide produit par la fermentation de la bactérie pathogène des plantes *Xanthomonas campestris* à partir d'un milieu riche en glucose (Dordevié *et al.*, 2016). La gomme de xanthane est composée de glucose, de mannose et d'acide glucuronique (Rokka et Rantamäki, 2010).

Ces deux polymères ont souvent été combinés dans le but d'obtenir un gel beaucoup plus résistant aux conditions gastriques (Burgain *et al.*, 2016).

Une des applications de ces polymères est la microencapsulation des bactéries probiotiques *Bifidobacterium infantis* dans des billes de gellane et de xanthane et les résultats ont montré une forte viabilité des probiotiques en milieu gastro-intestinal simulé (Sun et Griffiths, 2000).

### II.2.4. Amidon

L'amidon est un polysaccharide constitué d'un grand nombre d'unités de glucose liées par des liaisons glucosidiques (Sajilata *et al.*, 2006). Les revêtements à base d'amidon sont



généralement transparent, inodore, insipide et incolore avec une faible perméabilité à l'oxygène (Pavli *et al.*, 2018). Les amidons naturels n'ont pas la propriété émulsifiante et ils présentent une surface idéale pour l'adhésion des cellules probiotiques aux granules d'amidon (Anal et Singh, 2007). Les granules d'amidon contiennent les macromolécules amylose et amylopectine, qui peuvent former des solutions et des gels (Pavli *et al.*, 2018).

### II.2.5. Chitosane

Le chitosane est un polysaccharide cationique linéaire composé de la distribution aléatoire de D-glucosamine liée en  $\beta$  (1  $\rightarrow$  4) et de N-acétyl-D-glucosamine (Figure II. 4) (Qi *et al.*, 2020). Le chitosane a été utilisé de préférence comme matériau de revêtement mais pas comme capsule car il n'a pas montré de très bons résultats en ce qui concerne la viabilité des cellules probiotiques encapsulés (Dordevié *et al.*, 2016).

Le chitosane est souvent utilisé en combinaison avec l'alginate, ce complexe permet de modifier la vitesse de diffusion de substances encapsulées. L'interaction électrostatique des groupes carboxyliques de l'alginate avec les groupes amine du chitosane permettent la formation de billes suffisamment résistantes pour retenir les cellules encapsulées (Burgain *et al.*, 2016 ; Qi *et al.*, 2020).

L'une des limitations majeures de l'utilisation du chitosane est son effet bactériostatique qui, de fait, peut limiter la viabilité des bactéries probiotiques encapsulées dans ce type de système (Burgain *et al.*, 2016).

Selon Chávarri *et al.* (2010) l'encapsulation de bactéries probiotiques avec de l'alginate et un revêtement de chitosane offre une protection dans des conditions gastro-intestinales simulées et, par conséquent, c'est un bon moyen de livraison de cellules bactériennes viables au côlon.

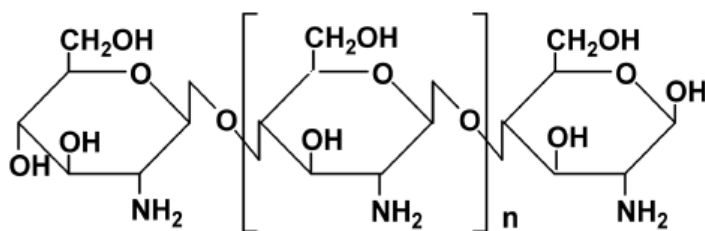


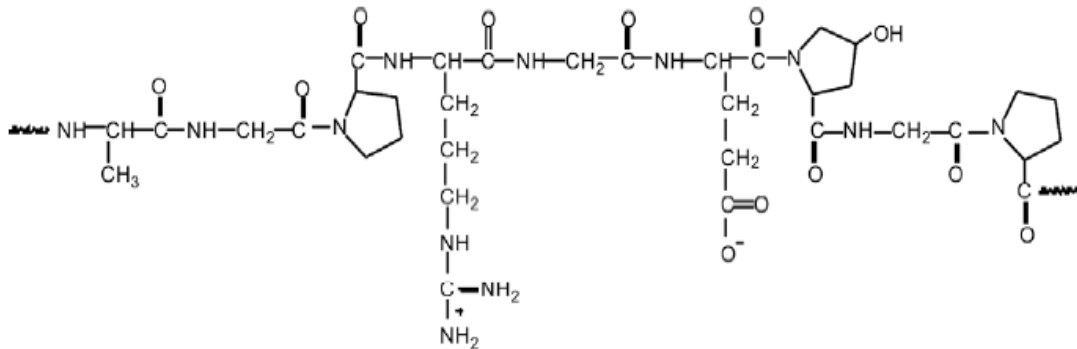
Figure II. 4 : Structure chimique du chitosane (Islam *et al.*, 2010).

### II.2.6. Gélatine

La gélatine est une gomme protéique dérivée d'hydrolyse partielle du collagène d'origine animale, a une structure spéciale et des caractéristiques fonctionnelles polyvalentes (**Figure II. 5**) (**Gbassi et Vandamme, 2012**).

La gélatine ne forme pas de bille en raison de sa structure amphotère, elle pourrait être combinée avec d'autres polymères tels que la gomme de gellane comme matrice pour la microencapsulation (**Burgain et al., 2016**).

Les deux sont miscibles à un pH supérieur à 6, car ils portent une charge négative nette et se repoussent. À un pH inférieur à 6, la charge nette de gélatine est positive ce qui provoque une interaction avec la gomme gellane chargée négativement (**Gbassi et Vandamme, 2012 ; Panghal et al., 2019**).



**Figure II. 5 :** Structure chimique de la gélatine (**Peña et al., 2010**).

### II.2.7. Protéines de lactosérum

Les protéines de lactosérum sont un mélange de protéines globulaires isolées du lactosérum, la matière liquide créée à la suite de la production de fromage. Elles possèdent une valeur nutritionnelle élevée et d'excellentes propriétés fonctionnelles. La capacité de cette protéine à se lier à une grande variété de molécules actives en fait un transporteur efficace pour la livraison sûre de composés à l'hôte (**Martín et al., 2015 ; Dordevié et al., 2016**).

**Picot et Lacroix (2004)** ont travaillé avec la protéine de lactosérum de lait comme matériau de support pour encapsuler *Bifidobacterium breve* R070 et *Bifidobacterium longum* R023 par séchage par pulvérisation pour être ensuite inclus dans le yaourt. Les résultats ont indiqué que la protéine de lactosérum peut augmenter la tolérance des bactéries au pH acide, donc les protéines de lactosérum ont un grand potentiel pour être utilisées dans les probiotiques et dans les produits où les bactéries doivent être viables lorsqu'elles atteignent le tractus gastro-intestinal.

### II.2.8. Phtalate d'acétate de cellulose (CAP)

C'est un polymère dérivé de la cellulose, insoluble dans les milieux acides à pH inférieur à 5 mais soluble à pH supérieur à 6. Cette propriété est essentielle pour l'encapsulation des probiotiques car le biomatériau ne doit pas se dissoudre dans l'estomac, mais seulement dans l'intestin (**Rokka et Rantamäki, 2010 ; Gbassi et Vandamme, 2012**).

Selon **Favaro-Trindade et Grosso (2002)** le polymère CAP a prouvé son efficacité dans la microencapsulation de *Bifidobacterium lactis* (Bb-12) et *Lactobacillus acidophilus* (La-05) par la technique de séchage par pulvérisation. Cette étude a évalué la résistance des micro-organismes microencapsulés dans les acides et les concentrations élevées de sel biliaire.

### II.3. Techniques d'encapsulation

Chaque technique d'encapsulation répond à des critères bien définis. Ainsi le choix d'une technique se fera en fonction de la nature de l'actif à encapsuler, la taille, la structure des microparticules souhaitées, de l'application envisagée, la vitesse et les conditions de libération prévues, des rendements d'encapsulation nécessaires, mais également des contraintes de fabrication et de coût (**Benoît et Richard, 2000 ; Abbas et al., 2012 ; Solanki et al., 2013**).

Parmi toutes les techniques, l'extrusion, l'émulsion et le séchage par pulvérisation sont efficacement utilisés pour l'encapsulation des probiotiques (**Kavitake et al., 2018**).

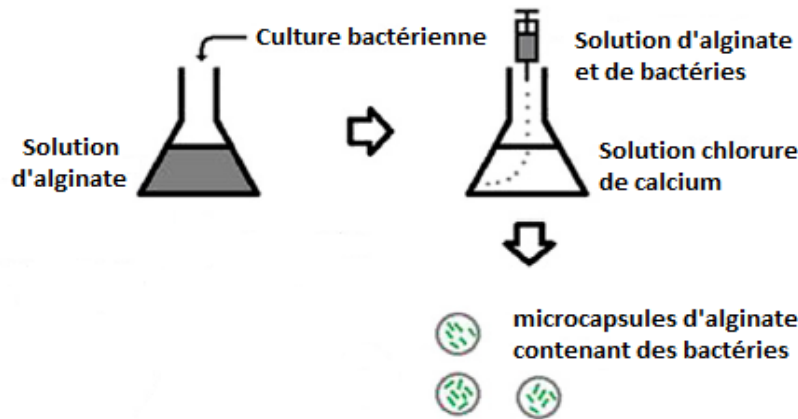
#### II.3.1. Extrusion

L'extrusion est l'une des méthodes physiques anciennes et plus commun pour produire des capsules hydrocolloïdes en utilisant une procédure simple, peu coûteuse et douce, ce qui assure une viabilité relativement élevée de cellules probiotiques (**Gouin, 2004 ; Solanki et al., 2013**).

Le principe consiste à préparer une solution hydrocolloïde dans laquelle on rajoute de cellules probiotiques pour former une suspension cellulaire (**Figure II. 6**). La suspension de ces cellules passe à travers l'aiguille de la seringue pour former des gouttelettes qui sont directement coulées dans la solution de durcissement contenant des cations multivalents généralement du calcium sous forme de chlorure de calcium. Lorsque les gouttelettes entrent en contact avec une solution de durcissement, des polymères d'alginate entourent le noyau pour former une structure de réseau tridimensionnelle en réticulant des ions calcium (**Burgain et al., 2011 ; Solanki et al., 2013 ; Kavitake et al., 2018 ; Pech-Canul et al., 2020**). Les particules tridimensionnelles produites présentent des diamètres de 100µm à 3mm (**Haffner et al., 2016**). La taille des particules formées dépend de la taille du diamètre de l'aiguille utilisée, le type, la concentration et la viscosité de la solution d'alginate, distance entre la

seringue et la solution de chlorure de calcium (Mortazavian *et al.*, 2007 ; Serna-Cock et Vallejo-Castillo, 2013).

L'inconvénient de cette technique est qu'elle est difficile à utiliser pour une production à grande échelle en raison de la formation lente de microbilles (Burgain *et al.*, 2011 ; Serna-Cock et Vallejo-Castillo, 2013).



**Figure II.6 :** Schéma représentant la technique d'extrusion (Cook *et al.*, 2012).

### II.3.2. Emulsion

L'émulsion ou l'émulsification est une méthode chimique simple et facilement réalisable à grande échelle (Tan et Danquah, 2012 ; Solanki *et al.*, 2013). Cette technique implique la dispersion d'une phase aqueuse contenant les probiotiques et la suspension de polymère dans une phase organique, comme l'huile (l'huile de soja, et l'huile de tournesol par exemple), qui entraîne la formation d'eau dans l'émulsion d'huile. Une émulsion est formée suite à l'homogénéisation du mélange avec un agent émulsifiant et ceci sous agitation magnétique. Les capsules sont formées en ajoutant lentement le chlorure de calcium à l'émulsion (Figure II. 7) (Kailasapathy, 2002 ; Rokka et Rantamäki, 2010 ; Pech-Canul *et al.*, 2020).

Généralement, les billes (capsules) formées présentent des diamètres de 2 à 5mm (Mortazavian *et al.*, 2007). Ceci dépend de plusieurs facteurs. En effet, la concentration et la viscosité de polymère, et le taux d'agitation sont les principaux paramètres qui contrôlent le diamètre final des billes (Huq *et al.*, 2013).

Le principal inconvénient de cette méthode est que les billes obtenues sont de taille et de formes différentes, coût de performance plus élevé dû à l'utilisation d'huile végétale (Kavitake *et al.*, 2018).

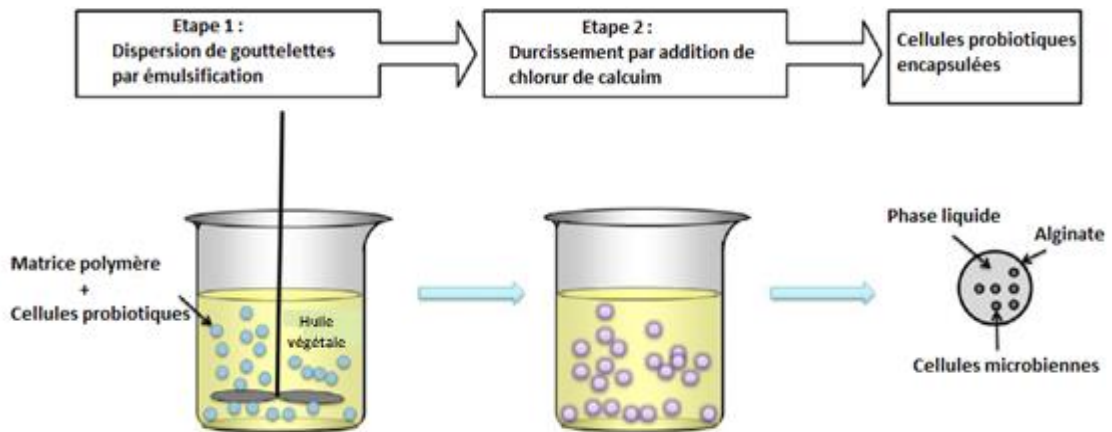


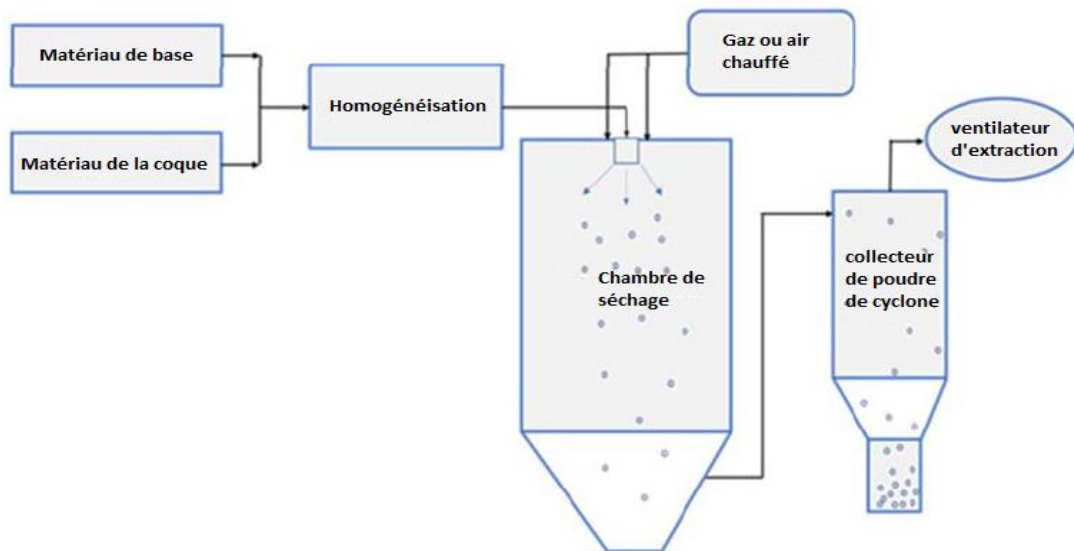
Figure II. 7 : Schéma représentant la méthode d'émulsion (Burgain *et al.*, 2011).

### II.3.3. Séchage par pulvérisation

C'est la méthode la plus couramment utilisée dans l'industrie alimentaire en raison de ses faibles coûts de production, sa simplicité, et sa facilité (Naveena et Nagaraju, 2020).

Le processus de base consiste à préparer une solution bactérienne et homogénéisée avec le matériau d'encapsulation puis atomisation avec une buse ou une roue tournante dans une chambre de séchage alimentée en air chaud. Le solvant (eau) s'évapore rapidement dès qu'il rencontre les gouttelettes et l'air chaud contenu dans la chambre de séchage (Figure II. 8), ce qui donne des microcapsules sous forme de poudre sèche. Cette méthode forme généralement des microcapsules avec structure matricielle de forme sphérique typique, et la taille très fine peut varier de 10 à 50  $\mu\text{m}$  (Haffner *et al.*, 2016; Kavitate *et al.*, 2018 ; Ozdal *et al.*, 2020).

L'inconvénient principal de cette technique est qu'elle utilise des températures élevées pour le séchage, et par conséquent, pourrait affecter la viabilité des souches bactériennes utilisées (Ozidal *et al.*, 2020).



**Figure II. 8 :** Schéma représentant la méthode de séchage par pulvérisation (Ozidal *et al.*, 2020).

### II.3.4. Encapsulation dans liposome

Les liposomes sont des systèmes d'encapsulation à biocompatibilité et biodégradabilité élevées et à faible toxicité, qui ont été étudiés pour leur capacité à agir comme porteurs de biocomposés hydrophobes et hydrophiles (Beltrán *et al.*, 2020). Ce sont des particules sphériques composées d'un ou plusieurs compartiments aqueux, constituant le noyau entouré par une ou plusieurs bicouches lipidiques formées par une molécule amphipathique (Ces molécules amphipathiques sont généralement des phospholipides qui sont formés d'une tête hydrophile et de deux queues d'hydrocarbures hydrophobes de lipides polaires) (Beltrán *et al.*, 2020 ; Ozidal *et al.*, 2020).

### II.3.5. Coacervation

La coacervation est une technologie d'émulsification modifiée (De Vos *et al.*, 2010), c'est un processus dans lequel des solutions colloïdales ont été séparées en deux phases liquides, l'une riche en colloïde (coacervat) et l'autre pauvre en colloïde (phase d'équilibre) (Gouin, 2004 ; Timilsena *et al.*, 2019). Il s'agit d'un processus comprenant trois étapes : la séparation des phases, le dépôt, et la solidification. En fonction de la technique de séparation de phase envisagée, il existe 2 types : la coacervation simple et la coacervation complexe (Solanki *et al.*, 2013).

### II.3.6. Séchage en lit fluidisé

C'est une technique de séchage par pulvérisation modifiée. Cette méthode est peu coûteuse, facile à étendre peut fournir des multicouches avec différentes propriétés (De Vos *et al.*,

2010). Le principe consiste à suspendre la suspension bactérienne dans l'air et les molécules de matrice sont pulvérisées sur les composants bioactifs (les graisses, des protéines, des glucides et des émulsifiants) cela forme une capsule. Cependant, cette technologie est difficile à maîtriser et prend beaucoup de temps (De Vos *et al.*, 2010 ; Liu *et al.*, 2019).

### II.3.7. Lyophilisation

La lyophilisation a généralement été utilisée pour fabriquer des bactéries probiotiques commerciales sous forme de poudre depuis des décennies. Elle permet de fournir une taille contrôlée et une surface spécifique plus élevée par rapport aux capsules séchées par pulvérisation. Le principe est basé sur la sublimation, où les cellules sont d'abord congelées à très basse température puis séchées par sublimation sous vide poussé. La méthode présente également des inconvénients, notamment des besoins énergétiques élevés, un temps de traitement long en plus de son coût élevé (Serna-Cock et Vallejo-Castillo, 2013 ; Liu *et al.*, 2019 ; Rezvankhah *et al.*, 2020).

### II.4. Facteurs affectant l'efficacité de la microencapsulation des probiotiques

Pour évaluer l'efficacité du processus d'encapsulation des probiotique, différents paramètres sont pris en compte, tels que le maintien de la viabilité après exposition aux conditions environnementales dures, la capacité de libération / récupération des cellules et le temps de durcissement (temps nécessaire à la formation des capsules).

L'efficacité de l'encapsulation dépend de (Mortazavian *et al.*, 2007 ; Solanki *et al.*, 2013) :

**Enrobage des capsules :** un revêtement efficace de la capsule améliore sa propriété physicochimique. Par exemple, l'enrobage des capsules d'alginate leur rend résistantes aux agents chélateurs des ions calcium et augmente également leur résistance mécanique.

**Concentration de la solution polymère et le diamètre des billes :** en fait, c'est des facteurs qui affectent l'efficacité de l'encapsulation. À mesure que le diamètre des billes augmente, il provoque une sensation et une saveur inappropriées en bouche. De plus, l'augmentation du diamètre de la capsule diminue la digestibilité par l'enzyme pancréatique.

**Conditions environnementales :** l'efficacité de l'encapsulation dépend aussi des conditions environnementales de sorte que les capsules tolèrent beaucoup plus un environnement faiblement acide tel que le yaourt que les conditions acides violentes telles que les sucs gastriques.

**Effet des bactéries sur les capsules :** cet effet se traduit par la digestion des capsules d'amidon par les bactéries encapsulées.

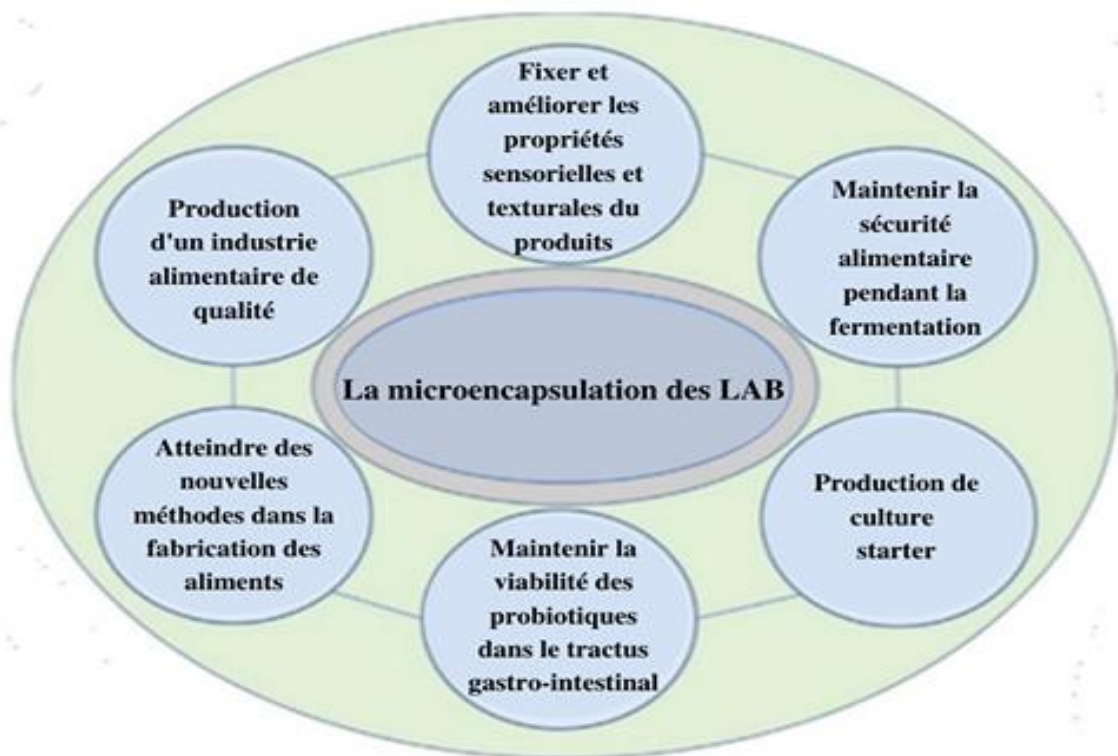


**Concentration initiale de cellules microbiennes :** lorsque la concentration de cellules microbiennes dans la solution d'encapsulation augmente, le nombre de cellules piégées dans chaque bille (charge cellulaire) augmente et, par conséquent, l'efficacité quantitative de l'encapsulation augmente. Si la charge cellulaire dépasse la limite, un ramollissement de la structure de la capsule se produit.

**Conditions des facteurs de traitement :** une attention particulière doit être portée aux facteurs de traitement au cours du processus d'encapsulation tels que la congélation, le séchage par pulvérisation, et les conditions de stockage afin d'éviter d'altérer les billes et les cellules contenues.

### II.5. Applications des probiotiques encapsulés

Les applications de l'encapsulation des probiotiques sont nombreuses notamment dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et industrielles comme il a été montré dans la **figure II. 9 (Peanparkdee *et al.*, 2016)**.



**Figure II. 9 :** Applications de la microencapsulation de LAB (**Kavitake *et al.*, 2018**).

#### II.5.1. Production de culture starter

Le maintien et la viabilité de la culture de départ dans les aliments fermentés est toujours un immense défi dans le processus industriel (**Kavitake *et al.*, 2018**). La fermentation utilisant une culture starter encapsulée offre de nombreux avantages par rapport aux cultures



traditionnelles, par exemple, une fermentation rapide, une densité cellulaire plus élevée, une tolérance accrue des cellules aux températures élevées et aux milieux toxiques et l'élimination sélective des substances hydrophobes toxiques (**De Prisco et Mauriello, 2016**).

Les cultures de départ (*Lactobacillus plantarum* et *Staphylococcus xylosus*) ont été encapsulées par une méthode d'émulsion en utilisant un mélange d'alginate-amidon pour augmenter le nombre de cellules vivantes lorsqu'elles ont été utilisées dans la production des succions traitées thermiquement. Ces derniers ont été protégés contre les conditions difficiles pendant la fermentation et le traitement thermique (**Bilenler et al., 2017**).

### II.5.2. Viabilité des probiotiques dans le tractus gastro-intestinal

Il existe plusieurs études qui confirment que la microencapsulation augmente efficacement la viabilité des probiotiques exposés aux conditions gastro-intestinales simulées (acidité gastrique, enzymes digestives et sels biliaires) (**Mortazavian et al., 2007**).

Selon **Gheisari et al. (2018)** la microencapsulation de *Lactobacillus casei* dans l'alginate de calcium, et couvert de chitosane par la technique d'extrusion a montré que le taux de survie était considérablement amélioré dans les conditions gastro-intestinales simulées.

Une autre expérience de **Gandomi et al. (2016)** a montré que l'encapsulation de *Lactobacillus rhamnosus* GG dans des billes d'alginate enrobées de chitosane et enrichie d'inuline par technique d'extrusion, induisait une augmentation de la tolérance de cette bactérie aux conditions gastro-intestinales.

**Jang et al. (2019)** ont également montré que l'encapsulation de *Lactobacillus plantarum* avec de l'acide poly- $\gamma$ -glutamique produit par *Bacillus sp.* SJ-10 par lyophilisation a amélioré la viabilité de la souche contre les conditions gastro-intestinales simulées.

**Li et al. (2016)** ont rapporté que la microencapsulation de *Lactobacillus plantarum* 299v dans de l'amidon de maïs partiellement hydrolysés par lyophilisation, augmentait leur survie aux conditions gastro-intestinales simulées.

Des expériences de **Yasmin et al. (2019)** ont montré que l'encapsulation de *Bifidobacterium longum* BL-05 dans des protéines de lactosérum et de la pectine par technique d'extrusion a augmenté sa viabilité dans les conditions gastro-intestinales simulées.

### II.5.3. Application dans les fermenteurs

Lors de la production de biomasse, la microencapsulation des probiotiques a montré les avantages suivants : augmentation de la tolérance des micro-organismes à certains facteurs tels que l'infection bactériophage, agents d'empoisonnement chimique, protection des cellules des micro-organismes contre les changements indésirables tels que des mutations génétiques. En outre, la microencapsulation facilite d'atteindre une bonne productivité dans la production de métabolites, en particulier à des taux d'agitation élevés et produisant une biomasse plus dense (Mortazavian *et al.*, 2007).

### II.5.4. Production des produits alimentaires

Les avantages de la microencapsulation des probiotiques dans les produits alimentaires peuvent être discutés en quatre points de vue : augmentation de la viabilité des probiotiques dans les produits jusqu'au moment de la consommation, mise au point de nouvelles méthodes de fabrication des aliments, fixation et amélioration des propriétés sensorielles des produits probiotiques et l'immobilisation des cellules probiotiques dans les produits (Mortazavian *et al.*, 2007 ; Zhao *et al.*, 2019).

Il a été constaté que les yaourts préparés avec *Lactobacillus acidophilus* microencapsulé par une méthode de coacervation complexe utilisant de la caséine et de la pectine suivie d'un séchage par lyophilisation ont abouti à des valeurs plus faibles de post-acidification, et les microorganismes microencapsulés ont conservé leur viabilité pendant 120 jours de stockage à 7 °C (Shoji *et al.*, 2013).

### II.5.5. Application dans certaines pathologies

En raison des conditions sévères associées au tractus gastro-intestinal, l'utilisation de probiotiques encapsulés pourrait être une alternative intéressante. Cependant, seules quelques études *in vivo* ont été menées pour tester l'effet bénéfique des probiotiques encapsulés dans diverses pathologies (Martín *et al.*, 2015).

Dwivedi *et al.* (2012) ont préparé des formulations microencapsulées de *Lactobacillus casei* NCDO 161 par gélification externe. Ils ont démontré que ces formulations étaient toxiques pour les cellules tumorales *in vitro*. Ces auteurs ont également étudié les effets des formulations microencapsulées sur la croissance tumorale *in vivo* après une injection intratumorale directe. L'étude a démontré une inhibition significative de la croissance tumorale et a suggéré le bénéfice thérapeutique potentiel de cette approche dans le traitement des tumeurs solides.

## Chapitre III: Encapsulation des bactéries lactiques probiotiques dans l'alginate de sodium et les extraits de plantes

---

### III. Microencapsulation et prébiotiques

La microencapsulation est une technique efficace pour protéger les bactéries lactiques probiotiques et pour augmenter leur viabilité dans le tractus gastro-intestinal (GIT) (Mortazavian *et al.*, 2007). Bien que l'alginate soit l'agent le plus couramment utilisé comme biopolymère pour la microencapsulation (Krasaekoopt *et al.*, 2006), certaines études indiquent que la microencapsulation utilisant uniquement de l'alginate est limitée en raison de sa faible stabilité à pH très bas provoquant ainsi la libération du matériel encapsulé (Sabnis et Malavkar, 2016). Pour résoudre ce problème, certaines études ont montré que le mélange d'alginate avec un autre biopolymère peut ajouter une valeur au probiotique lui-même dans les conditions gastro-intestinales ; ceci peut être important en particulier pour certains polymères prébiotiques (ingrédients non digestibles du tractus gastro-intestinal supérieur qui stimulent la croissance et l'activité des bactéries probiotiques dans le côlon) (Bielecka *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2005 ; Sathyabama *et al.*, 2014).

La combinaison de probiotique avec le prébiotique et leur action en synergie a donné naissance au concept "synbiotique". Ce dernier est défini comme "un composant sélectionné introduit dans le tractus gastro-intestinal devrait stimuler sélectivement la croissance et / ou activer le métabolisme d'un microbiote intestinal, conférant ainsi un effet bénéfique à la santé de l'hôte" (Sabnis et Malavkar, 2016). Récemment, le concept de prébiotique a émergé et les efforts de recherche se sont concentrés sur la recherche de prébiotiques à partir d'extraits de plantes (les légumes, les céréales, les légumineuses, les tubercules, les fruits ainsi les herbes épices (Oh *et al.*, 2016), dans lesquels on trouve : les fructanes, les amidons résistants, les bêta-glucans et les polyphénols (Soliman, 2019).

**Les fructanes** sont des polymères de fructose liés par des liaisons  $\beta$ -2,1 avec un glucose lié  $\alpha$  terminal, les chaînes longues sont l'inuline et les chaînes courtes sont les oligofructoses / fructo-oligosaccharides (FOS) (Nazzaro *et al.*, 2009 ; Wilson et Whelan, 2017). Parmi les plantes contenant de grandes quantités d'inuline on trouve le topinambour, la racine de chicorée, l'ail, la racine d'asperge, le salsifis, la racine de pissenlit, les artichauts, le poireau et les oignons (Mensink *et al.*, 2015).

**L'amidon résistant** est utilisé comme ingrédient fonctionnel, en particulier dans les aliments contenant des niveaux élevés de fibres alimentaires. Il existe de nombreuses sources alimentaires contenant des amidons résistants tels que les légumineuses, les céréales, les

## Chapitre III: Encapsulation des bactéries lactiques probiotiques dans l'alginate de sodium et les extraits de plantes

---

pommes de terre crues ainsi que les pommes de terre cuites et les bananes vertes (**Rengadu et al., 2020**).

Le **bêta-glucane** est un polysaccharide composé de monomères de D- glucose avec des liaisons bêta-glycosidiques, présents soit dans les chaînes linéaires dans les céréales, comme l'avoine et l'orge, soit dans les structures ramifiées chez les champignons, les levures et certaines bactéries. Ils ont la capacité d'améliorer le microbiote intestinal en augmentant le nombre des lactobacilles (**Carlson et al., 2017**).

Les **polyphénols** non digestibles sont capables d'agir comme prébiotiques en favorisant la colonisation des bactéries bénéfiques de l'intestin. Des fruits tels que les raisins, les pommes, les poires, les cerises et les baies contiennent jusqu'à 200 à 300 mg de polyphénols pour 100g de poids frais. Les bactéries intestinales sont capables de dégrader les polyphénols et de produire de simple métabolites phényliques (**Kawabata et al., 2019**). Les composés phénoliques présentent ainsi dans les graines de lin et l'extrait de thé vert (**Vodnar et Socaciu, 2012 ; Bustamante et al., 2015**).

Les prébiotiques extraites de ces plantes stimulent sélectivement la croissance de probiotique (*Bifidobacterium* et *Lactobacillus spp*) dans le côlon humain et à la suite de leur fermentation, des acides gras à chaîne courte (AGCC) peuvent se former, ces derniers abaissent le pH du côlon et améliorent par la suite l'absorption des ions minéraux ( $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ ) et des nutriments dans le corps hôte (**Zeaiter et al., 2019**).

L'effet de l'utilisation des matrices à base de plantes pour améliorer la survie des probiotiques pendant le passage dans le tractus gastro-intestinal a été démontré dans plusieurs études.

### III.1. Inuline

L'inuline c'est un prébiotique largement proposé en combinaison avec l'alginate pour l'encapsulation des bactéries lactiques, c'est le cas de l'étude de **Atia et al. (2016)** qui a montré l'effet de ces polysaccharides (alginate de sodium et l'inuline) sur la viabilité des bactéries probiotiques *Pediococcus acidilactici* UL5, *Lactobacillus reuteri* ATCC 53608 et *Lactobacillus salivarius* dans les conditions gastro-intestinales simulées pendant 2h.

Les probiotiques ont été encapsulées par la méthode d'extrusion avec différentes concentration d'inuline (5%, 10%, 15% et 20% p/v) et l'alginate à 2% p/v.

Une réduction du nombre des bactéries a été remarquée, cette réduction augmente en diminuant la valeur du pH et en augmentant la durée de l'exposition.

## Chapitre III: Encapsulation des bactéries lactiques probiotiques dans l'alginate de sodium et les extraits de plantes

---

Les bactéries libres ont toujours été les plus affectés par rapport aux bactéries encapsulées.

Une différence importante a été observée entre les bactéries encapsulées dans l'alginate seul et les bactéries encapsulées dans des matrices contenant l'inuline. Les mêmes résultats ont été obtenus pour les trois souches bactériennes testées.

Dans l'environnement gastrique à faible pH l'alginate rétrécit et se transforme en une matière poreuse insoluble d'acide alginique. À pH acide, la présence d'inuline diminue la porosité de la membrane de l'acide alginique, donnant ainsi une protection aux cellules encapsulées.

Des études à pH neutre ont montré que les ions  $\text{Na}^+$  disponibles dans le milieu intestinal simulé (contenant du  $\text{NaCl}$ ), peuvent échanger avec les ions  $\text{Ca}^{2+}$  dans le gel d'alginate, entraînant un gonflement de ce gel. En présence d'inuline, à faible concentration (AI5), la porosité du réseau a diminué, réduisant ainsi l'échange d'ions dans le gel. En tant que telle, une matrice de réseau à haute stabilité obtenu en cas de formule AI5. Cependant, la présence de la concentration d'inuline (AI20) peut entraîner une réduction des chaînes de nœuds qui lient l'alginate par des effets stériques, ce qui affaiblit le réseau polymère, et favorise en outre sa décompression résultant en un polymère très fragile complètement dissous dans des conditions neutres.

Donc, l'incorporation de prébiotique d'inuline en alginate peut mieux protéger les probiotiques dans la solution gastro-intestinale.

### III.2. Fructooligosaccharides

Récemment, **Azam et al. (2020)** ont utilisé l'alginate de sodium avec du fructooligosaccharide (FOS) obtenu à partir de l'écorce de banane (*Musa acuminata*) pour encapsuler la souche de *Lactobacillus rhamnosus* RHA8.

La méthode d'extrusion a été adoptée et les matrices sont utilisées à différentes combinaisons :  $M_0$  (100% ALG),  $M_1$  (75% ALG + 25% FOS),  $M_2$  (50% ALG + 50% FOS),  $M_3$  (25% ALG+ 75% FOS) et  $M_4$  (FOS 100%).

La survie de la souche a été évaluée après exposition aux conditions gastro-intestinales simulées pendant 120 min.

L'efficacité de l'encapsulation était bonne avec un taux (> 80%) avec toutes les combinaisons sauf la combinaison  $M_4$  puisque très peu de billes sont obtenues en raison de la

## **Chapitre III: Encapsulation des bactéries lactiques probiotiques dans l'alginate de sodium et les extraits de plantes**

---

solubilité du FOS dans l'eau. L'efficacité d'encapsulation maximale était avec  $M_2$ , tandis que l'efficacité minimale était avec  $M_0$ .

Les combinaisons  $M_1$  et  $M_2$  ont donné le meilleur taux de survie avec seulement 1.4 log UFC/ml perdu par rapport aux cellules libres qui ont perdu 7.5 log UFC/ml.

Cette étude donc a montré que, l'efficacité de l'encapsulation dépend des interactions entre les matériaux d'encapsulation. En plus, l'addition des fructo-oligosaccharides a contribué à améliorer la survie des probiotiques dans les conditions gastro-intestinales simulées puisque ils servent à remplir les pores qui se trouvent dans la structure des billes d'alginate.

Dans une autre étude similaire, **Rodrigues et al. (2017)** ont montré l'effet de FOS sur la viabilité de *Lactobacillus casei* LC-01 et *Lactobacillus casei* BGP 93 microencapsulées par la technique d'extrusion et exposées aux conditions gastro-intestinales. Ils ont montré que *L. casei* LC-01 et *L. casei* BGP 93 microencapsulées ont été protégées contre les conditions gastro-intestinales et que les cellules encapsulées n'ont pas perdu leur viabilité assez rapidement que les cellules libres. Cela permet de conclure que l'ajout de FOS a amélioré la survie de *L. casei* dans les conditions gastro-intestinales.

### **III.3. Amidon résistant extrait de pomme de terre, psyllium et inuline extrait de chicorée**

Différents types d'amidon, y compris des amidons modifiés, provenant de diverses sources botaniques ont été utilisés pour protéger les probiotiques. Les amidons natifs avec une petite taille de granules, comme l'amidon de riz natif contenant des niveaux élevés d'amidon lentement digestible et d'amidon résistant, sont considérés comme prébiotiques (**Peredo et al., 2016**). Le psyllium est un gel à base de plantes, cationique dans son état physiologique et considéré comme un additif d'encapsulation des probiotiques, ceci est dû aux effets bénéfiques sur les probiotiques et sur la santé humaine (**Haghshenas et al., 2015**).

Une étude de **Peredo et al. (2016)** a évalué l'effet de trois prébiotiques naturels (Amidon résistant extrait de pomme de terre (PS), psyllium (PSY) et inuline extrait de chicorée (INU)) co-encapsulés avec de l'alginate par la méthode d'émulsion, sur la viabilité de *Lactobacillus casei* Shirota (Lc) et de deux souches de *Lactobacillus plantarum* (Lp33 et Lp17) dans des conditions de tractus gastro-intestinal.

Les résultats ont montré que la survie des bactéries encapsulées dans des conditions gastriques simulées était plus élevée dans tous les cas par rapport aux bactéries non

### Chapitre III: Encapsulation des bactéries lactiques probiotiques dans l'alginate de sodium et les extraits de plantes

---

encapsulées. Les capsules produites étaient sphériques et présentaient de bonnes propriétés d'écoulement. Le rendement d'encapsulation était plus élevé lorsque le psyllium (94% pour Lp17) et l'inuline (78% dans Lp33) ont été utilisés en co-encapsulation avec l'alginate. Les bactéries co-encapsulées avec l'amidon résistant et l'inuline avaient un rendement inférieur par rapport aux bactéries co-encapsulées avec psyllium.

Les capsules de psyllium offraient la meilleure protection dans les conditions gastro-intestinales. L'utilisation de psyllium pourrait s'avérer bénéfique dans l'encapsulation des souches probiotiques puisque ce glucide n'est pas hydrolysé par les enzymes digestives humaines et peut agir comme un prébiotique.

La co-encapsulation d'alginate et de prébiotiques pourrait augmenter l'efficacité des aliments fonctionnels en exploitant les synergies entre les ingrédients prébiotiques et probiotiques. Il est rapporté que l'alginate forme une barrière hydrogel qui retarde probablement la perméabilité du liquide acide dans les cellules, protégeant les LAB pendant le transit à travers le tractus gastro-intestinal.

#### III.4. Extrait de la peau des pommes (le marc de pomme)

La transformation des aliments est associée à la production d'importants flux de déchets ou de sous-produits, car toutes les parties des plantes ne peuvent pas être consommées, comme les graines et les pelures. Ces sous-produits sont une source abondante de biopolymères, tels que les protéines et les glucides, comme les fibres alimentaires, et les composants bioactifs, tels que les caroténoïdes et les composés phénoliques, et les opportunités de récupération de composants à partir de sous-produits sont diverses avec un grand potentiel économique. Le marc de pomme dérivé de la production de cidre est de bonne alternative à utiliser comme ingrédient prébiotique pour assurer la délivrance de souches probiotiques dans le côlon dans tout le tractus gastro-intestinal (**Serrano-Casaset *al.*, 2017**).

Une étude a été menée par **Serrano-Casas *et al.* (2017)** pour étudier la viabilité des bactéries lactiques probiotiques (*Lactobacillus plantarum* UAM17, *Enterococcus faecium* UAM18, *Aerococcus viridans* UAM21b et *Pediococcus pentosaceus* UAM22a) encapsulées avec l'alginate de sodium et des coproduits agro-industriels (la farine extrait de marc de pomme) et l'inuline comme témoin dans des conditions de tractus gastro-intestinal. Les microcapsules contenant de l'inuline étaient significativement ( $P < 0,05$ ) plus résistantes aux conditions acides, comparant aux billes de farine de marc de pomme.



## Chapitre III: Encapsulation des bactéries lactiques probiotiques dans l'alginate de sodium et les extraits de plantes

---

Cette étude donc a montré l'effet de la combinaison de l'inuline et de la farine de marc de pomme sur l'amélioration de la viabilité des bactéries lactiques et ceci est dû à la teneur en glucides insolubles, ce qui augmente la taille des particules (près de 100 µm) et par la suite augmente la viabilité des bactéries.

### III.5. Mucilage de graine de lin

La graine de lin est une source de composés phénoliques bioactifs, d'acides gras polyinsaturés, de fibres alimentaires et de protéines. Le mucilage de graine de lin (FM) contient un mélange de rhamnogalacturonane I et d'arabinoxylane ; ce dernier a des propriétés prébiotiques (Bustamante *et al.*, 2015).

Shafizadeh *et al.* (2020) ont montré l'effet de l'encapsulation de *Lactobacillus casei* dans un mélange d'alginate (ALG) (1, 2 et 3%) et de mucilage de graine de lin (FM) (0 et 0,9%) sur la viabilité du probiotiques libres et encapsulés en utilisant la technique d'émulsion.

Les résultats ont montré que les microcapsules créées présentaient une morphologie sphérique avec une efficacité d'encapsulation (EE) supérieure de 95%. La survie des cellules microencapsulées dans les conditions gastro-intestinales simulées était plus élevée que les cellules libres montrant la protection offerte par le FM. Le nombre de *L. casei* libres a diminué de 5,8 cycles logarithmiques après l'exposition successive au suc gastrique et intestinal simulés dans les 2 h. Moins de réduction était observée dans les 3% ALG + 0,9% FM et 2% ALG + 0,9% FM.

Les molécules d'ALG interagissent avec l'eau et forment des hydrogels qui couvrent les probiotiques et agissent comme barrières qui leurs protègent des conditions environnementaux qui leurs entourent. Cependant, les acides et les sels biliaires sont capables de pénétrer dans ces hydrogels d'alginate et facilitent ainsi la libération de microorganismes.

L'incorporation de FM avec l'alginate, peut améliorer la stabilité des bactéries encapsulées lors du passage du tractus gastro-intestinal. Cela a été dû aux interactions électrostatiques entre ALG et FM, conduisant à la formation d'une paroi solide à la surface des microcapsules ce qui les protègent contre des conditions nocives. Par conséquent, la combinaison de FM avec ALG pourrait augmenter l'efficacité de la microencapsulation et protéger les probiotiques dans le système gastro-intestinal.



## Chapitre III: Encapsulation des bactéries lactiques probiotiques dans l'alginate de sodium et les extraits de plantes

---

### III.6. Arabinoxylane (AX) extrait de son de maïs

L'arabinoxylane est un composant de la paroi cellulaire des grains de céréales (son de maïs) et également une fibre alimentaire, et sa fermentation a non seulement produit des métabolites favorables à la santé mais a également révélé ses propriétés prébiotiques. Comparativement, les oligosaccharides d'arabinoxylane dérivés d'arabinoxylane (AXOS) se sont révélés plus efficaces pour stimuler la croissance du microbiote intestinal bénéfique et pour produire des acides gras fonctionnels à courte chaîne (**Wu et Zhang, 2018**).

Les bactéries *Lactobacillus plantarum* ont été encapsulé dans des microsphères préparées par la gélification d'alginate de sodium (SA) et de matières prébiotiques arabinoxylane (AX), et la stabilité et le taux de survie du probiotique dans des conditions gastro-intestinales simulées ont été étudiés (**Wu et Zhang, 2018**). Les résultats expérimentaux ont montré que l'alginate et l'arabinoxylane étaient physiquement intriqués l'un à l'autre dans les microsphères dans lesquelles les molécules d'arabinoxylane jouaient un rôle dominant dans l'encapsulation de probiotique. En effet, dans les conditions gastriques simulées et après 4 h d'incubation, le taux de survie gastrique était (de 51,1% à 74,0%) et la résistance aux sels biliaires (de 70,6% à 81,6%) par rapport aux microsphères formées par l'alginate tout seul.

### III.7. Poudre de citrouille

**Nguyen et al. (2020)** ont évalué l'efficacité de l'encapsulation par lyophilisation en utilisant deux matrices alginate de sodium et la poudre de citrouille sur la viabilité des bactéries probiotiques *Lactobacillus plantarum* MG989, *Lactobacillus fermentum* MG901, *Streptococcus thermophilus* MG5140, *Lactococcus lactis* MG5125 et *Enterococcus faecium* MG89-2, en comparant leur viabilité dans les conditions gastro-intestinales simulées avec celle des cellules libres non encapsulés.

Les auteurs ont trouvé que des taux de survie de 59,9%, 49,1% et 35,5% après 1, 2 et 3 h respectivement avec les cellules libres tandis que les taux de survie étaient de 77,4%, 68,5% et 57,7% avec les cellules encapsulées.

Dans les conditions intestinales simulées (0,1% de pancréatine) à pH 7, toutes les souches ont montré une réduction régulière de viabilité. Le taux de survie des cellules libres était de 94,3% après 4 h d'exposition. En revanche, les cellules enrobées de poudre de citrouille ont montré un taux de survie légèrement plus élevé (98,3%).

## Chapitre III: Encapsulation des bactéries lactiques probiotiques dans l'alginate de sodium et les extraits de plantes

---

La citrouille est un bon matériau non toxique et biocompatible, et le mélange d'alginate de sodium avec la poudre de citrouille est un matériau d'intérêt pour servir d'agent cryoprotecteur. Cependant, le mécanisme de la citrouille comme cryoprotecteur est mal connu.

### III.8. Extrait de thé vert

Les catéchines sont les principaux composés polyphénoliques du thé vert ou des extraits de thé vert. D'un point de vue microbiologique, il a été démontré que les catéchines favorisent la croissance de bactéries bénéfiques dans le tractus gastro-intestinal au cours d'études *in vivo*, mais elles possèdent également une activité antimicrobienne contre de nombreux agents pathogènes et ils ont également augmenté la survie des bactéries probiotiques dans un environnement gastro-intestinale simulé (Vodnar et Socaciu, 2012 ; Gaudreau *et al.*, 2016). L'effet protecteur de l'extrait de thé vert sur la viabilité et la stabilité de *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697 et *Bifidobacterium breve* ATCC 15700 microencapsulées dans l'alginate pendant l'exposition aux conditions gastro-intestinales simulées a été étudié par Vodnar et Socaciu (2012). Ces auteurs ont montré que la coencapsulation avec l'extrait de thé vert exerce un effet protecteur des bactéries et augmente leur viabilité lors de l'exposition aux affections gastro-intestinales.

Les bactéries *Bifidobacterium infantis* et *Bifidobacterium breve* microencapsulées avec ou sans extrait de thé vert étaient résistants aux conditions gastriques simulées. En effet, dans le cas des billes sans extrait de thé vert, le taux de survie des bactéries était inférieur par rapport aux billes contenant 5% et 10% de l'extrait après 120 min d'exposition aux conditions de tractus intestinal. Ainsi, le taux de survie a augmenté proportionnellement à la concentration de l'extrait de thé vert. Ainsi, le thé vert exerce un effet stimulant sur *Bifidobacterium infantis* et *Bifidobacterium breve*. Cependant, une baisse importante dans le nombre des bactéries libres dans les mêmes conditions testées d'où le nombre initial était 9 log UFC/ml a diminué à moins de 2,6 log UFC/ml après 120 min.

Les bactéries lactiques sont les micro-organismes probiotiques les plus couramment utilisés, ces derniers peuvent offrir des avantages pour la santé de l'hôte, y compris le maintien de l'équilibre microbien intestinal, l'amélioration du système immunitaire humain, la régulation des taux de cholestérol lipidique et sérique. En plus, ces bactéries peuvent être utilisées pour aider à la digestion du lactose, améliorer l'absorption du calcium, empêcher la croissance des microorganismes pathogènes, traiter les maladies infectieuses et prévenir divers cancers en particulier le cancer du côlon.

Même si les bienfaits des probiotiques sur la santé humaine sont bien documentés, un pourcentage élevé de ces bactéries probiotiques perdent leur viabilité lors du passage dans le tractus gastro-intestinal (effet destructif de pH acide et des enzymes lytiques principalement la pepsine et la pancréatine et aussi l'effet détergent des sels biliaires).

Pour améliorer la viabilité et la stabilité des probiotiques et la délivrance efficace des cellules à leurs sites actifs, l'encapsulation des probiotiques dans une variété de polymères comme l'alginate de sodium, la gomme gellane et la gomme de xanthane,  $\kappa$ - carraghénane semble être l'une des techniques prometteuses de protection des bactéries dans les conditions environnementales nocives.

De nombreux chercheurs ont rapporté que l'alginate de sodium a un effet protecteur significatif sur la viabilité des bactéries lactiques probiotiques. Cependant, les microcapsules d'alginate possèdent une structure poreuse rendant l'alginate sensible aux milieux acides de l'estomac conduisant à la libération des probiotique microencapsulés. Pour résoudre ce problème, certaines études ont montré que, l'incorporation des biopolymères à caractère prébiotique comme les extraits de plante avec le matériau de revêtement d'alginate peuvent mieux protéger les probiotiques dans le tractus gastro-intestinal. Ces extraits de plantes (prébiotiques) favorisent la croissance des bactéries probiotiques et leur permettent d'exercer plus efficacement leurs fonctions bénéfiques sur la santé de l'hôte.

D'après les études mentionnées, l'incorporation des extraits de plantes dans les microcapsules d'alginate de sodium (principalement l'inuline extrait de chicorée, le psyllium et le mucilage de graine de lin) a amélioré la viabilité des bactéries lactiques probiotiques avec des taux élevés dans les conditions gastro-intestinales simulées.

Cependant, ces résultats restent des travaux *in vitro* au niveau de laboratoire, donc, il est nécessaire de tester cette viabilité *in vivo* et aussi utiliser plusieurs techniques d'encapsulation pour choisir la technique la plus efficace qui donne la meilleure viabilité.

- Abbas, S., Da Wei, C., Hayat, K., & Xiaoming, Z. (2012). Ascorbic acid: microencapsulation techniques and trends-a Review. *Food Reviews International*, 28(4), 343-374.
- Afzaal, M., Saeed, F., Arshad, M. U., Nadeem, M. T., Saeed, M., & Tufail, T. (2019). The effect of encapsulation on the stability of probiotic bacteria in ice cream and simulated gastrointestinal conditions. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(4),1348-1354.
- Amine, K. M., Champagne, C. P., Salmieri, S., Britten, M., St-Gelais, D., Fustier, P., & Lacroix, M. (2014). Effect of palmitoylated alginate microencapsulation on viability of *Bifidobacterium longum* during freeze-drying. *LWT-Food Science and Technology*, 56(1), 111-117.
- Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*, 18(5), 240-251.
- Ashaolu, T. J. (2020). Immune boosting functional foods and their mechanisms: a critical evaluation of probiotics and prebiotics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 1-11.
- Atia, A., Gomaa, A., Fliss, I., Beyssac, E., Garrait, G., & Subirade, M. (2016). A prebiotic matrix for encapsulation of probiotics: physicochemical and microbiological study. *Journal of Microencapsulation*, 33(1), 89-101.
- Azam, M., Saeed, M., Pasha, I., & Shahid, M. (2020). A prebiotic-based biopolymeric encapsulation system for improved survival of *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Bioscience*, 37,100679.
- Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., & Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales ‘arabia et kabyles’. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, (23), 30-37.
- Barbut, F., & Joly, F. (2010). Le microbiote intestinal: équilibre et dysbiose. *Hépto-Gastro & Oncologie Digestive*, 17(6), 511-520.

- Beltrán, J. D., Ricaurte, L., Estrada, K. B., & Quintanilla-Carvajal, M. X. (2020).** Effect of homogenization methods on the physical stability of nutrition grade nanoliposomes used for encapsulating high oleic palm oil. *LWT- Food Science and Technology*, *118*, 108-801.
- Benoît, J.P., et Richard, J., (2000).** Microencapsulation. *Techniques de l'ingénieur, J*, 2210, 1-20.
- Bevilacqua, A., Speranza, B., Santillo, A., Albenzio, M., Gallo, M., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2019).** Alginate-microencapsulation of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum*: performances of encapsulated microorganisms and bead-validation in lamb rennet. *LWT - Food Science and Technology*, *113*, 108349.
- Bielecka, M., Biedrzycka, E., & Majkowska, A. (2002).** Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. *Food Research International*, *35*(2-3), 125-131.
- Bilenler, T., Karabulut, I., & Candogan, K. (2017).** Effects of encapsulated starter cultures on microbial and physicochemical properties of traditionally produced and heat treated sausages (sucuks). *LWT-Food Science and Technology*, *75*, 425-433.
- Britton, R. A., & Versalovic, J. (2008).** Probiotics and gastrointestinal infections. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, *2008*,2.
- 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.
- Burgain J, Scher J, Gaiani C. (2016).** Microencapsulation de bactéries probiotiques. *Technique de l'ingénieur* (pp. 1-9).
- Bustamante, M., Villarroel, M., Rubilar, M., & Shene, C. (2015).** *Lactobacillus acidophilus* La-05 encapsulated by spray drying: effect of mucilage and protein from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *LWT-Food Science and Technology*, *62*(2), 1162-1168.
- Caplice, E., & Fitzgerald, G. F. (1999).** Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*. *50*, 131–149.

- Carlson, J. L., Erickson, J. M., Hess, J. M., Gould, T. J., & Slavin, J. L. (2017). Prebiotic dietary fiber and gut health: comparing the in vitro fermentations of beta-glucan, inulin and xylooligosaccharide. *Nutrients*, 9(12), 1361.
- Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, F. C., Marzo, F., & del Carmen Villarán, M. (2010). Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1-2), 185-189.
- Chen, K. N., Chen, M. J., Liu, J. R., Lin, C. W., & Chiu, H. Y. (2005). Optimization of incorporated prebiotics as coating materials for probiotic microencapsulation. *Journal of Food Science*, 70(5), M260-M266.
- Chen, J., Wang, Q., Liu, C. M., & Gong, J. (2017). Issues deserve attention in encapsulating probiotics: critical review of existing literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1228-1238.
- Cintas L.M., Herranz C., Hernandez P.E., Casaus M.P., et Nes L.F. (2001). Review: bacteriocins of lactic acid bacteria. *Food Science and Technology International*, (7), 281-305.
- 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.
- Corr, S. C., Hill, C., & Gahan, C. G. (2009). Understanding the mechanisms by which probiotics inhibit gastrointestinal pathogens. *Advances in Food and Nutrition Research*, 56, 1-15.
- De Andrade, D. P., Ramos, C. L., Botrel, D. A., Borges, S. V., Schwan, R. F., & Ribeiro Dias, D. (2019). Stability of microencapsulated lactic acid bacteria under acidic and bile juice conditions. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(7), 2355-2362.
- De Prisco, A., & Mauriello, G. (2016). Probiotication of foods: a focus on microencapsulation tool. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 27-39.

- De Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20(4), 292-302.
- Denis, F., Cattoir, V., Martin, C., Ploy, M. C., & Poyart, C. (2016). Bactériologie médicale: techniques usuelles. Elsevier Masson (pp. 415-557).
- Dhamecha, D., Movsas, R., Sano, U., & Menon, J. U. (2019). Applications of alginate microspheres in therapeutics delivery and cell culture: past, present and future. *International Journal of Pharmaceutics*, 118627.
- Dimitrellou, D., Kandyli, P., Lević, S., Petrović, T., Ivanović, S., Nedović, V., & Kourkoutas, Y. (2019). Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 in alginate capsules for probiotic fermented milk production. *LWT-Food Science and Technology*, 116, 108-501.
- Do Carmo, M. S., itapary dos Santos, C., Araújo, M. C., Girón, J. A., Fernandes, E. S., & Monteiro-Neto, V. (2018). Probiotics, mechanisms of action, and clinical perspectives for diarrhea management in children. *Food & Function*, 9(10), 5074-5095.
- Dordević, V., Paraskevopoulou, A., Mantzouridou, F., Lalou, S., Pantić, M., Bugarski, B., & Nedović, V. (2016). Encapsulation technologies for food industry. *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food*. Springer, Cham. (pp. 329-382).
- Dos Reis, S. A., da Conceição, L. L., Siqueira, N. P., Rosa, D. D., da Silva, L. L., & Maria do Carmo, G. P. (2017). Review of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. *Nutrition Research*, 37, 1-19.
- Dwivedi, A., Nomikou, N., Nigam, P. S., & McHale, A. P. (2012). The effects of microencapsulated *Lactobacillus casei* on tumour cell growth: in vitro and in vivo studies. *International Journal of Medical Microbiology*, 302(7-8), 293-299.
- El-Abd, M. M., Abdel-Hamid, M., El-Sayed, H. S., El-Metwaly, H. A., El-Demerdash, M. E., & Mohamed, Z. F. A. (2018). Viability of microencapsulated probiotics combined with plant extracts in fermented camel milk under simulated gastrointestinal conditions. *Middle East Journal of Applied*, 8, 837-850.

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

Faure, S., Pubert, C., Rabiller, J., Tailleux, J., & Yvain, A. L. (2013). Que savons-nous des probiotiques?. *Actualités pharmaceutiques*, 52(528), 18-21.

Favaro-Trindade, C. S., & Grosso, C. R. F. (2002). Microencapsulation of *L. acidophilus* (La-05) and *B. lactis* (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile. *Journal of Microencapsulation*, 19(4), 485-494.

Gandomi, H., Abbaszadeh, S., Misaghi, A., Bokaie, S., & Noori, N. (2016). Effect of chitosan-alginate encapsulation with inulin on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG during apple juice storage and under simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 69, 365-371.

Gareau, M. G., Sherman, P. M., & Walker, W. A. (2010). Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 7(9), 503.

Gaudreau, H., Champagne, C. P., Remondetto, G. E., Gomaa, A., & Subirade, M. (2016). Co-encapsulation of *Lactobacillus helveticus* cells and green tea extract: influence on cell survival in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, 26, 451-459.

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

Georges, C., & François-Marie, L. (2008). *Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments*. Lavoisier (pp. 1-787).

Ghayempour, S., & Mortazavi, S. M. (2015). Preparation and investigation of sodium alginate nanocapsules by different microemulsification devices. *Journal of Applied Polymer Science*, 132(17).

Gheisari, H. R., Davar, M., & Shekarforoush, S. S. (2018). Stability of microencapsulated *Lactobacillus Casei* in mango fruit juice and its survival at simulated human gastro-intestinal condition. *International Journal of Pharmaceutical Research & Applied Sciences*, 7(1), 64-71.



- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7-8), 330-347.
- Gu, M., Zhang, Z., Pan, C., Goulette, T. R., Zhang, R., Hendricks, G., ... & Xiao, H. (2019). Encapsulation of *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G7 in gastroprotective microgels: improvement of the bacterial viability under simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 91, 283-289.
- Haffner, F. B., Diab, R., & Pasc, A. (2016). Encapsulation of probiotics: insights into academic and industrial approaches. *AIMS Materials Science*, 3(1), 114-136.
- Haghshenas, B., Abdullah, N., Nami, Y., Radiah, D., Rosli, R., & Yari Khosroushahi, A. (2015). Microencapsulation of probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* 15 HN using alginate-psyllium-fenugreek polymeric blends. *Journal of Applied Microbiology*, 118(4), 1048-1057.
- Hassan, S. S., Fadzil, I. N. A., Yusoff, A., & Khalil, K. A. (2020). A review on microencapsulation in improving probiotic stability for beverages application. *Science Letters*, 14(1), 49-61.
- Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., & Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 365s-373s.
- 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.
- Ishibashi, N., & Yamazaki, S. (2001). Probiotics and safety. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 465s-470s.
- Islam, M. A., Yun, C. H., Choi, Y. J., & Cho, C. S. (2010). Microencapsulation of live probiotic bacteria. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(10), 1367-1377.

- Jang, W. J., Choi, S. Y., Lee, J. M., Lee, G. H., Hasan, M. T., & Kong, I. S. (2019). Viability of *Lactobacillus plantarum* encapsulated with poly- $\gamma$ -glutamic acid produced by *Bacillus sp.* SJ-10 during freeze-drying and in an in vitro gastrointestinal model. *LWT-Food Science and Technology*, *112*, 108-222.
- Joly, F., Nuzzo, A., Kapel, N., & Thomas, M. (2017). Lien entre les probiotiques et le microbiote: vision du clinicien. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, *52*, S5-S12.
- Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, *3*(2), 39-48.
- Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P. B., & Shetty, P. H. (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods—a review. *Food Bioscience*, *21*, 34-44.
- Kawabata, K., Yoshioka, Y., & Terao, J. (2019). Role of intestinal microbiota in the bioavailability and physiological functions of dietary polyphenols. *Molecules*, *24*(2), 370.
- Khaneghah, A. M., Abhari, K., Eş, I., Soares, M. B., Oliveira, R. B., Hosseini, H., ... & Ranadheera, C. S. (2020). Interactions between probiotics and pathogenic microorganisms in hosts and foods: a review. *Trends in Food Science & Technology*, *95*, 205-218.
- Kiymaci, M. E., Altanlar, N., Gumustas, M., Ozkan, S. A., & Akin, A. (2018). Quorum sensing signals and related virulence inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by a potential probiotic strain's organic acid. *Microbial Pathogenesis*, *121*, 190-197.
- Klaenhammer, T. R., & Kullen, M. J. (1999). Selection and design of probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, *50*(1-2), 45-57.
- König, H., & Fröhlich, J. (2017). Lactic acid bacteria. In *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Springer, Cham, 3-41.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, *13*(1), 3-13.
- 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.

- Labioui, H., Elmoualdi, L., El Yachioui, M., & Ouhssine, M. (2005). Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin-Societe de Pharmacie de Bordeaux*, 144(3/4), 237-250.
- Li, H., Turner, M. S., & Dhital, S. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in porous maize starch. *LWT-Food Science and Technology*, 74, 542–549.
- Liu, H., Cui, S. W., Chen, M., Li, Y., Liang, R., Xu, F., & Zhong, F. (2019). Protective approaches and mechanisms of microencapsulation to the survival of probiotic bacteria during processing, storage and gastrointestinal digestion: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(17), 2863-2878.
- Marcial-Coba, M. S., Knøchel, S., & Nielsen, D. S. (2019). Low-moisture food matrices as probiotic carriers. *FEMS Microbiology Letters*, 366 (Supplement\_1), i49-i59.
- 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.
- Medellin-Peña, M. J., Wang, H., Johnson, R., Anand, S., & Griffiths, M. W. (2007). Probiotics affect virulence-related gene expression in *Escherichia coli* O157: H7. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(13), 4259-4267.
- Mensink, M. A., Frijlink, H. W., van der Voort Maarschalk, K., & Hinrichs, W. L. (2015). Inulin, a flexible oligosaccharide I: review of its physicochemical characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 130, 405-419.
- Mokoena, M. P. (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review. *Molecules*, 22(8), 1255.
- Mortazavian, A., Razavi, S. H., Ehsani, M. R., & Sohrabvandi, S. (2007). Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. *Iranian Journal of Biotechnology*, 5(1), 1-18.
- Naveena, B., & Nagaraju, M. (2020). Microencapsulation techniques and its application in food industry. *International Journal of Chemical Studies*, 8(1), 2560-2563.

- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., Sada, A., & Orlando, P. (2009). Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, 1(3), 319-323.
- Nazzaro, F., Orlando, P., Fratianni, F., & Coppola, R. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 182-186.
- Nguyen, T. H., Kim, Y., Kim, J. S., Jeong, Y., Park, H. M., Kim, J. W., ... & Kang, C. H. (2020). Evaluating the cryoprotective encapsulation of the lactic acid bacteria in simulated gastrointestinal conditions. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 25, 287-292.
- Oh, N. S., Lee, J. Y., Oh, S., Joung, J. Y., Kim, S. G., Shin, Y. K., ... & Kim, Y. (2016). Improved functionality of fermented milk is mediated by the synbiotic interaction between *Cudrania tricuspidata* leaf extract and *Lactobacillus gasseri* strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(13), 5919-5932.
- Ouled-Haddar, H., Sifour, M., Idoui, T., Bouridane, H., & Arida, S. (2013). Study on the use of different combined biopolymers for the microencapsulation of the probiotic bacteria *Lactobacillus curvatus* B431. *Journal of New Technology and Materials*, 277(1745), 1-6.
- Ozdal, T., Yolci-Omeroglu, P., & Tamer, E. C. (2020). Role of encapsulation in functional beverages. In *Biotechnological Progress and Beverage Consumption* (pp. 195-232). Academic Press.
- Panghal, A., Jaglan, S., Sindhu, N., Anshid, V., Charan, M. V. S., Surendran, V., & Chhikara, N. (2019). Microencapsulation for delivery of Probiotic Bacteria. In *Nanobiotechnology in Bioformulations* (pp. 135-160). Springer, Cham.
- Pavli, F., Tassou, C., Nychas, G. J. E., & Chorianopoulos, N. (2018). Probiotic incorporation in edible films and coatings: bioactive solution for functional foods. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 150.
- Peanparkdee, M., Iwamoto, S., & Yamauchi, R. (2016). Microencapsulation: a review of applications in the food and pharmaceutical industries. *Reviews in Agricultural Science*, 4, 56-65.

- Pech-Canul, A. D. L. C., Ortega, D., García-Triana, A., & González-Silva, N. (2020). A brief review of edible coating materials for the microencapsulation of probiotics. *Coatings*, *10*(3), 197.
- Peña, C., De La Caba, K. O. R. O., Eceiza, A., Ruseckaite, R., & Mondragon, I. (2010). Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tannin addition. *Bioresource Technology*, *101*(17), 6836-6842.
- Peredo, A. G., Beristain, C. I., Pascual, L. A., Azuara, E., & Jimenez, M. (2016). The effect of prebiotics on the viability of encapsulated probiotic bacteria. *LWT-Food Science and Technology*, *73*, 191-196.
- Picot, A., & Lacroix, C. (2004). Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Dairy Journal*, *14*(6), 505-515.
- Pringsulaka, O., Thongngam, N., Suwannasai, N., Atthakor, W., Pothivejkul, K., & Rangsiruji, A. (2012). Partial characterisation of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from thai fermented meat and fish products. *Food Control*, *23*(2), 547-551.
- Qi, X., Simsek, S., Ohm, J. B., Chen, B., & Rao, J. (2020). Viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG microencapsulated in alginate/chitosan hydrogel particles during storage and simulated gastrointestinal digestion: role of chitosan molecular weight. *Soft Matter*, *16*(7), 1877-1887.
- Qin, Y., Jiang, J., Zhao, L., Zhang, J., & Wang, F. (2018). Applications of alginate as a functional food ingredient. In *Biopolymers for Food Design* (pp. 409-429). Academic Press.
- Raddatz, G. C., Poletto, G., de Deus, C., Codevilla, C. F., Cichoski, A. J., Jacob-Lopes, E., ... & de Menezes, C. R. (2020). Use of prebiotic sources to increase probiotic viability in pectin microparticles obtained by emulsification/internal gelation followed by freeze-drying. *Food Research International*, *130*, 108902.
- Rane, L. R., Savadekar, N. R., Kadam, P. G., & Mhaske, S. T. (2014). Preparation and characterization of  $\kappa$ -carrageenan/nanosilica biocomposite film. *Journal of Materials*, 2014.

- Rengadu, D., Gerrano, A. S., & Mellem, J. J. (2020). Prebiotic effect of resistant starch from *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (cowpea) using an in vitro simulated digestion model. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(1), 332-339.
- Rezvankhah, A., Emam-Djomeh, Z., & Askari, G. (2020). Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: a review. *Drying Technology*, 38(1-2), 235-258.
- Ritchie, M. L., & Romanuk, T. N. (2012). A meta-analysis of probiotic efficacy for gastrointestinal diseases. *PloS one*, 7(4), e34938.
- Rodrigues, F. J., Omura, M. H., Cedran, M. F., Dekker, R. F., Barbosa-Dekker, A. M., & Garcia, S. (2017). Effect of natural polymers on the survival of *Lactobacillus casei* encapsulated in alginate microspheres. *Journal of Microencapsulation*, 34(5), 431-439.
- Rokka, S., & Rantamäki, P. (2010). Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*, 231(1), 1-12.
- Rovinaru, C., & Pasarin, D. (2019). Application of microencapsulated synbiotics in fruit-based beverages. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-10.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84(3), 197-215.
- Sabnis, S., & Malavkar, N. (2016). Development of symbiotic double microencapsulation technique for efficient delivery of probiotics. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5, 306-314.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1-17.
- Saraf, N. M., Alat, D. V., & Chakrabarti, R. (2007). Microencapsulation at an affordable price. *Colourage*, 54(9), 35-38.

- Sathyabama, S., & Vijayabharathi, R. (2014). Co-encapsulation of probiotics with prebiotics on alginate matrix and its effect on viability in simulated gastric environment. *LWT-Food Science and Technology*, 57(1), 419-425.
- Serna-Cock, L., & Vallejo-Castillo, V. (2013). Probiotic encapsulation. *African Journal of Microbiology Research*, 7(40), 4743-4753.
- Serrano-Casas, V., Pérez-Chabela, M. L., Cortés-Barberena, E., & Totosaus, A. (2017). Improvement of lactic acid bacteria viability in acid conditions employing agroindustrial co-products as prebiotic on alginate ionotropic gel matrix co-encapsulation. *Journal of Functional Foods*, 38, 293-297.
- Shafizadeh, A., Golestan, L., Ahmadi, M., Darjani, P., & Ghorbani-HasanSarai, A. (2020). Encapsulation of *Lactobacillus casei* in alginate microcapsules: improvement of the bacterial viability under simulated gastrointestinal conditions using flaxseed mucilage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-8.
- Shoji, A. S., Oliveira, A. C., Balieiro, J. C. D. C., Freitas, O. D., Thomazini, M., Heinemann, R. J. B., ... & Fávares-Trindade, C. S. (2013). Viability of *L. acidophilus* microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt. *Food and Bioproducts Processing*, 91(2), 83-88.
- Shori, A. B. (2017). Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit. *HAYATI Journal of Biosciences*, 24(1), 1-5.
- Silva, D. R., Sardi, J. D. C. O., de Souza Pitangui, N., Roque, S. M., da Silva, A. C. B., & Rosalen, P. L. (2020). Probiotics as an alternative antimicrobial therapy: current reality and future directions. *Journal of Functional Foods*, 73, 104080.
- 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, 1-21.
- Soliman, G. A. (2019). Dietary fiber, atherosclerosis, and cardiovascular disease. *Nutrients*, 11(5), 1155.

- Strompfová, V., Lauková, A., & Ouwehand, A. C. (2004). Selection of enterococci for potential canine probiotic additives. *Veterinary Microbiology*, *100*(1-2), 107-114.
- Suganya, V., & Anuradha, V. (2017). Microencapsulation and nanoencapsulation: a review. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *9*(3), 233-239.
- Sun, W., & Griffiths, M. W. (2000). Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan-xanthan beads. *International Journal of Food Microbiology*, *61*(1), 17-25.
- Sun, Z., Yu, J., Dan, T., Zhang, W., & Zhang, H. (2014). Phylogenesis and evolution of lactic acid bacteria. In *Lactic acid bacteria* (pp. 1-101). Springer, Dordrecht.
- Tan, M. X., & Danquah, M. K. (2012). Drug and protein encapsulation by emulsification: technology enhancement using foam formulations. *Chemical Engineering & Technology*, *35*(4), 618-626.
- Timilsena, Y. P., Akanbi, T. O., Khalid, N., Adhikari, B., & Barrow, C. J. (2019). Complex coacervation: principles, mechanisms and applications in microencapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, *121*, 1276-1286.
- Vodnar, D. C., & Socaciu, C. (2012). Green tea increases the survival yield of Bifidobacteria in simulated gastrointestinal environment and during refrigerated conditions. *Chemistry Central Journal*, *6*(1), 1-8.
- Wilson, B., & Whelan, K. (2017). Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, *32*, 64-68.
- Wu, Y., & Zhang, G. (2018). Synbiotic encapsulation of probiotic *Latobacillus plantarum* by alginate-arabinoxylan composite microspheres. *LWT-Food Science and Technology*, *93*, 135-141.
- Xiao, J., Zhang, Y., & Yang, Z. (2014). Lactic acid bacteria in health and disease. In *Lactic Acid Bacteria* (pp. 303-374). Springer, Dordrecht.



Yasmin, I., Saeed, M., Pasha, I., & Zia, M. A. (2019). Development of whey protein concentrate-pectin-alginate based delivery system to improve survival of *B. longum* BL-05 in simulated gastrointestinal conditions. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *11*(2), 413-426.

Zeaiter, Z., Regonesi, M. E., Cavini, S., Labra, M., Sello, G., & Di Gennaro, P. (2019). Extraction and characterization of inulin-type fructans from artichoke wastes and their effect on the growth of intestinal bacteria associated with health. *BioMed Research International*, 2019.

Zhao, Y., Liu, S., Feng, Y., & Bilal, M. (2019). Development and optimization of attapulgitic clay based microencapsulation for lactic acid bacteria by response surface methodology. *International Journal of Food Engineering*, *15*(8).

Zorriehzahra, M. J., Delshad, S. T., Adel, M., Tiwari, R., Karthik, K., Dhama, K., & Lazado, C. C. (2016). Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. *Veterinary Quarterly*, *36*(4), 228-241.

<b>Présenté par :</b> <b>Fatima zohra Slimoune</b> <b>Imen Zeghad</b> <b>Rayen Sahnoun</b>	<b>Membre de jury :</b> <b>Présidente : Dr. Amel Ait meddour</b> <b>Examinatrice : Dr. Fahima Bekka</b> <b>Encadreur : Dr. Samiya Amira</b>
---	--

**Viabilité des bactéries lactiques encapsulées avec des extraits de plantes dans les conditions gastro-intestinales simulées**

**Résumé**

Les bactéries lactiques probiotiques ont des effets bénéfiques pour la santé humaine, cependant, après leurs consommation, et à travers le tractus gastro-intestinal le nombre sera réduit et les bienfaits aussi. L'une des solutions est d'encapsuler les bactéries lactiques avec les polymères (alginate de sodium, gélatine, pectine etc) par les techniques de l'extrusion, l'émulsion, le séchage par pulvérisation etc... Ce travail vise à évaluer l'effet des extraits de plantes sur la viabilité des bactéries lactiques encapsulées avec le polymère alginate de sodium après expositions aux conditions gastro-intestinales simulées.

Les travaux réalisés ont montré que les bactéries lactiques encapsulées dans l'alginate de sodium et les extraits de plantes l'inuline, psyllium, mucilage de graine de lin et le marc de pomme ont une meilleure résistance aux conditions gastro-intestinales simulées par rapport aux bactéries lactiques encapsulées dans l'alginate de sodium seulement.

**Mots clés :** Bactéries lactiques, encapsulation, viabilité, alginate de sodium, extrait de plante, conditions gastro-intestinales.

**Abstract**

The probiotic lactic acid bacteria have different good health effect, however, after their intake, and throughout the gastrointestinal tract their number is reduced and the health effect too. Encapsulation of LAB is one of the solutions, the polymers used are sodium alginate, gelatin, pectin, etc and the techniques are extrusion, emulsion, spray drying etc... This work aimed to evaluate the effect of plant extracts on the viability of lactic acid bacteria encapsulated with the sodium alginate after their exposition to simulated gastrointestinal conditions.

The results showed that lactic acid bacteria encapsulated in sodium alginate and plant extracts inulin, psyllium, flaxseed mucilage and apple pomace have better resistance to simulated gastrointestinal conditions than lactic acid bacteria encapsulated in sodium alginate alone.

**Keywords :** Lactic acid bacteria, encapsulation, viability, sodium alginate, plant extract, gastrointestinal conditions.

**ملخص**

تمتلك بكتيريا حمض اللاكتيك البروبيوتيك تأثيرا إيجابيا على صحة الإنسان، ولكن على الرغم من ذلك فبعد الاستهلاك ومرورها عبر الجهاز الهضمي يقل عددها وكذلك فعاليتها. أحد الحلول المستخدمة هو تغليف بكتيريا حمض اللاكتيك باستعمال البوليميرات (ألجينات الصوديوم، الجيلاتين، البكتين... إلخ) وبواسطة تقنيات البثق، المستحلب، التجفيف بالرش... إلخ. يهدف هذا العمل إلى تقييم تأثير المستخلصات النباتية على حيوية بكتيريا حمض اللاكتيك المغلفة في ألجينات الصوديوم بعد التعرض لظروف الجهاز الهضمي المحاكاة.

تبين النتائج المتحصل عليها من هذه الدراسات أن بكتيريا حمض اللاكتيك المغلفة في ألجينات الصوديوم والمستخلصات النباتية أنولين، سيلليوم، هلام بذور الكتان و ثقل التفاح تمتلك قدرة مقاومة أفضل في ظروف الجهاز الهضمي المحاكاة مقارنة ببكتيريا حمض اللاكتيك المغلفة في ألجينات الصوديوم فقط.

**الكلمات المفتاحية :** بكتيريا حمض اللاكتيك، الكبسلة، حيوية، ألجينات الصوديوم، مستخلص نباتي، ظروف الجهاز الهضمي.

