

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie physico-chimique
Filière : Science Biologique
Option : Pharmacologie moléculaire



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER II

Pharmacologie moléculaire

Thème

*Activité Antioxydante de mucilages Bruts de
Cicer arietinum et Vicia faba Utilisés comme
Prébiotiques.*

Présenté par :

Khereddine Salima

Menasria- Nait Sidous Fatma

Soutenu le : **25 Mai 2015**

Devant le jury composé de :

M^r. Hamoum M

Mr. Zaidi F

M^{me}. Hassissene N

M^{elle}. Ould Saadi Lynda

MAA

Professeur

MAA

President

Encadreur

Examinatrice

Invitée

Année universitaire : 2014 / 2015

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de
Filière :
Option :



Autorisation de dépôt

L'étudiant :
est autorisé à déposer son mémoire de fin de cycle en vue de
l'obtention du diplôme de master après vérification des
corrections apportées suite aux recommandations du jury.

Thème :

.....
.....
.....
.....

Le président du jury

Le chef de département



Remerciements

*Louange à Dieu, le miséricordieux, sans Lui rien de tout
Cela n'aurait pu être.*

*Au terme de ce travail, il nous est agréable d'adresser nos
remerciements à tous ceux qui nous ont octroyé main vigoureuse pour sa
réalisation à :*

*Monsieur le professeur Zaidi. F
M^{lle} Ould Saadi. L*

*Pour le temps et l'intention qu'ils ont bien voulu consacrer au bon
déroulement de ce travail.*

M^r Hammoum. M

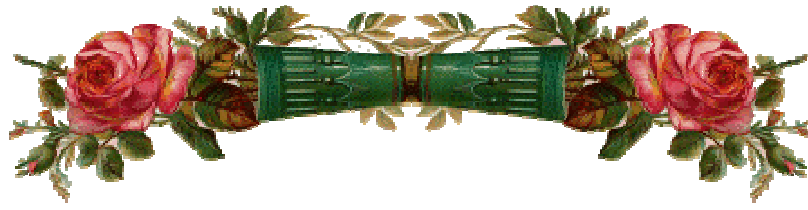
De nous avoir fait l'honneur de juger le travail et présider le jury.

M^{em} Hassissene. N

*Pour avoir acceptée de donner de son temps pour évaluer ce travail.
A toute l'équipe de laboratoire de Nutrition et Alimentation.*

*Nous tenons également à remercier toute personne ayant contribué de
prés ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*





Dédicace

Louange à dieu, le tout puissant.

En guise de reconnaissance, Je dédie ce travail

A ceux qui m'ont soutenu nuits et jours, et durant tout mon parcours

A vous très chers parents beaux parents je vous dis merci.

Mon tendre mari

A mes sœurs, mes belles sœurs, mes frères et mes beaux frères.

A mes cousins et cousines

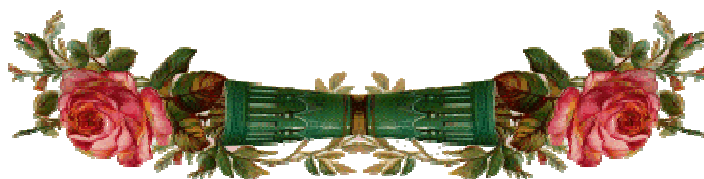
A toute ma famille

A ma binôme Salima & tout mes amis

A toutes les mains qui m'ont été tendues...

A toute la promotion Pharmacologie Moléculaire.

Fatima





Dédicace

Louange à dieu, le tout puissant.

En guise de reconnaissance, Je dédie ce travail

A ceux qui m'ont soutenu nuits et jours, et durant tout mon parcours

A vous très chers parents je vous dis merci.

A ma sœur Nadjette et mon frère Walid

A mes cousins et cousines

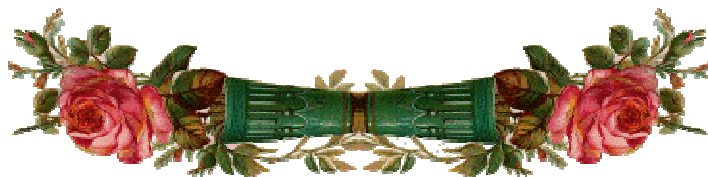
A toute ma famille

A ma binôme Fatima & tout mes amis

A toutes les mains qui m'ont été tendues...

A toute la promotion Pharmacologie.

Salima



Sommaire**Glossaire.****Liste des abréviations.****Liste des figures et des tableaux.****Introduction1****SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE*****Chapitre I : Généralités sur le Kéfir***

| | |
|--|----|
| I.1. Historique | 03 |
| I.2. Différents types de kéfir | 03 |
| I.3. Description et composition des graines de kéfir | 03 |
| I.4. les effets bénéfiques du kéfir..... | 04 |

Chapitre II : Les prébiotiques des légumineuses

| | |
|--|----|
| II.1.Définition..... | 06 |
| II.2.source de prébiotiques..... | 06 |
| II.3.les mucilages..... | 08 |
| II.4.La Composition et développement de la microflore..... | 09 |
| II.5.Effet des prébiotiques. | 10 |
| II.5.1. .Effet des prébiotiques sur la flore intestinale. | 10 |
| II.5.2. La fermentation des prébiotiques dans le colon. | 10 |
| II.5.3. Effet clinique de l'administration des prébiotiques. | 11 |
| II.5.3.1. Amélioration des maladies inflammatoires de l'intestin. | 11 |
| II.5.3.2. La réduction de la constipation..... | 11 |
| II.5.3.3.Effet sur l'obésité..... | 11 |
| II.5.3.4. Augmentation de la biodisponibilité des minéraux. | 12 |
| II.6. Les prébiotiques dans le domaine pharmaceutique. | 12 |
| II.7. Les probiotiques. | 12 |
| II.7.1. Définition..... | 12 |
| II.7.2. Types des probiotiques..... | 12 |
| II.7.3. Approche pharmacologiques des probiotiques. | 13 |
| II.7.3.1. La pharmacologie des bactéries lactique chez l'homme. | 13 |

| | |
|--|----|
| II.7.3.2. Les facteurs influençant la pharmacocinétique des probiotiques. | 13 |
| II.8. Les symbiotiques. | 13 |
| II.8.1.Définition..... | 13 |
| II.8.2.Intérêt du symbiotique. | 13 |

Chapitre III : Les radicaux libres et le stress oxydant

| | |
|---|----|
| III.1. Définition des radicaux libres. | 15 |
| III.2. Les différentes espèces radicalaires..... | 15 |
| III.2.1. Radicaux libres primaires..... | 15 |
| III.2.2. Radicaux libres secondaires. | 15 |
| III.3. Production des radicaux libres..... | 15 |
| III.4. Le stress oxydant. | 16 |
| III.5. Défense contre le stress oxydant. | 16 |
| III.5.1.Antioxydant synthétiques..... | 16 |
| III.5.2.Antioxydant naturels. | 17 |
| III.5.2.1 : Les antioxydants des légumineuses..... | 17 |
| III.5.2.1.1.Définition..... | 17 |
| III.5.2.1.2.Les composés phénoliques. | 17 |
| III.5.2.1.3.Les acides phénoliques. | 17 |
| III.5.2.1.4.Les flavonoïdes. | 18 |
| III.5.2.1.5.Les tannins..... | 19 |
| III.5.2.1.5.1. Tannins hydrolysables..... | 19 |
| III.5.2.1.5.2. Tannins condensés. | 19 |
| III.6. propriétés biologiques des composés phénoliques..... | 20 |

PARTIE PRATIQUE

IV. Matériel et méthodes

| | |
|--|-----------|
| IV.1. Matériel végétal..... | 21 |
| IV.1.1. Origine et provenance des Graines..... | 21 |
| IV.1. 2. Classification botanique des graines..... | 21 |
| IV.2. Préparation des échantillons..... | 21 |
| IV.3. Extraction des mucilages bruts..... | 22 |
| IV.4. Dosage des composés phénoliques..... | 22 |
| IV.4.1.Dosage des polyphénols totaux..... | 22 |

| | |
|--|-----------|
| IV.4.2. Dosage des flavonoïdes..... | 23 |
| IV.4.3. Dosage des flavonols..... | 23 |
| IV.5. Activité antioxydante..... | 24 |
| IV.5.1. Pouvoir réducteur..... | 24 |
| IV.5.2. Activité anti-radicalaire en utilisant le DPPH..... | 24 |
| IV.6. Préparation du kéfir..... | 25 |
| IV.6.1. Analyses physico-chimiques..... | 26 |
| IV.6.1.1 Mesure du pH..... | 26 |
| IV.6.1.2. Mesure de l'acidité..... | 26 |
| IV.6.2. Analyses microbiologiques..... | 27 |
| IV.7. Analyse statistique..... | 27 |
| <i>V. Résultats et discussion</i> | |
| V.1. Dosage des composés phénoliques..... | 28 |
| V.1.1. Les polyphénols totaux soluble..... | 28 |
| V.1.2. les flavonoïdes..... | 28 |
| V.1.3. Les flavonols..... | 29 |
| V.2. Activité Antioxydante..... | 30 |
| V.2.1. L'activité anti-radicalaire du DPPH..... | 30 |
| V.2.2. Le pouvoir réducteur..... | 31 |
| V.2.3. Discussion générale..... | 32 |
| V.2.4. Corrélation entre les composés phénoliques et l'activité antioxydante..... | 33 |
| V.2.4.1. Polyphénols, flavonoïdes et flavonols..... | 33 |
| V.2.4.2. Relation entre l'activité antioxydante et les teneurs en antioxydant..... | 34 |
| V.3. Analyse physico-chimique..... | 34 |
| V.3.1. Evolution du pH | 34 |
| V.3.2. Evolution de l'acidité titrable | 35 |
| V.4. Analyse microbiologie..... | 36 |
| V.4.1. Croissance et viabilité des souches..... | 36 |
| V.4.2. Discussion générale | 37 |
| V.4.3. Corrélations entre les différents paramètres des kéfirs..... | 39 |
| Conclusion..... | 41 |

Référence bibliographiques

Annexe

Liste des abréviations

$O_2^{\bullet -}$: l'anion supéroxyde

OH^{\bullet} : radical hydroxyle

NO^{\bullet} : monoxyde d'azote

ERO : espèce réactive oxygénée

RE : réticulum endoplasmique

XO : xanthine oxydase

P-450 : cytochrome P-450

AOX : antioxydants

BHA : butylhydroxyanisole

BHT : butylhydroxytoluène

PG : gallate propylée

TBHQ : tétra-butylhydroquinone

FOS : Les fructo-oligosaccharides

GOS : Gluco-oligosaccharides

LDL : Lipoprotéines de basse densité (mauvais cholestérol)

HDL: Lipoprotéines de haute densité (bon cholestérol)

ANOVA : Analyse de la variance

Kcal : Kilocalories

EC : ester cellulosique

H : heure

TTA : L'acidité titrable

EAA : équivalent d'acide ascorbique

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau I : Teneurs en quelques éléments des graines de kéfir | 04 |
| Tableau II : Quelques effets bénéfiques du Kéfir | 05 |
| Tableau III : Potentiel Prébiotique de quelques légumineuses..... | 07 |
| Tableau IV : Exemple d'études sur l'efficacité des symbiotiques | 14 |
| Tableau V : Teneurs en flavonoïdes dans les légumineuses sèches cuites..... | 18 |
| Tableau VI : Propriétés biologiques des composés phénoliques..... | 20 |
| Tableau VII : Classification systématique de <i>Cicer arietinum</i> et <i>Vicia faba L.</i> | 21 |
| Tableau VIII : les différentes formulations des kéfirs et leur codage..... | 26 |
| Tableau IX : Coefficients de corrélations entre les Polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, Flavonols et entre l'activité antioxydante et les teneurs en antioxydants..... | 34 |
| Tableau X . Les coefficients de corrélation pour le nombre de colonies (UFC), l'acidité titrable (TTA) et le pH..... | 40 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure1: les grains du kéfir | 03 |
| Figure 02: Structure de l'inuline..... | 07 |
| Figure 03 : Structure de galacto-oligosaccharides (GOS) de type- β 1,4..... | 08 |
| Figure 4 : Composition bactérienne quantitative et qualitative en Fonction de la Région du tube Digestif..... | 09 |
| Figure 5 : Interaction microbiote et probiotique avec l'hôte | 10 |
| Figure 6 : la fermentation des prébiotiques dans le colon..... | 11 |
| Figure 7 : Sources extra- et intracellulaires des espèces réactives de l'oxygène..... | 16 |
| Figure 8: Structure des acides hydroxybenzoïques et hydrocinnamiques..... | 18 |
| Figure 9 : Structure de base des flavonoïdes..... | 18 |
| Figure 10 : Structure d'un tannin hydrolysable : pentagalloylglucose..... | 19 |
| Figure 11 : Structure générale d'un tannin condensé..... | 19 |
| Figure 12 : Mécanisme de la réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes..... | 23 |
| Figure 13 : Mécanisme réactionnel de la réduction du radical DPPH..... | 25 |
| Figure 14 : composés phénolique de mucilage brut | 28 |
| Figure 15 : la teneur en flavonoïdes | 29 |
| Figure 16 : Teneur en flavonol..... | 30 |
| Figure 17 : Activité anti-radicalaire de DPPH | 31 |
| Figure 18 : Pouvoir réducteur..... | 31 |
| Figure 19: Evolution du PH..... | 35 |
| Figure 20: Evolution de l'acidité titrable..... | 35 |
| Figure 21: Evolution des Colonies | 37 |

Glossaire

Agents gélifiants : Les texturants et gélifiants sont des substances qui permettent de donner aux aliments la consistance d'un gel.

Acide folique : vitamine du groupe B intervenant dans la synthèse de l'ADN et la formation des globules rouges

Acides gras : Un acide gras est une famille de molécules lipidiques, Leur utilisation et l'assimilation par l'organisme ne peut se produire qu'en présence et en synergie avec des nutriments tels que minéraux, oligoéléments, vitamines, enzymes.

Azoxymethane cancérigène : un composé chimique cancérigène et neurotoxique utilisé dans la recherche biologique. Il est l'oxyde d'azomethane et est particulièrement efficace pour l'induction d'un carcinome du côlon.

Acide biliaire : sont formés par des dérivés du cholestérol et par des stéroïdes acides sécrétés par le foie et se trouvant principalement dans la bile de mammifères.

Anion superoxyde : Des sels de l'ion superoxyde tels que le superoxyde de potassium (KO_2) se forment naturellement par réaction directe du dioxygène avec certains métaux.

Albumine : protéine simple, principalement composée de carbone et d'hydrogène, présente dans de nombreux aliments et qui se fixe dans le plasma sanguin et les muscles

Acide urique : composé azoté, incolore et inodore, produit à partir de la dégradation des protéines et évacué hors de l'organisme dans l'urine.

Acide ascorbique : protéine présente dans de nombreux tissus organiques qui joue un rôle essentiel dans la formation des os et des dents.

Acide benzoïque : utilisé comme conservateur alimentaire et est naturellement présent dans certaines plantes.

Acide cinnamique : se présente sous la forme d'une poudre blanche inodore, avec une faible solubilité dans l'eau.

Acide gallique : se présente sous la forme d'une poudre cristalline blanche ou jaune pâle, inodore, de saveur astringente et acide. Il est soluble dans le méthanol, l'éthanol, l'eau et l'acétate d'éthyle

Antipyrétiques : réduisant la fièvre, typiquement par action directe sur les mécanismes de contrôle de la température du cerveau.

Anti tumorales : substances ou produits qui permettent de lutter contre les tumeurs.

Activité chélatrice des métaux : est un processus physico-chimique au cours duquel est formé un complexe, le chélate, entre un ligand, dit chélateur (ou chélatant), et un cation (ou atome) métallique, alors complexé, dit chélaté.

Agrégation plaquettaire : phénomène consécutif à l'adhésion des plaquettes entre elles et au collagène (protéine du tissu conjonctif), sous l'effet de l'adénosine diphosphate (A.D.P.) que celles-ci libèrent.

Anti-thrombotique : s'opposant à la thrombose.

Bêta carotène : utilisé comme additif alimentaire.

Bactéries anaérobiques : bactéries qui se développent en absence d'oxygène.

Bactéries pionnières : sont les premières à coloniser un milieu dépourvu de vie, possiblement après qu'il a subi une perturbation.

Bifidobactéries : appartiennent à la famille des bactéries lactiques. Elles participent à la fermentation du lait dans le cadre de la fabrication de fromages et de préparations similaires aux yaourts. Produisant de grandes quantités d'acide lactique, ce qui entraîne une baisse du pH qui leur est favorable et qui inhiberait la croissance d'autres germes.

Biotine (B8) : coenzyme qui participe au métabolisme des acides gras, des glucides et des acides aminés, ainsi qu'à la biosynthèse des vitamines B₉ et B₁₂.

BALB/c : albinos, sont des souris distribuées à l'échelle mondiale, et sont parmi les souches consanguines les plus largement utilisés en expérimentation animale.

Catéchine : puissant antioxydant qui aide à prévenir les maladies inflammatoires et coronariennes.

Cytokines : ont des substances solubles de signalisation cellulaire synthétisées par les cellules du système immunitaire, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction.

Cholestérol : substance grasse contenue dans les liquides et les cellules de l'organisme, provenant des aliments ou fabriquée par l'organisme lui-même

Cancer : maladie caractérisée par la prolifération anarchique de cellules malignes qui essaient et détruisent de proche en proche les tissus sains.

Cellules épithéliales : sont dans les épithéliums. Les épithéliums constituent un tissu. ce sont des organes qui ont un épithélium: la peau, les muqueuses de l'estomac, de l'intestin.

Caséines : substance constituée des protéines du lait, qui est le composant essentiel des fromages.

Diététique : est la science de l'alimentation équilibrée.

Disaccharides : est l'hydrate de carbone qui est formé lorsque deux monosaccharides (sucres simples) sont soumis à une réaction de condensation qui implique l'élimination d'une petite molécule, tel que l'eau.

Digestible : s'assimiler avec facilité par voie digestive.

Enrobées : recouvrir d'une couche protectrice un produit destiné à la consommation.

Epaississants : substance qui rend plus dense ou plus compact.

Fibres : substance résiduelle de l'alimentation humaine provenant de la paroi cellulaire des végétaux.

Fermentation : modification chimique (de substances organiques) sous l'action d'enzymes.

Fermention : modification chimique d'une substance organique sous l'action d'enzymes.

Gélifiants : substance qui permet à une préparation liquide de se solidifier et de se transformer en gel.

Glycogène : substance glucidique stockée dans certains tissus ou elle constitue une forme de réserve pour l'organisme humain ou animal.

Hypoxie : diminution de la concentration d'oxygène dans le sang.

Hydrolysé : provoqué par fixation de l'eau la décomposition d'une ou plusieurs substances.

Intestin grêle : partie du tube digestif située entre le duodénum et le caecum.

Implantation : introduction chirurgicale d'un implant dans l'organisme.

Lipoprotéines : Edifice moléculaire associant des lipides et des protéines

Légumineuses : plante dicotylédone dans le fruit est une gousse.

Œstrogènes : hormone fabriquée par l'ovaire, responsable des caractéristiques féminines et notamment des fonctions de reproduction.

Oligoéléments : métal ou métalloïde nécessaire à certains processus chimiques chez les organismes ou il est présent en quantité infime.

Prostaglandines : substance hormonale dérivée d'acide gras, naturellement présente dans la plupart des organes et tissus des mammifères.

Pochettes : une inflammation de l'intestin chez les personnes ayant subi une ablation chirurgicale du côlon et du rectum.

Pathogène : organisme étranger capable de provoquer une maladie.

Putréfaction : décomposition d'une matière organique.

Prophylactique : qui est destiné à empêcher l'apparition, le développement d'une maladie.

Prolifération : augmentation en nombre, rapide et importante (de personne et de choses).

Sélectif : qui s'effectue selon critères ou qui résulte d'un choix effectué selon certains critères.

Systémiques : qui touchent l'organisme dans son ensemble.

Symbiose : association de plusieurs organismes vivants qui s'apportent un bénéfice mutuel.

Translucide : qui laisse passer les rayonnements lumineux sans permettre de distinguer nettement les objets.

Tumeurs : structure anormale apparaissant dans le corps, formée d'une multiplication anarchique et pathologique non inflammatoire de cellules, insensible aux contrôles de l'organisme et ressemblant au tissu normal dont elle dérive.

Tissu adipeux : tissu conjonctif riche en cellules capable de stocker des lipides.

Villosité : excroissance filiforme (à la surface d'une muqueuse ou d'une séreuse) à l'aspect velu.

vitamine K : composé organique liposoluble indispensable aux mécanismes de coagulation du sang.

Visqueux : propre aux fluides qui opposent une résistance à leur écoulement.

Introduction

Selon **Tannock 2002**, La notion de probiotiques trouve son origine dans les travaux de Metchnikoff(**1907**), microbiologiste et Prix Nobel de Médecine au début du 20ème siècle., les probiotiques sont d'un intérêt pour le développement des produits alimentaires fonctionnels avec des effets bénéfiques sur la santé des personnes par la production des acides gras à chaîne courte et amélioration de l'équilibre microbien intestinal, et l'inhibition des bactéries pathogènes.

Un probiotique peut être associé à un substrat, qui lui est spécifique, appartenant à la classe des prébiotiques. Le mélange ainsi constitué est alors appelé symbiotique (**Gibson, 1995**).

Le Docteur Jones, professeur en diététique et nutrition à l'Université McGill de Montréal (Canada) avait cité le kéfir comme exemple d'aliment fonctionnel de type probiotique (**Jones, 2002**). Le kéfir est une boisson de lait ou de fruit fermentée dont l'originalité est l'utilisation d'un ferment particulier : le grain de kéfir(**Rollan S, 1988**). Ce ferment est formé par une symbiose de levures et de bactéries enduites dans une matrice de polysaccharides produite naturellement.

Les polysaccharides qui sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble se retrouvent dans toutes les plantes. Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages «visqueux» et les gommes, présents dans les racines, les feuilles et les graines (**Iserin, 2001**).

Les légumineuses, y compris le pois chiche (*Cicer arietinum*), féveroles (*Vicia faba*), sont de bonnes sources de nutriments ayant un potentiel bénéfique pour la santé. Ils contiennent des glucides complexes (fibres, amidon et oligosaccharides résistants), protéines, vitamines et minéraux (l'acide folique et le fer) ainsi que des antioxydants importants, et des quantités minimales de graisses insaturées. Les légumineuses pourraient donc constituer une très bonne source de facteurs de croissance et de composants prébiotiques pour les produits laitiers et autres aliments contenant des probiotiques(**Miller et al., 2000**), offrant la possibilité d'améliorer la formulation des laits fermentés d'un point de vue nutritionnel ainsi qu'une perspective d'amélioration de la croissance bactérienne.

L'oxydation constitue l'un des paramètres majeurs à l'origine de l'altération des produits alimentaires et cosmétiques (**Ribeiro et al., 2001 ; Marongiu et al., 2004**). Les industries agro-alimentaires sont actuellement à la recherche d'extraits végétaux à fort pouvoir antioxydant en vue d'élaborer de nouveaux produits naturels, obtenus à partir des végétaux qui peuvent ainsi

être avantageusement substitués aux différents antioxydants de synthèse. Les polyphénols, molécules bioactives, avec leurs différentes structures ont eu un regain d'intérêt dans le domaine de la nutrition et de la pharmacologie (**Martha, 2008**).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante ainsi que le potentiel Prébiotique des mucilages de féverole (*Vicia faba L.*) et du pois chiche (*Cicer arietinum*) en utilisant le kéfir comme modèle fermentaire avec un suivi de la viabilité microbienne, pH et acidité titrable pendant les 28 jours du stockage à froid.

I. Généralités sur le kéfir

I.1. Historique

Le mot kéfir est dérivé du mot turc « Keyif », qui signifie ” se sentir bien ” après son ingestion La boisson de kéfir, originaire des montagnes du Caucase, est un produit traditionnel très consommé en Europe de l’Est, en Russie et l’Asie du Sud Ouest (**Chaitow et Trenev, 2002**).

Selon une légende « le Prophète Mahomet » aurait offert les grains de kéfir aux membres des tribus du Caucase. Ce qui expliquerait pourquoi les grains de kéfir ont Été souvent appelés les « grains du Prophète » (**Häfliger et al., 1991**).

Actuellement, une augmentation de la consommation de kéfir dans de nombreux pays a été signalée, en raison de ses propriétés sensorielles uniques et de sa longue histoire, associées à ses effets bénéfiques sur la santé humaine (**Otles et Cagindi , 2003 ; Farnworth , 2005**).

I-2. Différents types de kéfir

Dans beaucoup de pays, des produits kéfir-connexes sont également fabriqués (**Kurmann et al., 1992**). Exemples : Kéfir lyophilisé fait à partir du lait concentré (solides totaux de 360 g/kg) et fermenté en utilisant les grains traditionnels, kéfir de babeurre, un produit traditionnel fait à partir du lait écrémé.

I.3. Description et composition des graines de kéfir

Les grains de kéfir sont de couleur blanche presque translucide de forme irrégulière (**Figure 1**), mesurant entre 3 et 8 mm. Rassemblés, ils se comparent souvent à un petit bouquet de chou-fleur.



Figure1: les grains du kéfir (Semih et al., 2003).

A la base, le kéfir est obtenu par la fermentation des grains de kéfir (**Libudzisz et Piatkiewicz, 1990**) . Ces grains sont constitués essentiellement, d’un mélange symbiotique de levures, de bactéries enrobées de polysaccharides (amidon) nommées *kefiran*. de protéines,

de minéraux et de vitamines de caséines et de colonies gélatineuses de microorganismes qui croissent en symbiose (**Hosono et al., 1990**). La teneur de certains éléments des graines de kéfir est représentée dans le **tableau I**.

Tableau I : Teneurs de certains éléments des graines de kéfir (Renner et al., 1986).

| Les composants | 100g |
|----------------|-----------------|
| Energie | 65 kcals |
| Lipides (%) | 3.5 |
| Protéines (%) | 3.3 |
| Minéraux (g) | 12.52 |
| Vitamines (mg) | 2.12 |

Environ 20 souches de bactéries ont été identifiées dans les grains de kéfir; incluant: *Lactobacillus brevis Lb*, *kéfir Lb*, *kefiranofaciens*, *Lactococcus lactis*, et *Leuconostoc spp.* Différents types de levures sont aussi trouvées dans les grains de kéfir (telles que: *kefir candida*, *Kluveromyces marxianus* et *Saccharomyces cerevisiae*).

Les interactions des différents éléments composant le kéfir sont complexes et ne sont pas encore totalement identifiées par les microbiologistes qui s'y intéressent. Cependant, tous reconnaissent l'évident pouvoir probiotique du kéfir ainsi que ses multiples bienfaits sur la santé (**Hallé et al., 1994**).

I.4. les effets bénéfiques du kéfir

Les Russes pensent que la consommation régulière du kéfir améliore l'état général de la santé ; il est d'ailleurs proposé aux patients séjournant dans les hôpitaux, pour les aider à combattre les infections et les maladies (**Hosono et al., 1990**).

La plupart des recherches portant sur les effets de kéfir a été réalisée avec le grain ou le kéfiran polysaccharide. L'idée initiale sur l'intérêt du kéfir est venue du célèbre scientifique russe, professeur Mechinkov (**Fuller, 1989**) qui a montré que les peuples du Caucase qui buvaient régulièrement le kéfir ont une grande longévité. Les effets bénéfiques du kéfir sont résumés dans le **tableau II**.

L'origine des propriétés du kéfir ayant des bienfaits sur la santé n'est pas claire. Les bénéfices pour la santé sont-ils dus à une seule bactérie ou levure présente dans les grains ou dus à la présence de polysaccharides ? Le kéfiran, un polysaccharide visqueux, est uniquement trouvé dans le kéfir et certains chercheurs pensent que le kéfiran est l'ingrédient actif du kéfir.

Tableau II : Quelques effets bénéfiques du Kéfir

| Effets | Mécanisme | Références |
|--|---|---|
| La réduction du processus inflammatoire | Une étude réalisée sur des rats présentant un œdème inflammatoire a montré que le kéfir présente une inhibition de 43% du processus inflammatoire et une diminution de l'œdème dans 62% des cas après 1 heure d'administration du kéfir. | Diniz et al., (2003) |
| Intolérance au lactose | La capacité du kéfir à améliorer la digestion a été démontrée chez les sujets adultes après administration de 20g de lactose et une quantité du kéfir ; ce dernier contient une souche de bactéries probiotiques qui contribue à la décomposition du lactose présent dans le lait. | Steven et al., (2003). |
| Activité anticancéreuse | Le travail expérimental réalisé aux laboratoires de Charles River (Montréal, Que., Canada), avec des souris de BALB/c a montré que la consommation de kéfir exerce un effet sur le système immunitaire en diminuant la croissance de certaines tumeurs et en empêchant donc certains types de cancer. | Moreno et al., (2006) |
| Formation des villosités | Le kéfir et les produits kéfirs jouent un rôle modulateur dans la formation des villosités et dans le mécanisme de communication croisée entre les bactéries symbiotiques et les cellules épithéliales. Ils régénèrent rapidement la muqueuse intestinale sans laisser de dommages importants grâce à son potentiel antioxydant. | (Goldman, 2000) (Cebra JJ, 1999) Fotouhinia M et al., (2001) |
| Réduction de taux de cholestérol | Ninane (2008) a démontré que le kéfir a tendance à réduire le taux de cholestérol sanguin des hamsters nourris avec une alimentation enrichie en cholestérol | Veronique ninane et al., (2008) |
| Amélioration de la santé du système digestif | Les résultats d'une étude <i>in vitro</i> effectuée sur des rats femelles alimentés avec un régime contenant du kéfir pendant 22 jours démontrent un effet bénéfique sur la digestion des protéines et une réduction de l'indice glycémique. Les agents Probiotiques peuvent influencer la physiologie intestinale directement ou indirectement par la modulation du microbiote endogène ou du système immunitaire intestinal. | Elena et al., (2007) |
| Apport en vitamines | Le kéfir contient des vitamines, des minéraux et des acides aminés essentiels qui contribuent au bon fonctionnement du corps. Le kéfir est riche en vitamine B1, B12, calcium, acides aminés, acide folique et vitamine K. est une bonne source de biotine (B8). | Semih et al., (2003). |

II. Les prébiotiques des légumineuses

II.1. Définition

Le terme de prébiotiques a été récemment introduit par **Gibson et Roberfroid en 1995** Il désigne un ingrédient alimentaire non digestible par l'hôte ; mais stimulant sélectivement la croissance et / ou l'activité de certaines bactéries du côlon comme par exemple les bifidobactéries.

La consommation de prébiotiques permet de rééquilibrer la flore intestinale en favorisant la croissance optimale et la prolifération des bonnes bactéries au détriment des mauvaises (**Fuller R, 1989**).

Les prébiotiques doivent agir comme substrat sélectif d'une ou d'un nombre restreint de souches bactériennes bénéfiques qui résident dans le côlon et en stimuler la croissance. Les bifidobactéries (**Bouhniket al., 1997**), et les lactobacilles sont les microorganismes du microbiote intestinal (flore intestinale) les plus fréquemment ciblés.

Pour être considéré comme prébiotiques, un ingrédient alimentaire doit répondre à ces caractéristiques :

- a- être ni hydrolysé ni absorbé dans le tractus gastro-intestinal ; (**Gibson et al., 2004**)
- b- être sélectif pour un nombre limité de bactéries endogènes ;
- c- modifier la microflore intestinale en améliorant sa composition ;
- d- induire des effets intestinaux ou systémiques bénéfiques pour la santé de l'hôte (**Collins et Gibson, 1999**).

II.2. Source de prébiotiques

Les prébiotiques peuvent se retrouver (**Tableau III**), naturellement dans les légumineuses (Fève, Fèverole, Lentille, Pois, Blé, Pois chiche) dans les fruits et les légumes. Ils représentent environ 2% de leur poids.

D'autres sont produits industriellement par hydrolyse des polysaccharides (par exemple des fructo-oligosides ou oligofructoses) ou synthétisés **Tableau I (Annexe 1)** en soumettant des disaccharides tels que le lactose à l'action d'enzymes comme les lactases avec des activités transférases pour produire des trans-galacto-oligosaccharides ou par une réaction chimique

d'isomérisation qui donne le lactulose. Actuellement, les trans-galactooligosaccharides et les fructanes de type inuline sont ceux dont les effets prébiotiques sont reconnus.

Tableau III : Potentiel prébiotique de quelques légumineuses (Roudaut et lefrancq, 2005; Vierling, 2008).

| Composant Légumineuse | Glucides (%) | Amidon (%) | Fibres (%) | Cellulose (%) | Minéraux (%) |
|-----------------------|--------------|------------|------------|---------------|--------------|
| Fève | 60,20 | 60 | 8 | 7,80 | 2,5 |
| Fèverole | 50 | 43 | 12 | 9 | 4 |
| Lentille | 60,80 | 42-50 | 10-12 | 3,10 | 3 |
| Pois | 60,10 | 46-48 | 12-16 | 2,7 | 6 |
| Blé | 68 | 70 | 8-10 | 2,50 | 2 |
| Pois chiche | 44.3 | 41.89 | 15.5 | – | – |

➤ L'inuline

L'inuline est un mélange de sucres (**figure 2**) (un polymère de fructose). Elle est fabriquée par les plantes riches en fibres alimentaires. Elle est généralement stockée dans les racines de chicorées. Cependant elle n'est pas digérée mais dégradée par la flore colique. (**Adrian et al., 2003**).

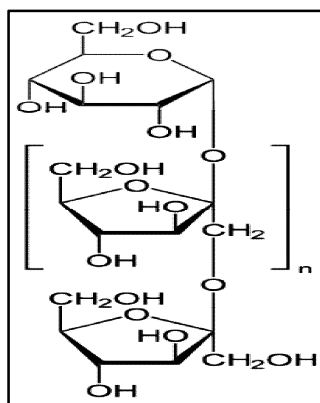


Figure 02: Structure de l'inuline (Sakoet al., 2011).

➤ Les fructo-oligosaccharides (FOS)

Les FOS Actilight et FOS Raftilose appartiennent à la famille des fructanes. Ce sont des polymères de fructose de longueur variable qui peuvent être dérivés de simples polymères de fructose ou d'éléments de fructose attachés à une molécule de saccharose par liaison β -(2→1) (Grizard et Barthomeuf, 1999; Bornet, 2001).

➤ Gluco-oligosaccharides GOS

Les GOS α -1,2/ α -1,6/ α -1,4 appartiennent à la famille des glucanes. Ces derniers sont des polymères de glucose (Figure 03) liés par différents types de liaisons (α ou β ;1→4, 1→6, 1→2 ou 1→3). Ils peuvent se trouver à l'état naturel sous forme par exemple d'amidon ou de glycogène jouant un rôle de réserve glucidique. (Rousseau, 2004).

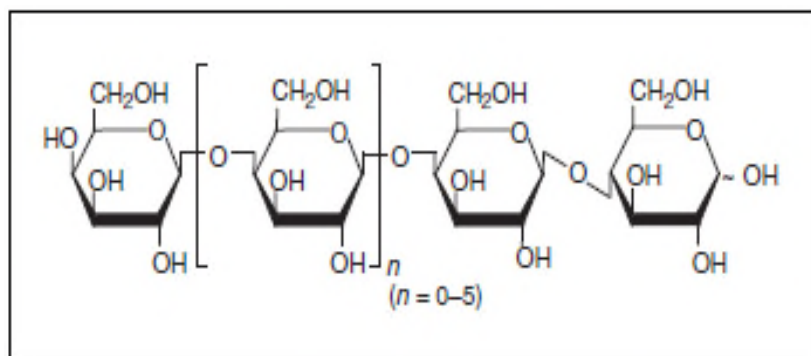


Figure 03 : Structure de galacto-oligosaccharides (GOS) de type- β 1,4 (Sakoet *al.*, 2011).

II.3. Les mucilages

Le mucilage est considéré comme un groupe d'hydrocolloïdes composés principalement de polysaccharides et de protéines qui interagissent fortement avec l'eau (Malviya, Srivastava, et Kulkarni, 2011).

La composition des mucilages varie d'une plante à une autre ; ils sont généralement composés de monosaccharides et de polysaccharides pouvant être utilisés comme source de carbone par diverses bactéries tel que le rhizobium des légumineuses, pseudomonas Sp (Sun et al, 2015).

Le mucilage est généralement localisé dans la paroi secondaire des couches externes des graines (Daum et al., 2003). Il est facilement extrait par trempage dans l'eau. Il représente environ 8% du poids totale de la graine, plusieurs études ont démontré que le rendement

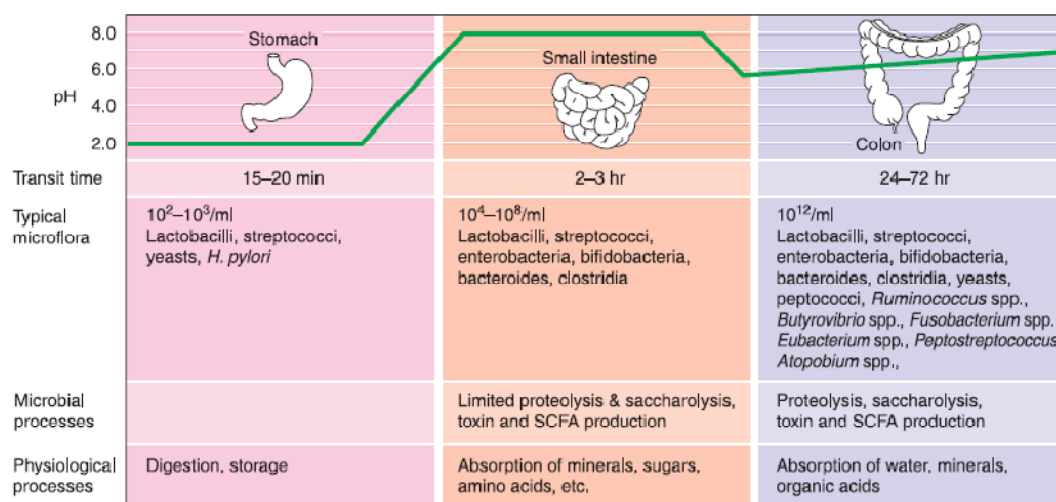
d'extraction, la teneur en protéines ainsi que les propriétés physico chimiques dépendent à la fois de la procédure d'extraction et de la matière première (Barbary et al., 2009)

Les mucilages peuvent être employés dans les préparations d'aliments, produits pharmaceutiques et cosmétiques pour plusieurs applications telles que des modificateurs de texture, épaississants, gélifiants, et agent de liaison (Deore et Khadabadi, 2008 ; Koochekiet al., 2009 ; Lai et Liang, 2012).

II.4. La Composition et développement de la microflore

La colonisation de l'appareil gastro-intestinal des nouveau-nés commence immédiatement après la naissance et se produit dans les quelques jours suivant la naissance (Guarner, 2003). L'intestin grêle et le gros intestin contiennent un écosystème microbien complexe et dynamique avec de fortes concentrations de bactéries vivantes : jusqu'à 10^{11} ou 10^{12} CFU /g (Simon, 1984).

Les bactéries pionnières peuvent moduler l'expression des gènes des cellules épithéliales de l'hôte, créant de ce fait un habitat favorable pour elles-mêmes et peuvent empêcher la croissance d'autres bactéries introduites plus tard dans l'écosystème (Ducluzeau, 1993). La colonisation initiale est donc très déterminante dans la composition finale de la microflore permanente des adultes.



Bacterial and physicochemical interactions in different areas of the human gut.

Figure 4 : Composition bactérienne quantitative et qualitative en fonction de la région du tube digestif (Gibson et Rastall, 2004).

II.5. Effets des prébiotiques

II.5.1. Effets de prébiotiques sur la flore intestinale

Selon **Flochet *et al.*, 2006**, l'administration de prébiotiques (inuline, fructo-oligosaccharides) affecte les bactéries intestinales en augmentant le nombre de bactéries anaérobiques bénéfiques (bifidobactéries et l'acide lactique) et en diminuant la population des micro-organismes potentiellement pathogènes (**Figure 5**).

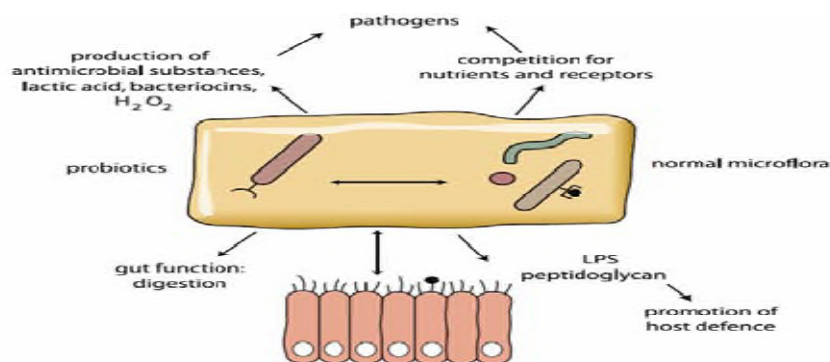


Figure 5 : Interaction microbiote et probiotique avec l'hôte (Sullivan et Nord, 2005).

II.5.2. La fermentation des prébiotiques dans le côlon

Au niveau du côlon, les prébiotiques sont fermentés par les bactéries en acides gras à courte chaîne (AGCC) et en gaz (**Marteau *et al.*, 2004**). Le métabolisme anaérobie des peptides et des protéines (putréfaction) par la flore microbienne produit également des acides gras à courte chaîne (**Macfarlane *et al.*, 1986 ; Smith et Macfarlane, 1996**) et la croissance bactérienne est plus rapide. En revanche, le substrat dans les deux points gauches ou distaux est moins disponible, le pH est proche de neutre, les processus putréfactifs deviennent quantitativement plus importants, et les populations bactériennes sont proches de la charge statique (**Cummings et Englyst, 1987 ; Fallingborg, 1999, Macfarlane et al, 1992**) (**Figure 6**).

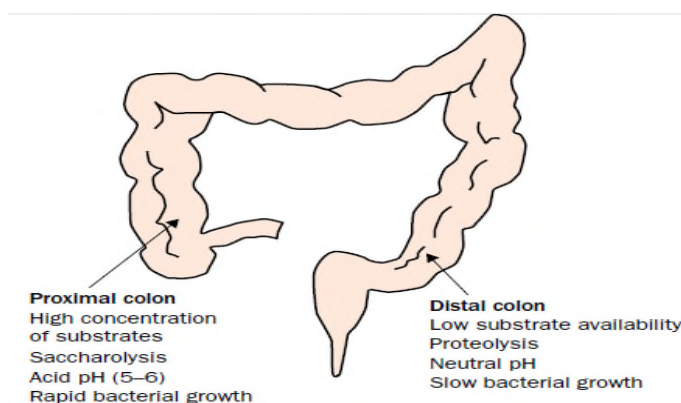


Figure 6 : la fermentation des prébiotiques dans le colon (Francisco Guarner, 2003).

II.5.3. Effets clinique de l'administration des prébiotiques

II.5.3.1. Amélioration des maladies inflammatoires de l'intestin

Des études ont traité l'efficacité des prébiotiques soit dans la prévention soit dans l'amélioration des symptômes des principales maladies inflammatoires de l'intestin.

Différentes formes d'inuline évaluées dans différents modèles expérimentaux et études cliniques humaines, montrent une modification de la flore caecale et colique avec augmentation des bifidobactéries et lactobacilles

L'amélioration de la flore intestinale par l'administration de fibres prébiotiques pourrait avoir, chez l'enfant et chez l'adulte, un effet autant prophylactique que thérapeutique lors d'infections intestinales (Hoekstra *et al.*, 2004).

II.5.3.2. La réduction de la constipation

Le principal effet des prébiotiques est de modifier la capacité fermentaire de l'appareil gastro-intestinal en agissant sur la composition de la flore intestinale. Un soulagement de la constipation a été obtenu chez les sujets diagnostiqués « constipés chroniques » (Bruzzese *et al.*, 2006).

II.5.3.3. Effets sur l'obésité

Les premiers travaux réalisés dans ce domaine ont concerné les prébiotiques (essentiellement inulines) ont montré que chez des souris rendues obèses par une alimentation riche en graisses, l'augmentation du poids corporel mais aussi du tissu adipeux est corrélait d'une manière inverse avec le nombre de bifidobactéries dans l'écosystème colique. Plus ce nombre (bifidobactéries/ g de contenu colique) était élevé (effet prébiotiques), plus faible était

l'augmentation du poids corporel et du tissu adipeux induits par le régime gras (**Abramset al., 2007**).

II.5.3.4. Augmentation de la biodisponibilité des minéraux

Bruzzese et al., (2006) observent une augmentation de l'absorption des minéraux à l'intérieur du côlon, notamment le magnésium et le calcium.

II.6. Les prébiotiques dans le domaine pharmaceutique

De nombreux médicaments prébiotiques ont été utilisés dans le domaine pharmaceutique grâce à leur efficacité dans le traitement de certaines maladies **Tableau II (Annexe 1)**.

II.7. les probiotiques

II.7.1. Définition

Ce terme a été introduit pour la première fois par **Lilly et Stillwell. (1965)** pour décrire des substances produites par un microorganisme et stimulant la croissance d'autres microorganismes, plusieurs définitions ont été données au terme probiotique. Selon **Parker. (1974)** le terme « probiotique » désigne des organismes et des substances qui contribuent à l'équilibre de la flore intestinale. **Soomro et al., (2002)**. Plus tard, **Fuller. (1991)** a redéfini les probiotiques de la façon suivante: «un supplément de l'alimentation microbienne vivant qui salutairement affecte l'hôte en améliorant la balance microbienne intestinale». Récemment, la définition s'est précisée et on entend maintenant par probiotique : 'tout microorganisme vivant qui, une fois ingéré en une certaine quantité, exerce des effets bénéfiques au-delà des fonctions nutritionnelles de base (**Casas et Dobrogosz, 2000; Gusils, 2002; Jones, 2002**).

Ces organismes restent vivants pendant leur conservation et survivent au passage à travers le tractus gastro-intestinal et sont rapidement éliminés après arrêt de leur administration. Leur effet physiologique est exercé pendant leur transit intestinal (**Bouhnik, 2000**).

II.7.2. Types des probiotiques

Les probiotiques sont des bactéries bénéfiques qui peuvent se trouver dans divers aliments. **Holezapfelet al. (2001)**. On distingue quatre grands groupes : les lactobacilles, les bifidobactéries, les Bactéries lactique et les levures et moisissures (**Tableau 3 Annexe 1**).

II.7.3. Approche pharmacologiques des probiotiques

II.7.3.1. La pharmacologie des bactéries lactiques chez l'Homme

Le mode d'action des probiotiques est de mieux en mieux compris grâce à une approche pharmacologique. Cette dernière a pour but d'identifier les principes actifs (Plus on connaîtra précisément les principes actifs plus la recherche progressera pour développer des probiotiques plus actifs), décrire leurs pharmacocinétiques et démontrer les effets bénéfiques ou néfastes. Les probiotiques peuvent être considérés comme un moyen pour véhiculer des principes actifs (enzymes, composants de paroi, peptides ou nucléotides immunomodulateurs, protéines antibactériennes ...) jusqu'à leur cible d'action dans le tractus digestif (**Luquet et Corrieu, 2008**).

II.7.3.2. Les facteurs influençant la pharmacocinétique des probiotiques

La survie des probiotiques dépend de leur résistance intrinsèque, de facteurs liés à l'hôte et du vecteur alimentaire ou galénique dans ou avec lequel ils sont ingérés.

La Sécrétion d'acide gastrique constitue un facteur de défense majeur et la résistance à l'acide diffère fortement entre microorganismes (**Simon et Gorbach, 1987 ; Cook 1994**). La bile ou l'acide biliaire et le second facteur important qui par exemple influence le pourcentage de survie de lactobacilles au bifidobactéries ingérés (**Simon et Gorbach, 1987 ; Marteau et al., 1997**). L'influence d'autres sécrétions digestives, comme celles du mucus ou des défensines, et La motricité intestinale joue aussi un rôle de défense contre les infections gastro-intestinales (**Simon et Gorbach, 1987**).

II.8. Les symbiotiques

II.8.1. Définition

Les symbiotiques sont des combinaisons appropriées de prébiotiques et de probiotiques. Un produit symbiotique exerce un effet pré et probiotique (**Francisco Guarner et al., 2008**).

II.8.2. Intérêt du symbiotique

La présence de Prébiotique exerce un effet bénéfique sur la stabilité du probiotique dans le produit ainsi que sur sa survie et son implantation dans le tractus gastro-intestinal, tant que dure la présence du prébiotique. Par exemple, une association de *Bifidobacterium* ou de *Lactobacillus* et fructo-oligosaccharides.

Peu d'études ont été menées sur l'efficacité des symbiotiques (**Tableau IV**) sur la santé. Les résultats restent limités et nécessitent de nouvelles enquêtes et études sur l'alimentation humaine.

Tableau IV : Exemple d'études sur l'efficacité des symbiotiques

| Symbiotique | Observations | Références |
|---|---|------------------------------|
| L.acidophilus + 2,5% de FOS | <ul style="list-style-type: none"> • Diminution des taux sériques de cholestérol. • Diminution des lipoprotéines de basse densité (LDL). | Kieran et al., (2003) |
| B.longum + lactulose ou en inuline | <ul style="list-style-type: none"> • Réduit l'incidence et la taille des foyers de cryptes aberrantes chez des rats contestés avec l'azoxyméthane cancérigène. | Femia et al., (2002) |
| L.acidophilus et B. longum + FOS | <ul style="list-style-type: none"> • Amélioration significative du rapport (LDL / HDL) cholestérol. | Kieran et al., (2003) |

III. Les radicaux libres et le stress oxydant

III.1. Définition des radicaux libres

Un radical est une molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur ses orbitales électroniques externes. La présence d'un électron célibataire confère souvent à ces molécules une grande instabilité, et une durée de vie en solution, très courte (**Halliwell, 1993**)

III.2. Les différentes espèces radicalaires

Selon **Favier, (2003)**, on distingue deux grandes classes: radicaux libres primaires et radicaux libres secondaires

III.2.1. Radicaux libres primaires

Ce sont les plus dangereux car ils dérivent directement soit de l'oxygène et jouent un rôle particulier en physiologie, comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), soit de l'azote comme le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}).

III.2.2. Radicaux libres secondaires

Les radicaux libres secondaires, se forment par réaction des radicaux primaires avec les composés biochimiques de la cellule (acides nucléiques, lipides membranaires et protéines).

III.3. Production des radicaux libres

Selon **Valko et al., (2006)**, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites dans l'organisme par de nombreux mécanismes tant exogènes ou endogènes (**Figure 7**).

Les ERO peuvent provenir de différents compartiments cellulaires : la mitochondrie, même en cas d'hypoxie (chaîne respiratoire), le réticulum endoplasmique (RE) (mono-oxygénases), la membrane plasmique (oxydases), les peroxysomes et le cytoplasme. Ils peuvent être produits directement par des rayonnements, des molécules endogènes ou des xénobiotiques (**Barouki, 2006**). Dans le cas de plusieurs maladies d'articulations, les facteurs proinflammatoires tels que les cytokines et les prostaglandines sont libérés, au site d'inflammation, simultanément avec les ERO et l'oxyde nitreux (**Afenso et al., 2007**).

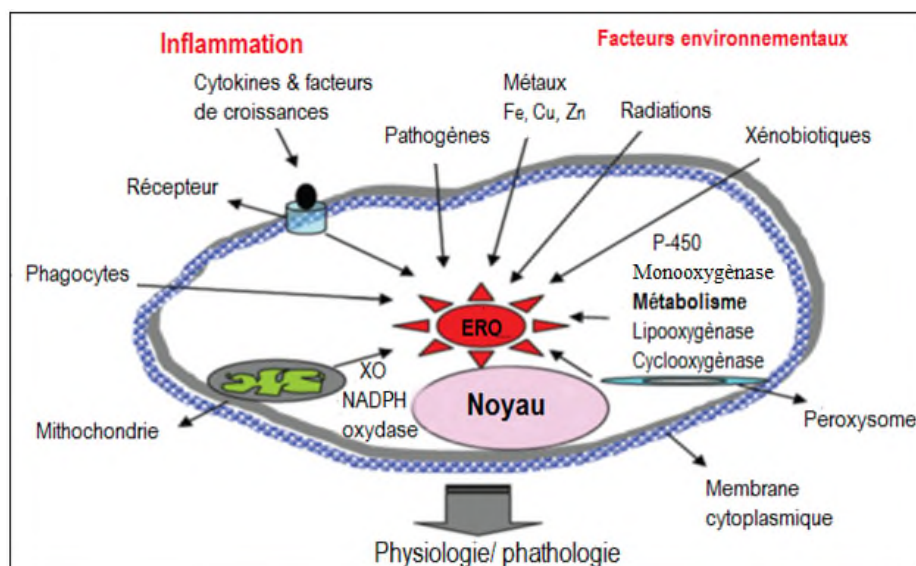


Figure 7: Sources extra- et intracellulaires des espèces réactives de l'oxygène.

XO : xanthine oxydase ; **P-450** : cytochrome P-450 (Afenso *et al.*, 2007).

III.4. Le stress oxydant

La perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres et antioxydants de courte ou longue durée, provoque des effets délétères dus, soit à une défense antioxydante défailante, soit à un état pro-oxydatif accru, nommé stress oxydant (Berger, 2006). Le stress cause des changements hormonaux qui peuvent avoir un impact sur la gestion du poids, sur le système immunitaire et sur la santé globale.

III.5. Défense contre le stress oxydant

L'ensemble des dommages radicalaires semble pouvoir être limité, tout au moins en partie, par l'action de molécules dites antioxydantes (AOX). Les anti-oxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (Fontaine *et al.*, 2002 ; Gardès-Albert *et al.*, 2003).

Selon Pincemail et Defraigne. (2004), le système de défense antioxydant est réparti en deux classes différentes :

III.5.1. Antioxydants synthétiques

Ce sont des substances synthétisées chimiquement. Dans l'industrie alimentaire, ces antioxydants, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), la

gallate propylée (PG) et le tétra-butylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée et ils génèrent un besoin de recherche de matières de substitution issues des sources naturelles (Lisu *et al.*, 2003).

III.5.2. Antioxydants naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydant. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité (Svoboda et Ampson, 1999). Plusieurs études ont démontrées que les légumineuses constituent une bonne source d'antioxydants.

III.5.2.1 les antioxydants des légumineuses

III.5.2.1.1. Définition

Les antioxydants sont des composés très divers qui regroupent des protéines à activité enzymatique (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase, ... etc.) et non enzymatique (séquestrant des métaux) et des petites molécules liposolubles (vitamine E, carotène) ou hydrosolubles (Haliwell, 1999).

III.5.2.1.2 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols correspondent à un vaste ensemble de molécules et substances naturelles caractéristiques du métabolisme secondaire, ils correspondent à une large série de structures chimiques qui ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Macheix *et al.*, 2005).

Les principales classes des composés phénoliques sont représentées dans le **tableau IV (Annexe 1)**.

III.5.2.1.3. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques se divisent en deux sous-catégories : les dérivés de l'acide benzoïque qui existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides et les dérivés de l'acide cinnamique qui sont rarement présents à l'état libre et existent généralement sous forme d'esters ou de glycosides (Benbrook, 2005 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

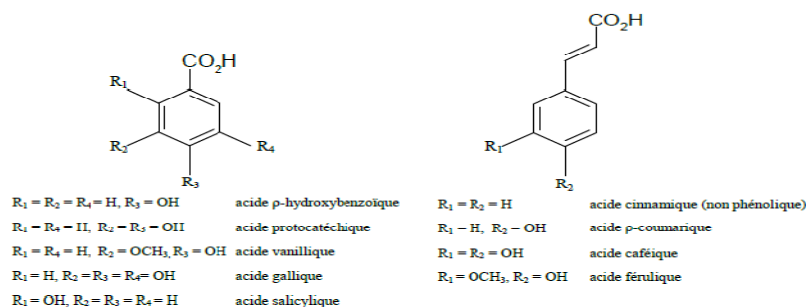


Figure 8: Structure des acides hydroxybenzoïques et hydrocinnamiques (Arimboor *et al.*, 2008).

Les teneurs en acide phénolique dans les légumineuses sèches cuites sont représentées dans le **tableau V (Annexe 1)**.

III.5.2.1.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels quasiment universels chez les plantes vasculaires (Erlund, 2004). des flavonoïdes ont un élément structural de base commun en C15 (C6-C3-C6) (**figure 9**). Les principaux groupes sont les flavanols, les flavones, les flavanones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanidines (Macheix *et al.*, 2006, Mohammadi, 2012).

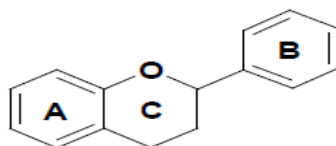


Figure 9 : Structure de base des flavonoïdes (Macheix *et al.*, 2006, Mohammadi, 2012).

Les principales classes de flavonoïdes sont représentées dans le **tableau VI(Annexe 1)**. Le **tableau V** résume les principaux flavonoïdes présents dans quelques légumineuses

Tableau V : Teneurs en flavonoïdes dans les légumineuses sèches cuites (Kalogeropoulos *et al.*, 2010).

| Les flavonoïdes (Ug/100g poids frais) | La fève | Pois chiches | Lentilles | Haricots |
|--|---------|--------------|-----------|----------|
| Catéchine | 76.9 | 152.7 | 745.2 | ---- |
| Chrysin | 33.8 | 169.7 | 26.1 | 28.9 |
| Epicatechine | 76.2 | 88.3 | 687.2 | ---- |
| Genistein | 21.7 | 91.7 | 20.5 | 26.7 |
| Kaempférol | 24.2 | ---- | 25.2 | 25.4 |
| La quercétine | ---- | 101.6 | 24.1 | ---- |
| Somme des flavonoïdes | 232.8 | 604.0 | 1528.3 | 81.0 |

III.5.2.1.5. Les tannins

Les tannins sont des composés à poids moléculaire élevé (500 à 3000 Da) contenant des groupes hydrox-phénoliques permettant des combinaisons stables avec les protéines, les polysaccharides, acides nucléiques et stéroïdes. Ils sont présents dans les feuilles, les fleurs et les graines de plantes (**Hedqvist, 2004**).

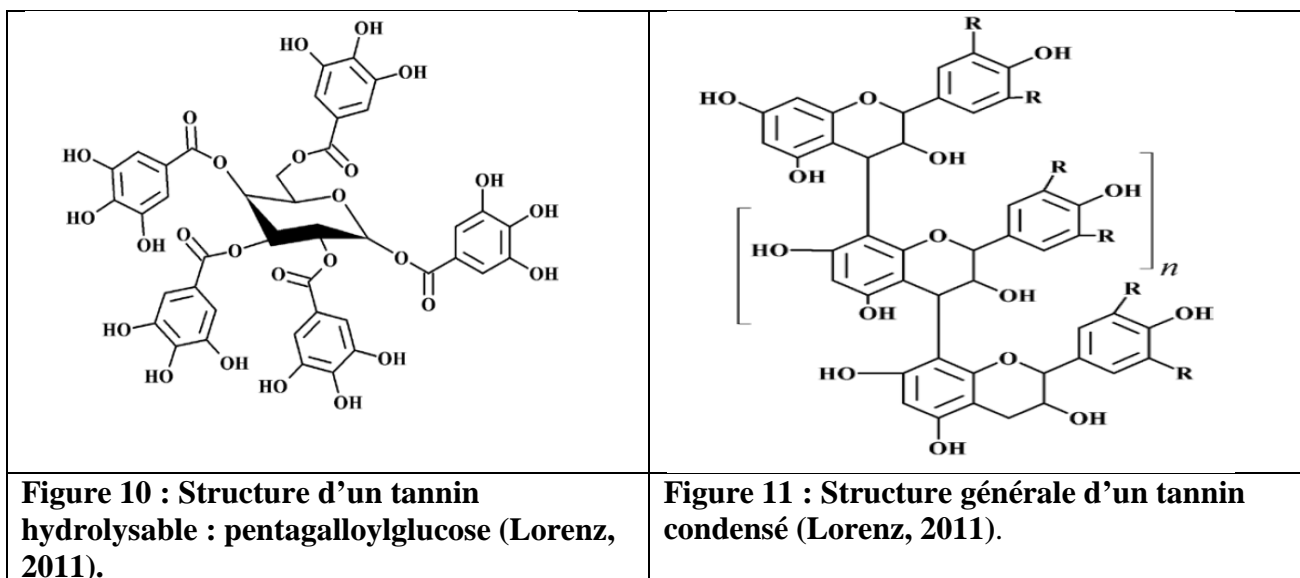
Les tannins sont classés selon leur structure en deux groupes majeurs : les tannins hydrolysables et les tannins condensés (**Özacar et al., 2004**).

III.5.2.1.5.1. Les tannins hydrolysables

Ce sont des esters formés d'acide gallique et des molécules de glucose, Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (enzymatique) et libérer une partie non phénolique (souvent du glucose) et une partie phénolique (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

III.5.2.1.5.2. Les tannins condensés (proanthocyanidines)

Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3 ol dérivés de la (+) catéchine ou de ses nombreux isomères (**Macheix, 2005**). Ils constituent la classe des tannins catéchiques.



III.6. Propriétés biologiques des composés phénoliques

La nature chimique des polyphénols fait de ces composés des agents réducteurs et ce sont, par ailleurs, les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation. De plus en plus d'études indiquent que les polyphénols pourraient diminuer le risque de survenue d'un certain nombre de pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives) (**Leong et Shui, 2002 ; Derbel et Ghedira, 2005**).

Les différentes propriétés biologiques des composés phénoliques sont représentées dans le **tableau VI**.

Tableau VI : Propriétés biologiques des composés phénoliques.

| Composés phénoliques | Propriétés biologiques | Références |
|----------------------|---|--|
| Acides phénoliques | -Propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés. -Propriétés antitumorales, activités antioxydantes et antiradicalaires. | Ekoumou, (2003) Hennebelle <i>et al.</i>, (2004) |
| Flavonoïdes | -Prévention des cancers, inflammations et allergies. -Activité chélatrice des métaux. -Protecteurs vasculaires et veinotoniques. -Inhibent l'adhésion et l'agrégation plaquettaire.- Activités antihypertensive, antibactérienne. | Curtay et Robin, (2000), Ekoumou, (2003) Jiangrong et Yueming, (2007) |
| Tannins | -Fonctions antibactérienne, antitumorale, antivirale et antimutagène. -Activités cardioprotectrice, anti-inflammatoire et anti-thrombotique. | Luthar, (1992) Derbel et Ghedira, (2005) |

IV.1. Matériel végétal

IV.1.1. Origine et provenance des Graines

Deux graines de légumineuses ont été utilisées, la récolte à été effectuée en juin 2013 :

- Fèverole « *Vicia faba L minor* »: provenant de la wilaya de Skikda.
- Pois chiche « *Cicer arietinum* »: provenant de Amizour (wilaya de Bejaia).

IV. 1.2. Classification botanique des graines de féverole et pois chiche

Tableau VII : Classification systématique de *Cicer arietinum* et *Vicia faba L.* (Akroum, 2005).

| | Pois chiche | Féverole |
|--------------------|------------------------|----------------------|
| Règne | Plantae | Plantae |
| Sous règne | Tracheobionta | Tracheobionta |
| Division | Magnoliophyta | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida | Magnoliopsida |
| Sous classe | Rosidae | Rosidae |
| Ordre | Fabales | Fabales |
| Famille | Fabaceae | Fabaceae |
| Genre | Cicer | <i>Vicia L.</i> |
| Espèce | <i>Cicer arietinum</i> | <i>Vicia faba L.</i> |

IV.2. Préparation des échantillons

Les graines de féverole ont été triées et séparées en téguments et cotylédons à l'aide d'un moulin de pierre traditionnel. Tous les échantillons de fèverole (entières, cotylédons et téguments) et pois chiche ont été broyés au moyen d'un moulin à café électrique, puis tamisés à l'aide d'une tamiseuse (Tapsieve shaker AS 200; RetschGmbH, Haan) afin

d'obtenir des particules de 500 μm de diamètre. Les poudres obtenues ont été conservées au réfrigérateur dans des sacs en plastique hermétiques.

IV.3. Extraction des mucilages bruts

Les mucilages ont été extraits en utilisant la méthode décrite par **HadiNezhad et al. (2013)**. Les poudres moulues ont été extraites avec de l'eau distillée (10 : 400, poids/volume), sous agitation pendant 3h à 60°C. Les extraits ont été refroidis à température ambiante, puis centrifugés avec une centrifugeuse (Sigma Laborzentrifug en D-37520 Osterode Harz-Germany) à 4000 g pendant 20 minutes; le surnageant obtenu représente le mucilage brut.

IV.4. Dosage des composés phénoliques

IV.4.1. Dosage des polyphénols totaux solubles

a. Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydo-réduction. Le réactif de Folin Ciocalteu, est un acide de couleur jaune, constitué de poly hétérocycles acides contenant du molybdène et du tungstène (**Gervaise, 2004**).

La méthode consiste à réduire le mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La présence de carbonates de sodium rend le milieu légèrement alcalin. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Ribéreau-Gayonet et al., 1982**).

b. Mode opératoire

La teneur en polyphénols totaux des extraits a été déterminée selon la méthode rapportée par **Hosseinian et Mazza (2009)**. 1 ml d'extrait a été additionné à 1,9 ml d'acide de Folin-Ciocalteu dilué 1/10. Après 6 à 8 min, 1,9 ml de la solution de 60 g/l de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 7,5 %) sont ajoutés, l'ensemble a été incubé à température ambiante (25°C) pendant 2 heures à l'abri de la lumière. L'absorbance est ensuite lue à 725 nm.

Les teneurs en polyphénols totaux sont estimées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) / g.

IV.4.2. Dosage des flavonoïdes

a. Principe

Le chlorure d'aluminium forme de complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes comme le montre la **figure 12 (Ribéreau-Gayon, 1968)**.

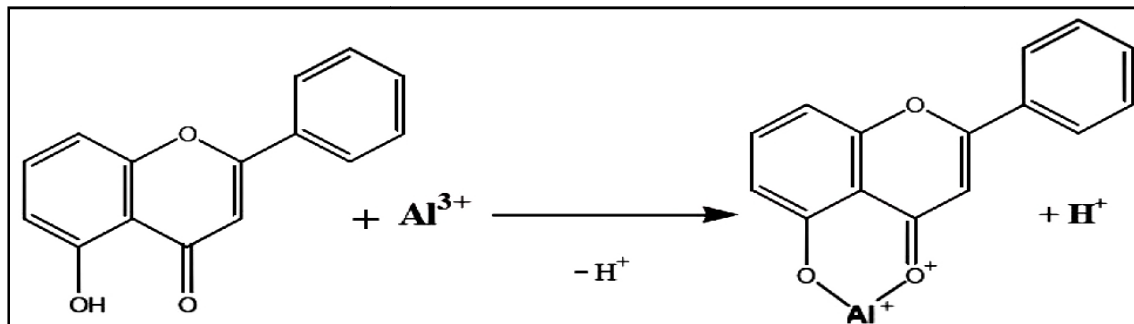


Figure 12: Mécanisme de la réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Ribéreau-Gayon, 1968).

b. Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de **Djeridane *et al.* (2006)**. Un volume d'extrait (1 ml) a été additionné d'un même volume de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$ à 2 % dans le méthanol). L'absorbance du mélange a été mesurée à 410 nm après 10 min d'incubation.

Les concentrations en flavonoïdes ont été estimées en se référant à une courbe d'étalonnage préparée avec la quercétine. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de quercétine (EQ) / g.

IV. 4.3. Dosages des flavonols

Le dosage des flavonols a été réalisé selon la méthode **d'Adedapo *et al.* (2008)**. 1ml de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$ 2 %) et 1,5 ml d'acétate de sodium (50 g / l) ont été ajoutés à 1 ml d'extrait. L'absorbance a été mesurée à 440 nm, après 2 heures 30 minutes d'incubation à T° ambiante.

Les concentrations en flavonols ont été estimées en se référant à la courbe d'étalonnage préparée avec la quercétine. Les résultats ont été exprimés en mg EQ / g.

IV.5 : Activités antioxydantes

IV.5.1 : Pouvoir réducteur

a. Principe

Le pouvoir réducteur est estimé par l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}). La forme réduite de ce complexe donne une couleur verte qui est proportionnelle aux concentrations des extraits (Özturket *et al.*, 2007).

b. Mode opératoire :

Le pouvoir réducteur a été estimé selon la méthode décrite par Li *et al.* (2009). 200 μl d'extrait ont été additionnés de 500 μl de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 500 μl de solution aqueuse de ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$]. Après agitation, l'ensemble a été incubé à 50°C pendant 20 min, puis 500 μl de trichloracétique (TCA 10 %) ont été ajoutés. Après centrifugation à 500 tr/min pendant 10 min. 1 ml de surnageant a été prélevé puis dilué dans 1 ml d'eau distillée et 200 μl de chlorure ferrique (0,1 % P/V) ont été additionnés. L'absorbance a été mesurée à 700 nm.

Le pouvoir réducteur a été déterminé en se référant à la courbe d'étalonnage préparée avec l'acide ascorbique (voir annexe 3). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique (EAA) / g.

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif.

IV.5.2 : Activité anti-radicalaire en utilisant le DPPH

a. Principe

La molécule du 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre synthétique n'existant pas dans l'organisme (Iqbal *et al.*, 2005). Il est capable de capter un proton ou un électron (Wang *et al.*, 2007 ; Hseuet *et al.*, 2008), afin de revenir à une molécule stable (Gülçinetal., 2003 ; Kumaran et Karunakaran, 2007).

L'activité inhibitrice du radical DPPH est déterminée par la diminution de l'absorbance à 517 nm suite à sa réduction en présence d'un antioxydant (AH) (figure 13), responsable de la perte de la couleur violet foncé du DPPH (Molyneux, 2004 ; Villañoet *et al.*, 2007 ; Maisuthisakulet *et al.*, 2008).

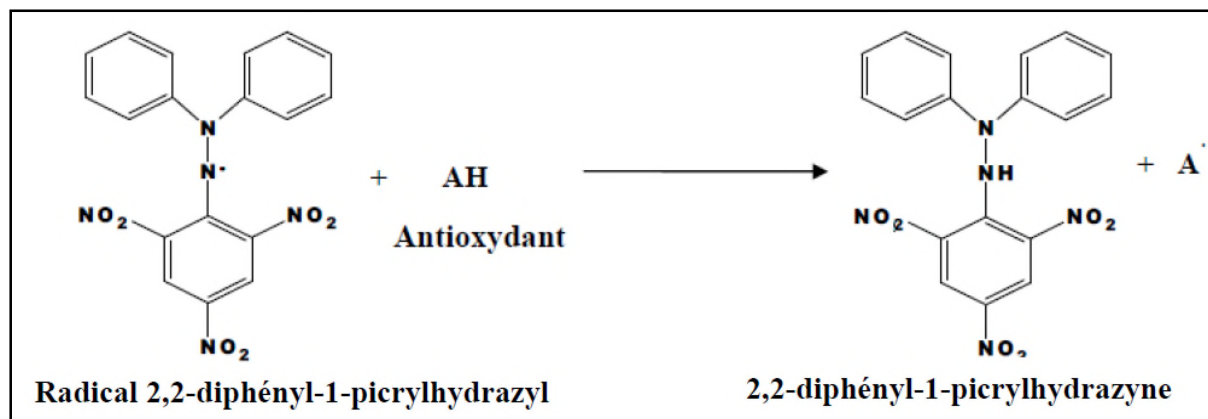


Figure 13: Mécanisme réactionnel de la réduction du radical DPPH (Molyneux, 2004).

b. Mode opératoire

L'activité anti radicalaire envers le radical DPPH a été mesurée selon la méthode de **Brand-william (1995)**. 50µl d'extrait ont été mélangés avec 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (65µM/l) fraîchement préparée. Après agitation au Vortex puis incubation à 30 min à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 515nm.

$$\% \text{Inhibition} = \frac{\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}}{\text{Abs}_{\text{contrôle}}} \times 100$$

- Abs contrôle : correspond à l'absorbance du contrôle
- Abs échantillon : correspond à l'absorbance de l'échantillon

Ainsi plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un Antioxydant fort.

IV.6. Préparation du kéfir

Nous avons suivi la méthode décrite par **HadiNejad et al. 2013**.

Du lait Tchén Lait Candia (3.5% de matière grasse) a été pasteurisé à 85°C pendant 15 mn sur une plaque chauffante puis refroidi dans un bain marie à 42°C (**Espírito et al., 2010**). Une partie aliquote a été transférée dans des tubes stériles de 50 ml. La culture lyophilisée de kéfir (képhir-type B-hétérofermentatif culture.

sans production de CO₂, contenant *Lb. lantarum* and *Lb. rhamnosus*, *Lactococcus lactis* and *L. cremoris*, and *Leuconostoc cremoris*, biasa Inc., Saint Hyacinthe, Quebec, Canada) à été additionnée au lait à raison de 2g/ L. 10 ml de mucilage brut sont ajoutés à 40ml de lait comme décrit dans le **tableau**. Les lots de kéfirs, préparés en triples, sont incubés à 42 °C pendant 24h. Puis Stockés à 4 °C pendant 28 jours.

Tableau VIII : Les différentes formulations des kéfirs et leur codage

| Code Echantillons | Ingrédients exprimés par 1 Litre de lait | | | |
|----------------------|--|------------------------------|------------------|---------------|
| | Poudre de kéfir | Poudre de légumineuse (g) | Mucilage brut | Eau distillée |
| K+MB Fe | 2 | - | 10 | - |
| K+MB Cf | 2 | - | 10 | - |
| K+MB Tf | 2 | - | 10 | - |
| K+MB PC | 2 | - | 10 | - |

K: Kéfir type B –hétérofermentative culture ; **In** : Inuline;**Fe** : Féverole entière; **Cf** : Cotylédon de féverole; **Tf** : Tégument de féverole ;**BM** : Mucilage brut ; **Pc** : pois chiche

IV.6.1. Analyses physico-chimiques

IV.6.1.1 Mesure du pH

➤ **Principe :**

Le pH par définition est une mesure de l'activité des ions H^+ contenus dans une solution.

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

IV.6.1.2. Mesure de l'acidité

➤ **Principe**

L'acidité titrable représente la somme des acides minéraux et organiques présents dans le produit. Elle a été exprimée en fonction de l'acide dominant et titrée avec une solution d'hydroxyde de sodium 0.1N en présence de phénolphaléine utilisée comme indicateur coloré.

➤ **Mode opératoire**

Dans un bécher, 1ml de kéfir a été additionné de 9 ml d'eau distillé (10^{-1}) ; quelques gouttes de phénolphaléine ont été ajoutées à l'aide d'une pipette. La titration est réalisée avec une solution NaOH (0,1N) jusqu'à la persistance de la couleur rose et le volume de soude (NaOH). L'acidité est calculée chaque semaine jusqu'au 28^{ème} jour.

➤ **Expressions des résultats**

L'acidité titrable (TTA%) a été exprimée en pourcentage, et calculée selon la formule :

$$TTA(\%) = V_{NaOH} \times 0,1 \times 100 \times 0,009 \times 10$$

Où :

V_{NaOH} : Volume de NaOH en ml utilisé pour la titration.

0,1 : représente la concentration du NaOH (0,1N).

10 : est le facteur de dilution (10^{-1}).

100 : le pourcentage.

0.0090 : Coefficient correspondant à l'acide lactique.

IV.6.2. Analyses microbiologiques

Le dénombrement des colonies (détermination en triple) a été effectué au 1^{er}, 7^{ème}, 14^{ème}, 21^{ème} et 28^{ème} jour pour chaque lot à différentes dilutions (quatre à cinq séries de dilutions de 1/10). 100µl de chacune des trois dernières dilutions ont été étalé par la méthode des stries sur des boîtes de pétri contenant de la gélose MRS qui ont été incubées à 40°C pendant 48h.

Le nombre de colonies a été converti en log UFC/ml.

IV.7. Analyse statistique

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais. Le traitement statistique des résultats est effectué comme une analyse de la variance (ANOVA) au moyen du STATISTICA (5.5) et la comparaison multiple des moyennes est prise à la probabilité ($P < 0,05$)

V.1. Dosage des composés phénoliques

V.1.1. Les polyphénols totaux

Les résultats du dosage des phénols totaux solubles des mucilages bruts (**figure 14**) montrent que les différents mucilages analysés présentent des différences significatives ($P < 0,05$).

Le mucilage de féverole présente une teneur : 9.67 mg GAE/ g plus élevée que celle du pois chiche : 4.68 mg GAE/ g.

La répartition des composés phénoliques (CP) dans les compartiments de la graine de féverole est inégale, avec une teneur plus élevée dans le Tégument de féverole : 42.08 mg GAE/ g en comparaison à la graine entière : 9,67 mg GAE/ g et cotylédon : 1,33 mg GAE/ g.

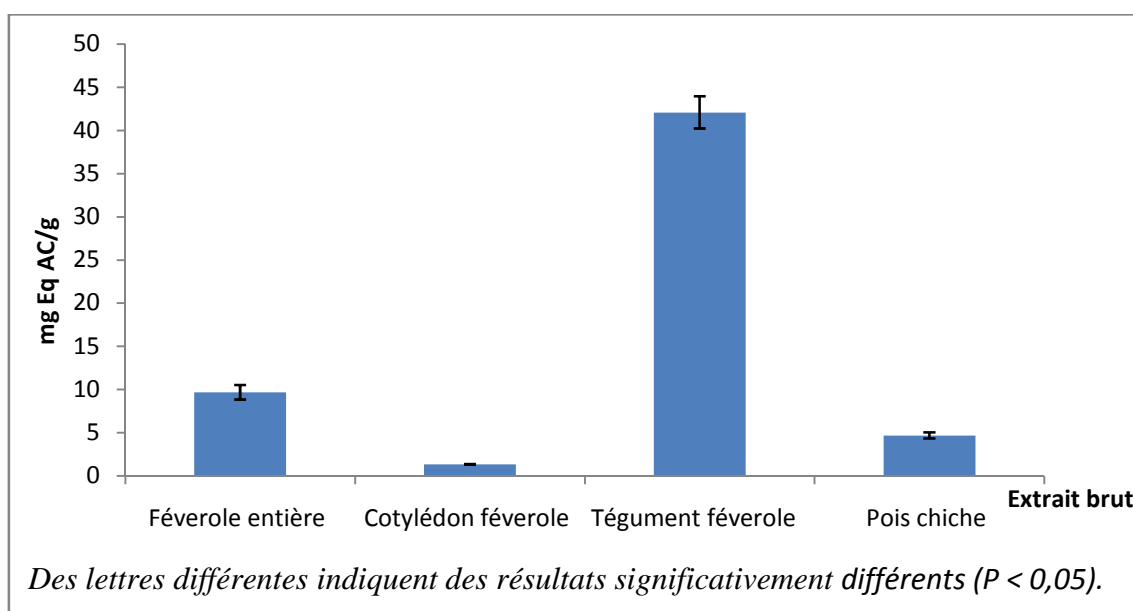


Figure 14 : Teneur en composés phénoliques de mucilage brut.

V.1.2. les flavonoïdes :

La figure 15 montre les teneurs en flavonoïdes significativement différentes ($P < 0,05$) entre elles. Le mucilage de féverole présente une teneur en flavonoïdes de 19.8 % plus élevée que le pois chiche.

La distribution des flavonoïdes dans les compartiments de la féverole montre que le tégument renferme la teneur la plus élevée (1.57mg GAE/ g) suivi de la fraction entière (0.99 mg GAE/ g) et en fin le cotylédon (0.65 mg GAE/ g).

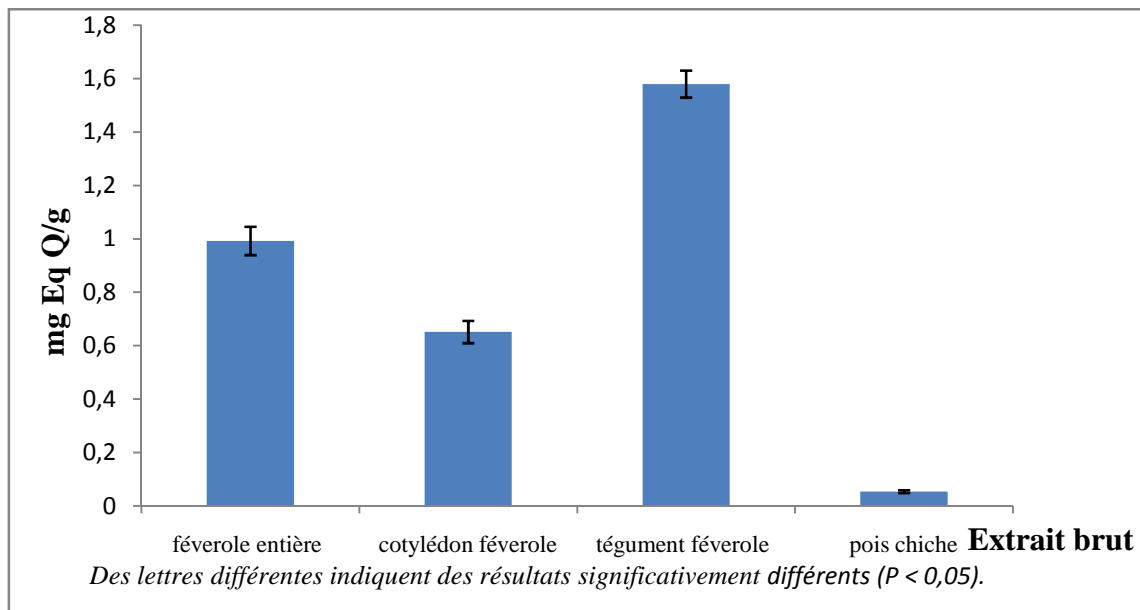


Figure 15 : la teneur en flavonoïdes.

V.1.3. Les flavonol

Les teneurs en flavonol des mucilages analysés (**figure 16**) varient significativement ($P < 0,05$). Le pois chiche présente une teneur plus élevée en flavonol (0.45 mg GAE/ g) que la féverole (0.26 mg GAE/ g).

Les flavonols du mucilage de féverole sont principalement localisés dans le tégument (0.45 mg GAE/ g), et la teneur la plus faible est relevée dans mucilage du cotylédon (0.26 mg GAE/ g).

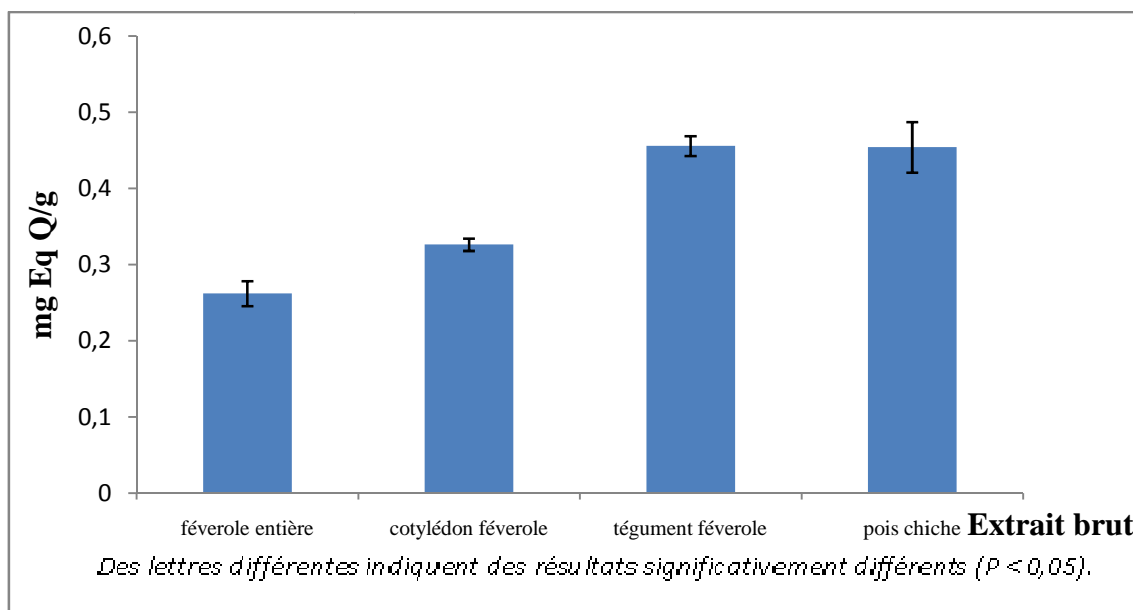


Figure 16 : Teneur en flavonol.

V.2. Activité Antioxydante

V.2.1. L'Activité anti-radicalaire du DPPH

Comme observé sur la **figure 17**, tous les mucilages possèdent une activité anti oxydante contre le radical DPPH avec des différences significatives ($P < 0,05$) entre les différents échantillons.

Le mucilage de féverole présente un taux d'inhibition (39.26 %) supérieur au pois chiche 10,11%.

Dans la féverole décortiquée c'est le tégument (97,90 %) qui présente le taux d'inhibition le plus élevé (35.5%), suivi de la fraction entière et du cotylédon.

Cependant tous nos extraits présentent une activité anti radicalaire inférieure à celle de l'acide ascorbique à l'exception du mucilage de tégument de féverole.

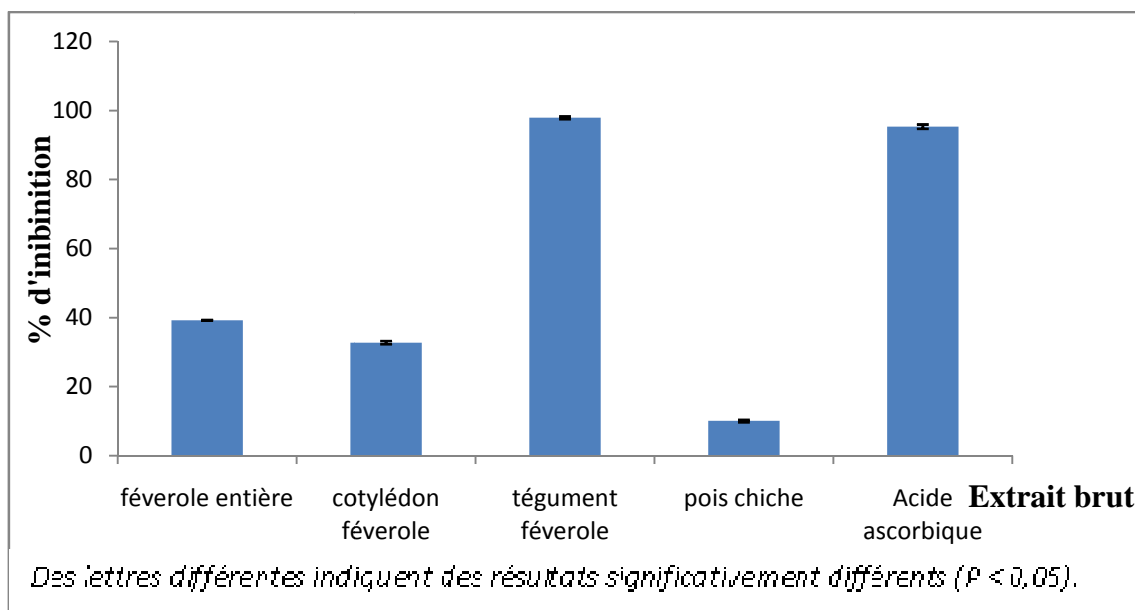


Figure 17 : Activité anti-radicalaire de DPPH.

V.2.2. Le pouvoir réducteur

Les résultats obtenus (**figure 18**) présentent des différences significatives ($P < 0,05$) entre échantillons.

La féverole présente un pouvoir réducteur plus élevé (0.41 mg AAC/ g) contre 0.15 mg AAC/ g pour le pois chiche.

Pour la féverole nous notons que le tégument affiche le pouvoir réducteur le plus élevé (0.49 mg AAC/ g) alors que le cotylédon (0.46 mg AAC/ g) manifeste la plus faible activité.

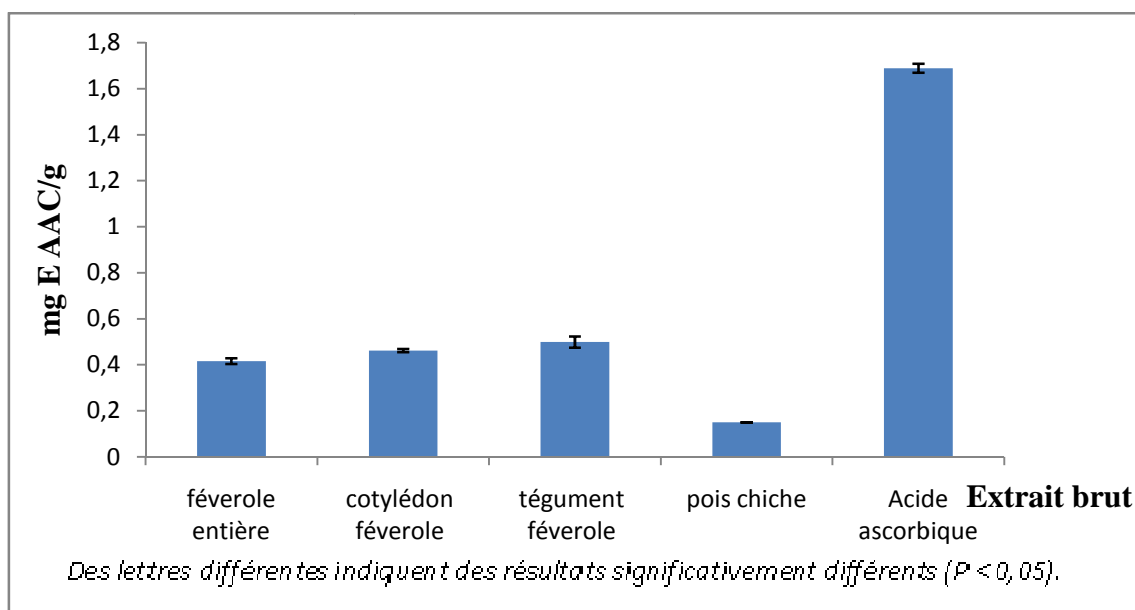


Figure 18 : Pouvoir réducteur ± écart type.

V.2.3. Discussion générale

Les teneurs révélées lors de nos dosages varient d'un échantillon à un autre et il est difficile de les comparer aux données de la littérature vue l'absence de données sur les mucilages de nos deux graines.

Nos données révèlent que le mucilage de fève est plus riche en composés phénoliques que le mucilage du pois chiche. Nos observations sont dans le prolongement de celles rapportées par différents auteurs. En effet des travaux sur les deux graines **Khalil et Mansour (1995)**, **Ghedira (2005)** et **Chaieb et al. (2011)**, confirment une plus grande richesse de la fève en composés phénoliques comparée à celle du pois chiche.

Pour la fève décortiquée, nous avons noté que le mucilage de tégument est le plus pourvu en ces composés. Nos observations s'accordent avec les données de **Wang et al. (2009)**, **chaieb et al. (2001)** et **Oomah et al. (2011)** qui notent une localisation des composés phénoliques de la fève essentiellement au niveau des téguments.

Le tégument, comme les autres couches cellulaires externes des organes végétaux, contient plusieurs molécules défensives conçues pour faire face aux stress abiotique et biotique (**Lavelli et al., 2009**). Il est connu que la solubilité des flavonoïdes dépend du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes (**Lapronik et al., 2005**).

Le test du DPPH est incontestablement la principale méthode utilisée pour évaluer l'activité anti radicalaire des polysaccharides naturels (**Delattre et al., 2015 ; Elaboutachfaiti et al., 2011**)

Nos résultats d'activité anti oxydante des mucilages de fève et pois chiche ont mis en évidence un pouvoir scavenger notable des téguments de fève, et comparable à celui de l'acide ascorbique ($p > 0,05$).

En règle générale il a été rapporté que l'activité anti radicalaire DPPH des antioxydantes des polysaccharides est clairement corrélée à leur capacité de donner de l'hydrogène (**Delattre et al., 2015**).

Le pouvoir réducteur des différents extraits peut être attribué principalement aux composés bioactifs associés à l'activité antioxydante tels que les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes et autres antioxydants hydrophiles qui sont de bons donateurs d'électrons et peuvent terminer la chaîne de réaction de radicaux libres par conversion de ces derniers en produits plus stables (Yen *et al.*, 2008).

V.2.4. Corrélations entre les composés phénoliques et l'activité antioxydante

Afin d'évaluer la relation entre les différentes classes poly phénoliques et leurs contributions à l'efficacité antioxydante de tous nos échantillons, une simple analyse de régression linéaire est réalisée pour toutes les classes déterminées.

V.2.4.1. Polyphénols, flavonoïdes et flavonols

L'analyse statistique des résultats indique l'existence de corrélations positives ($P < 0,05$) entre les teneurs en PT et en flavonoïdes, les teneurs en PT et en flavonols et les teneurs entre flavonoïdes et flavonols (**Tableau IX**).

V.2.4.2. Relation entre l'activité antioxydante et les teneurs en antioxydants

Dans la présente étude, les polyphénols totaux, flavonoïdes et flavonols semblent contribuer d'une façon significative ($p < 0.05$) à l'activité antioxydante (activité anti radicalaire et pouvoir réducteur).

Des corrélations positives sont observées entre le pouvoir réducteur et les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en flavonols. Des corrélations significatives sont également notées entre l'activité anti radicalaire et les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en flavonols (**tableau 9**).

Tableau IX : Coefficients de corrélations entre les Polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, Flavonols et entre l'activité antioxydante et les teneurs en antioxydants.

| | Polyphénols totaux | Flavonoïdes | Flavonols | Pouvoir réducteur | DPPH |
|--------------------|--------------------|-------------|-----------|-------------------|-------|
| Polyphénols totaux | - | | | | 0,946 |
| Flavonoïdes | 0,832 * | - | | | |
| Flavonols | 0,987 *** | 0,806 | - | | |
| Pouvoir réducteur | 0,482* | 0,856 | 0,503 | - | |
| DPPH | 0,946** | 0,949* | 0,948 | 0,739 | - |

* : Corrélation significative. $0.01 < p < 0.05$.

** : Corrélation hautement significative. $0.001 < p < 0.01$.

*** : Corrélation très hautement significative. $0.0001 < p < 0.001$.

Les graphes des corrélations sont représentés dans (**Annexe 5**).

V.3. Analyses physico-chimiques des kéfirs

V.3.1. Evolution du pH

La **figure 19** montre les valeurs du pH des kéfirs au cours des 28 jours de stockage à froid.

L'analyse statistique des résultats obtenus montre un effet significatif ($p < 0,05$) des facteurs mis en jeu dans notre essai.

Nos données analytiques montrent que l'addition des mucilages bruts s'accompagne d'une baisse de pH dès le 1^{er} jour. Les baisses les plus importantes sont notées pour le mucilage du pois chiche.

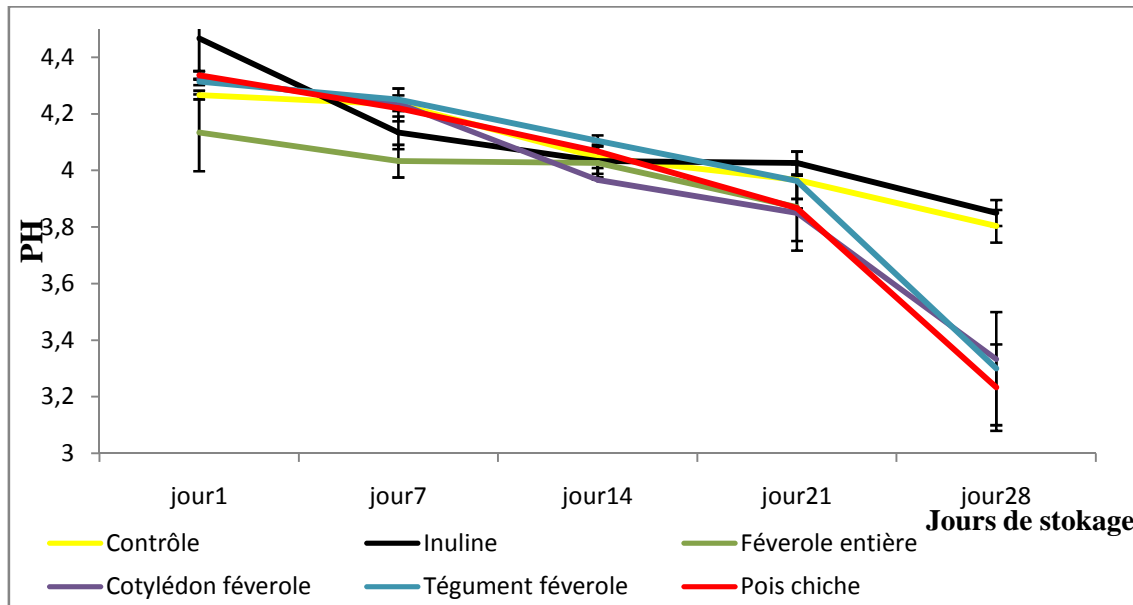


Figure 19: Evolution du PH

Au cours du stockage, le pH des différents échantillons diminue d'une semaine à une autre. Durant les trois premières semaines nous notons une baisse du pH progressive de 0.17 à 7.46%. Au cours de la dernière semaine le pH accuse de fortes baisses, variant de 0.95 à 16.74%

Nous observons aussi que l'addition de mucilages s'accompagne d'une plus forte baisse du pH par rapport aux témoins correspondants (contrôle et inuline).

La comparaison multiple de moyennes enregistrées montre des différences significatives entre échantillons et détermine des groupes homogènes (**Annexe 2**).

V.3.2. Evolution de l'acidité titrable

La **figure 20** illustre l'évolution de l'acidité titrable des kéfirs pendant la période de stockage à froid. Tous les kéfirs montrent des différences significatives ($p < 0.05$) en fonction des jours.

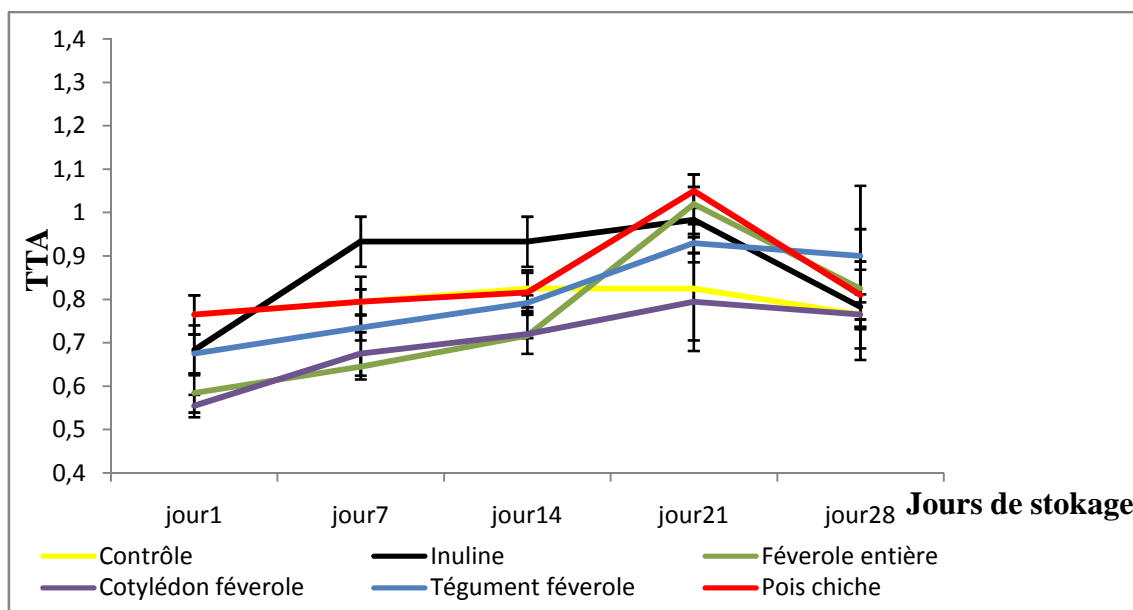


Figure 20: Evolution de l'acidité titrable

L'incorporation des mucilages de légumineuses s'accompagne dans le 1^{er} jour d'une évolution de l'acidité. Cette évolution se produit en deux temps :

Dans un premier temps, nous observons une forte augmentation allant de 2.46 à 36.35%. Pendant cette phase, les échantillons avec mucilages et inuline manifestent des augmentations variables par rapport au contrôle. Les valeurs maximales de l'acidité sont atteintes au 21^{ème} jour de stockage avec des augmentations de 5.36 à 42.26%.

Nous notons dans la deuxième étape une diminution de l'acidité du jour 21 au jour 28 qui varie de 3.23 à 22.86%. Au cours de cette phase, le témoin manifeste une plus faible diminution comparativement aux échantillons avec mucilages et inuline.

Le pois chiche et l'inuline affichent les plus fortes diminutions des concentrations en acide lactique : 22.86 et 20.34% respectivement.

L'analyse comparative des moyennes révèle des différences significative entre elle ($p < 0,05$). Les groupes homogènes sont résumés dans l'**annexe 2**.

V.4. Analyse microbiologie

V.4.1. Croissance et viabilité des souches :

L'évolution des bactéries totales (log ufc / ml) aux jours 1, 7, 14, 21 et 28 dans des échantillons de kéfir est représentée dans **la Figure 21**.

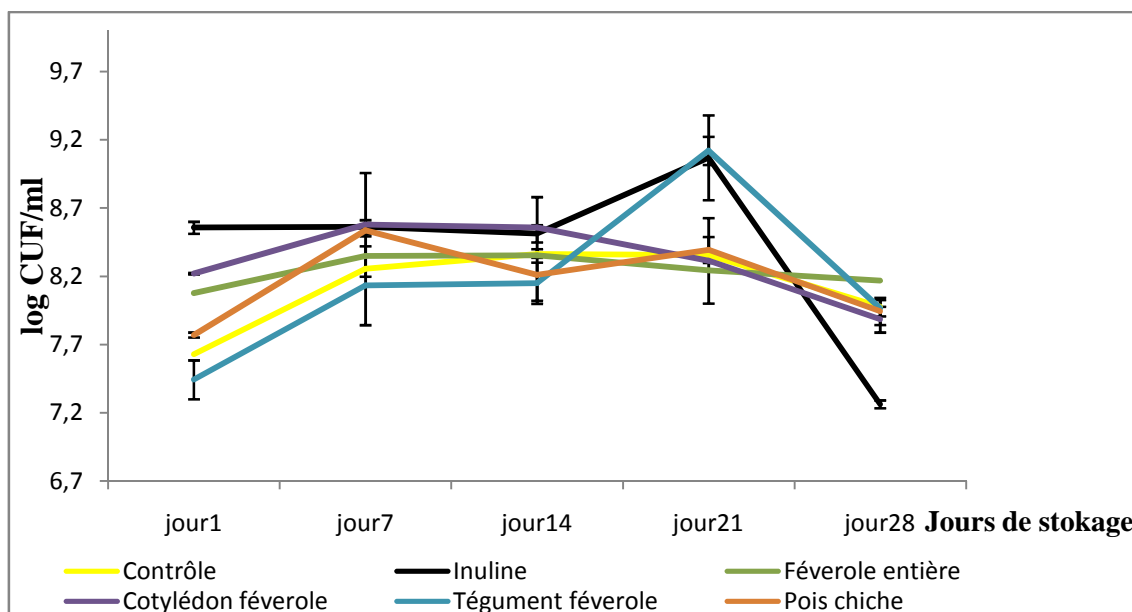


Figure 21: Evolution des Colonies

L'analyse statistique des résultats obtenus montre un effet significatif ($p < 0,05$). Les groupes homogènes sont résumés dans l'**annexe 2**.

Au jour 1, le nombre de bactéries varie entre 7,4 et 8,6 log ufc / ml pour tous les échantillons. Tous les échantillons de kéfir supplémentés en mucilage et inuline ont montré une augmentation marquée, au cours de laquelle les bactéries totales accusent une croissance significative du jour 1 au jour 21. Au cours de cette période la plus forte augmentation des colonies est notée lors de la première semaine (jours 1-7) avec un taux de 0,06-9,89 %. Et une augmentation progressive de 1,3-6,54% du 7-21 jours.

Cette croissance bactérienne est plus importante dans les kéfirs avec mucilage et inuline en comparaison au kéfir control.

Du jour 21 au jour 28, nous notons une diminution du nombre de colonies pour tous les échantillons de kéfir.

V.4.2. Discussion générale

L'utilisation des différents mucilages dans le kéfir a induit des effets notables sur la viabilité au cours du stockage des souches probiotiques et les caractéristiques du milieu.

Nos données analytiques ont révélé une baisse du pH accompagnée d'une augmentation de l'acidité. Ces deux paramètres traduisent l'activité des microorganismes présents dans le

milieu. En présence des différents mucilages de nos légumineuses et d'inuline, les bactéries sont plus actives comme en témoigne la production d'acide lactique. En effet Les bactéries probiotiques produisent des acides tels que l'acide butyrique, propionique et surtout l'acide lactique, acide le plus produit (**Shah, 2000**).

Les fibres alimentaires telles que galactooligosaccharides améliorent la croissance des probiotiques sans diminution significative du pH (**Mei, Carey, Tosh, et Kostrzynska, 2011**).

Les baisses de pH au cours de stockage s'accordent avec l'augmentation de l'acidité titrable. Nos résultats pour les variations du pH et de l'acidité sont en accord avec l'étude de **Hadinzhand et al. (2013)** sur l'effet de l'addition du mucilage des graines de lin au kéfir et les données de **Boudjou et al. (2013)** sur l'effet de l'addition des poudres de légumineuses au kéfir.

La croissance bactérienne est plus importante dans les kéfirs avec mucilage et inuline en comparaison au kéfir control. Cette meilleure croissance des microorganismes s'explique selon **Koplan et Hutkins. (2000)**. par un apport élevé en hydrates de carbone par les mucilages utilisés et les différents micronutriments contenus dans ces prébiotiques.

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

Les produits finaux du métabolisme des glucides (acide gras à courte chaîne) exercent un effet positif sur les probiotiques en leur servant de source d'énergie (**Koplan et Hutkins, 2000**).

Du jour 21 au jour 28, nous notons une diminution du nombre de colonies pour tous les échantillons de kéfir. Des observations similaires sont rapportées par **Esperito et al. (2010)**, **Hadinzhand et al. (2013)**.

Des études antérieures ont montré que les facteurs contributifs les plus importants pour la perte de la viabilité cellulaire sont une baisse de pH pendant le stockage du produit (post-acidification) et l'accumulation d'acides organiques en raison de la croissance bactérienne et de la fermentation (**Shah, 2000**).

Une gamme de 6-8 log ufc / ml est le niveau recommandé pour les bactéries probiotiques à la fin de la période du stockage à froid (**Vasiljevic et Shah, 2008**). Nos résultats ont montré qu'à l'issue de la période de conservation, la croissance bactérienne de nos échantillons s'établit dans une gamme comprise entre 7.26 log CFU/ml et 8.16 CFU/ml, Confirment ainsi la

capacité de nos mucilages à maintenir un niveau acceptable de bactéries tout au long de la période de stockage.

V.4.3. Corrélations entre les différents paramètres des kéfirs

Afin d'évaluer la relation entre les différents paramètres analysés de nos kéfirs, un test d'analyse statistique de coefficients de corrélations a été réalisé à l'aide d'un logiciel.

La comparaison du nombre de colonies UFC avec l'acide titrable totale et le pH a révélé une forte corrélation (**Tableau X**) Le nombre de colonies a été fortement et positivement corrélée avec la production d'acide lactique ($r =$ de 0,833 à 0,854, $p < 0,05$). pH a été inversement corrélé au nombre de bactéries UFC ($r = -0,891$ $p < 0,05$) et à l'acidité titrable ($r = -0,834$ $p < 0,05$).

Tableau X : Les coefficients de corrélation pour le nombre de colonies (UFC), l'acidité titrable (TTA) et le pH

| | cfu-j1 | cfu-j7 | cfu-j14 | cfu-j21 | cfu-j28 | pH-j1 | pH-j7 | pH-j14 | pH-j21 | pH-j28 | TTA-j1 | TTA-j7 | TTA-j14 | TTA-j21 | TTA-j28 |
|---------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|
| cfu-j1 | | 0,778 | -0,325 | 0,744 | -0,659 | 0,374 | -0,522 | -0,69 | 0,081 | 0,426 | -0,462 | 0,293 | 0,253 | 0,083 | -0,547 |
| cfu-j7 | | | -0,561 | 0,567 | -0,493 | 0,456 | -0,139 | -0,66 | -0,277 | -0,064 | -0,196 | 0,262 | 0,165 | 0,113 | -0,647 |
| cfu-j14 | | | | -0,235 | -0,051 | 0,17 | 0,355 | 0,395 | 0,351 | -0,314 | -0,225 | -0,1 | -0,03 | -0,254 | 0,698 |
| cfu-j21 | | | | | 0,943** | 0,745 | -0,241 | -0,17 | 0,612 | 0,463 | 0,179 | 0,854* | 0,833* | 0,213 | -0,435 |
| cfu-j28 | | | | | | -0,891* | 0,006 | 0,112 | -0,677 | -0,262 | -0,128 | -0,85* | -0,834* | -0,056 | 0,302 |
| pH-j1 | | | | | | | 0,401 | 0,039 | 0,552 | -0,161 | 0,295 | -0,817* | 0,781 | -0,03 | -0,188 |
| pH-j7 | | | | | | | | 0,207 | 0,055 | -0,669 | 0,388 | 0,122 | 0,082 | -0,546 | 0,02 |
| pH-j14 | | | | | | | | | 0,411 | -0,188 | 0,641 | 0,258 | 0,335 | 0,457 | 0,751 |
| pH-j21 | | | | | | | | | | 0,475 | 0,421 | 0,778 | 0,836* | -0,014 | 0,076 |
| pH-j28 | | | | | | | | | | | -0,019 | 0,27 | 0,31 | 0,046 | -0,365 |
| TTA-j1 | | | | | | | | | | | | 0,623 | 0,621 | 0,229 | -0,011 |
| TTA-j7 | | | | | | | | | | | | | 0,99*** | 0,205 | -0,238 |
| TTA-j14 | | | | | | | | | | | | | | 0,238 | -0,148 |
| TTA-j21 | | | | | | | | | | | | | | | 0,399 |
| TTA-j28 | | | | | | | | | | | | | | | |

* : Corrélation significative. $0.01 < p < 0.05$

** : Corrélation hautement significative. $0.001 < p < 0.01$

*** : Corrélation très hautement significative. $0.0001 < p < 0.001$.

Conclusion et perspectives

La présente étude a permis de mettre en évidence l'effet Prébiotique et les teneurs en quelques antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes et flavonols) et détermination de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité anti radicalaire) des mucilages bruts extraits de nos graines.

Les résultats obtenus révèlent la présence de composés phénoliques dans les mucilages bruts extraits du pois chiche et de la féverole. Le mucilage de féverole est plus riche en polyphénols totaux, flavonoïdes et flavonols, que le pois chiche. Les dosages des composés phénoliques dans les mucilages de féverole ont permis de montrer leur distribution dans les différentes parties de cette graine (entière, tégument et cotylédon). Ainsi nous avons observé que les mucilages issus des téguments de féverole sont les plus riches en ces métabolites secondaires.

Les résultats de cette étude ont démontré que les mucilages de nos légumineuses constituent une excellente source de différents antioxydants qui piègent les radicaux libres, afin de lutter contre le stress oxydatif. Le mucilage de tégument présente l'activité antioxydante la plus élevée avec un taux d'inhibition de 97,90% contre le radical DPPH et un pouvoir réducteur de 0,49mg AAC/g.

Des corrélations positives ont été observées entre l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité anti radicalaire) et les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et en flavonols.

Les résultats d'utilisation des mucilages dans le kéfir ont montré leur potentiel prébiotique en maintenant la viabilité des souches probiotiques au cours du stockage. Le nombre de CFU dans les mucilages de Kéfir a montré une augmentation marquée, au cours de laquelle les bactéries totales accusent une croissance significative du jour 1 au jour 21. A partir du 21 jour nous notons une diminution de la population bactérienne de 9,06 à 7,26 Log CFU/ml.

L'incorporation des mucilages a induit une augmentation de l'acidité (0,55% à 1,05%), et une diminution du pH (4,46 à 3,03) pendant la période de stockage. En présence des différents mucilages dans le kéfir, les bactéries sont potentiellement plus actives et produisent plus d'acide lactique.

Les mucilages de féverole et pois chiche pourraient être utilisés comme une nouvelle source de prébiotiques dans la formulation d'aliments fonctionnels et applications

neutraceutiques. Toutefois, Les résultats de la présente étude méritent d'être complétés et approfondis. il serait intéressant :

- D'approfondir l'étude des mucilages : la structure des mucilages comme le degré de pureté, composition des monosaccharides, degré de polymérisation et le poids moléculaire.
- De réaliser une évaluation sensorielle pour les échantillons de kéfir.
- De réaliser des études sur des modèles animales et essais cliniques pour déterminer la relation santé du kéfir contenant des légumineuses.

-A-

- **Abrams S., Griffi N., Hawthorne K.** (2007). Effect of prebiotic supplementation and Ca intake on BMI, *J. Pediatr.* 151, 293-298.
- **Adedapo A.A., Jimoh F.O., Afolayan A.J., Masika P.J.** (2008). Antioxidant activities and phenolic contents of the methanol extracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adenia gummifera*. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **54** : 1-7.
- **Adrian J., Potus J., Frangne R.** (2003). La science alimentaire de A à Z. 3^{ème} édition *Tec et Doc Lavoisier*.579.
- **Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A.** (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases : role in joint diseases. *Revue du Rhumatisme.* 74: 324-329.
- **Akroum S.** (2006). Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba L.* Mémoire de magistère, *Université de Constantine*, p97.
- **Arimboor R., Kumar K. S., Arumughan C.** (2008). Simultaneous estimation of phenolic acids in sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) using RP-HPLC with DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* .47(1): 31-38.

- B -

- **Ballongue J., Schumann C., Guignon P.** (1997). Effects of lactulose and lactitol on colon microflora and enzymatic activity. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*; **32** (222) : 41-44.
- **Barbary O. M., Al-Sohaimy S. A., El-Saadani M. A., Zeitoun A. M.** (2009). Extraction, composition and physicochemical properties of flaxseed mucilage. *Journal of Advance Agricultural Research*, 14(3), 605-620.
- **Barouki R.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Article : M/S: médecine sciences* **22** (3) : 266-72.
- **Benbrook C.M.** (2005). Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. *The Organic Center for education & promotion*.

- **Berger M.** (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances Nutritional manipulation of oxidative stress : review of the evidence. *Nutrition clinique et metabolism* **20** : 48-53.
- **Bomba A, Nemcovà R, Mudronovà D, Guba P** (2002) The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends Food Sci Technol* 13:121-126.
- **Boudjou S., Zaidi F., Hosseinien F. et Oomah D.,** (2014). *Journal of Food Research* (2): **1927-0895**.
- **Bougandoura N.** (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Saturejacalaminthasspnepta* (nabta) et *Ajugaiva L.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire de Magister en Biologie à l'Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen. **83**.
- **Bouhnik V., Flourié B., d'Agay-Abensour L., Pochart P Gramet G., Durand M.** (1997). Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal Bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *J Nutr.* **127**: 444-8.
- **Bouhnik Y.** (2000). Flore intestinale, probiotique et MICI, lettre Association François Au petit, 16, Paris.
- **Brand-Williams W., Cuvelier M.E., et Berset C.** (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*. 28:25- 30
- **Bruzzese E., Volpicelli M., Squaglia M., Tartaglione A., Guarino A.** (2006). Impact of prebiotics on human health. *Digestive and Liver Disease* 38 Suppl. (2) : 283–287.

- C -

- **Casas I.A., Dobrogosz W.J.** (2000). Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad-spectrum protection disease in humans and animals. *Microbial ecology in health and disease* **12**: 247-285.
- **Cebra J.J.** (1999). Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 51-1046.
- **Chaieb N., Gonzalez J.L., Lopez-Mesas M., Bouslama M., Valiente M.** (2011). Polyphenols content and antioxidant capacity of thirteen faba bean (*Vicia faba minor*) genotypes cultivated in Tunisia. *Food Research International*.
- **Chaitow L., Trenev N.** (2002). Probiotics. Natasha Trenev Website. [www. Natren.com](http://www.Natren.com).
- **Collins D.M., Gibson G.R.** (1999). Probiotics, prebiotics, and synbiotics : approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* **69**: 1052-1057.

- **Cook GC.** (1994). Hypochlorhydria and vulnerability to intestinal infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* (6) : 693-695.
- **Collins K.J., Paglierani M., Caderni G.** (2002). Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis* **23**: 1953-1960.
- **Cummings J., Englyst H.** (1987). Fermentation in the human large intestine and the available substrates. *Am J Clin Nutr.* **45**: 55-1243
- **Curtay J.P., Robin J.M.** (2000). Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie INF.* 1-4.

– **D** –

- **Daun J. K., Barthet V. J., Chornick T. L., Duguid S.** (2003). Structure, Composition, and Variety Development of Flaxseed. In L. U. Thompson & S. C. Cunnane (Eds.), *Flaxseed in Human Nutrition*. Champaign, USA: AOCS Press .1–40.
- **Delattre C., Pierre G., Gardarin C., Traikia M., Elboutachfait R., Isogai A.**(2015). Antioxidant activities of a polyglucuronic acid sodium salt obtained from TEMPO-mediated oxidation of xanthan. *Carbohydrate Polymers*, 116, 34–41.
- **Delattre C., Elboutachfait R., Engelf E., Fenoradosoa T.A., Michaud P., Peteraa B., Pierreb G., Poughonb L., Wadouachid A.** (2015). Characterization of arabinogalactan-rich mucilage from *Cereustriangularis cladodes* *Carbohydrate Polymers* 127: 372–380.
- **De Moreno de LeBlanc A., Matar C., Farnworth E., Perdigon G.** (2006). Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir *Cytokine* **34** 1–8.
- **Deore S., Khadabadi S.** (2008). Standardisation and pharmaceutical evaluation of *Chlorophytum borivilianum* mucilage. *Rasayan Journal of Chemistr.* (1): 887-892.
- **Derbel S., Ghedira K.** (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie* (1) : 28-34.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouma D., Stocker P., Vidal N.** (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* **97** : 654-660.

- **Diniz L., Garla J., Schneedorf J., Carvalho.**(2003). of anti-inflammatory activity of Tibetan mushroom, a symbiotic culture of bacteria and fungi encapsulated into a polysaccharide. *Pharmacological Research*. **47**: 49–52.
- **Ducluzeau R.** (1993). Installation, équilibre et rôle de la flore microbienne du nouveau-né. *Ann. Pédiatr.* **40**: 13-22.

- **E** -

- **Erlund I.** (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutrition Research*. **24**: 74-851.
- **Elena U., Jaione B., Patricia A., Aurora I., Florencio M., Francisco C. Ibáñez.** (2007). Intestinal beneficial effects of kefir-supplemented diet in rats. **27** : 653–658.
- **Ekoumou C.** (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. *Thèse de doctorat en pharmacie*.
- **Espirito Santo AP, Silva RC, Soares FASM, Anjos D, Gioielli LA, Oliveira MN** (2010) Açaí pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. *Int Dairy J* 20:415-422.

- **F** -

- **Fallingborg J.** (1999). Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract. *Dan Med Bull*; **46**: 96-183.
- **Farnworth ER.** (2005). Kefir — a complex probiotic. *Food Sci Technol Bull Funct Foods*. **2**(1): 1–17.
- **Favier A.** (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* 108-115.
- **Femia A.P., Luceri C., Dolara P., Giannini A., Biggeri A., Salvadori M., Clune Y., Collins K.J., Paglierani M., Caderni G.** (2002). Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis* **23**: 1953-1960
- **Floch M., Madsen K., Jenkins D.** (2006). Recommendations for probiotic use. *J Clin Gastroenterol.* **40**: 8-275

- **Florencio M., Francisco C., Ibáñez,** (2007), Intestinal beneficial effects of kefir-supplemented diet in rats, *Nutrition Research*. **27**: 653–658.
- **Fontaine E., Barnoud D., Schwebel C., Leverve X.** (2002). Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique. *Réanimation* **11**: 411-20.
- **Fotouhinia M.** (2001). Kefir as a potent anti-oxidant composition. *Brevet WO0197820*. **27**.
- **Francisco G., Malagelada Lancet R.** (2003). Gut flora in health and disease **19**: 361-512.
- **Franck A.** (2002). Prébiotiques. In : *Aliments Fonctionnels*. Ed Tec & Doc, Londres-Paris- NewYork, 104-123.
- **François-M., Georges C.** (2008). Bactéries lactiques et probiotiques.
- **Fuller R.** (1989). Probiotics in man and animals. *J Appl Bacterial*. **66**: 365-78.
- **Fuller R.** (1991). probiotics in human medicine *Gut*. **32**: 439-442. In: *Bactéries lactiques et probiotiques de (Corrieu G, Luquet F.M). TEC & Doc. Lavoisier. Paris. 256.*
- **Fuller R.,** (1999). Probiotics. In: Gibson, G.R. and Newsletter, No: 11. Roberfroid, M. B. (Eds.), *Colonic Microbiota Nutrition and Health*. Kluwer Academic publishers, London, 89-101. livre.

- 9 -

- **Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D.** (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*. 91-96.
- **Gervaise Y.** (2004). Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits. *Euroforum*. Paris.
- **Ghalil A.H., Mansour E.H.** (1995). The effect of cooking, autoclaving and germination on the nutritional quality of faba bean. *Food Chemistry*. 54.
- **Ghedira K.** (2005). Les flavonoïdes. In : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emploi en thérapeutique. (162-169).
- **Gibson G., Probert H., Van Loo J., Rastall R., Roberfroid M.** (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* **17**: 259–275.
- **Gibson G.R., Rastall A.** (2004). When we eat, which bacteria should we be feeding? *ASM News*. **70**: 224-31.
- **Gibson G.R., Roberfroid M.B.** (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota : introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* **125** : 12-1401.

- **Goldman AS.** (2000). Modulation of the gastrointestinal tract of infants by human milk. Interfaces and interactions. An evolutionary perspective. Symposium : bioactivity in milk and bacterial interactions in the developing immature intestine. American society for nutritional sciences 426-431.
- **Guarner F., Malagelada Juan R.** (2003). Gut flora in health and disease. *Lancet*. 361 : 9-512.
- **Gülçin I., Oktay M., Kreçci E., Küfrevioğ Ö. I.** (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry* **83** : 371-382.
- **Gusils C., Bujazha M., Gonzalez S .**(2002). Preliminary studies to design a probiotic for use in swine feed. *Aug.* Vol. 27. N°08.

- *H* -

- **HadiNezhad M.,Duc C.,Fong Han N. et Hosseinien F.** (2013). *Journal of Food Research* (2): **1927-0895**.
- **Häfliger, M., Spillmann, H., Puhan, Z.** (1991). Kefir - ein faszinierendes Sauermilchprodukt. *DMZ Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft*. **112**(13): 370- 375.
- **Hallé C., Leroi X., Dousset M., Pidoux.** (1994). Les kéfirs : des associations bactéries lactiqueslevures. In Roissart, De H., Luquet, F.M. (Eds.), Bactéries lactiques: Aspects fondamentaux et technologiques. Vol. 2. Uriage, France, Loriga, pp: 169-182. livre
- **Halliwell B.** (1993). The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* **23** (1) :118-126.
- **Halliwell B.** (1999). How to characterize a biological antioxidant free radical. *Research Communication.* (9): 1-32.
- **Hedqvist H.** (2004). Metabolism of Soluble Proteins by Rumen Microorganisms and the Influence of Condensed Tannins on Nitrogen Solubility and Degradation. *Doctoral thesis on Animal Nutrition and Management.* Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.
- **Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F.** (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* (1) : 2-5.
- **Hoekstra JH, Szajewska H, Zikri MA et al.** (2004). Oral rehydration solution containing a mixture of non-digestible carbohydrates in the treatment of acute diarrhea: a

multicenter randomized placebo controlled study on behalf of the ESPGHAN working group on intestinal infections. *JPGN*; **39**: 239–45.

- **Holzapfel W., Haberer J., Snel U., Schillinger.** (2001). Overview and probiotics. *Int. J. Food Microbiol* **41**:85-101.
- **Hosono, A., T. Tanabe and H. Otani.** (1990). Binding properties of lactic acid bacteria isolated from kefir milk with mutagenic amino acid pyrolyzates. *Milchwiss.* **45**: 647-651.
- **Hosseinian, F. S., & Mazza, G. (2009).** Triticale bran and straw: Potential new sources of phenolic acids, proanthocyanidins, and lignans. *Functional Foods, (1)*: **57-64**.
- **Hseu Y.C., Chang W. H., Chen C. S., Liao J.W., Huang C. J., Lu F. J., Hia Y. C., Hsu H. K., Wu J. J., Yang H. L.**(2008). Antioxidant activities of *Toona sinensis* leaves extracts using different antioxidant models. *Food and Chemical Toxicology* **46** : 105-114.

–I–

- **Iqbal S., Bhanger M., Anwar F.** (2005). Antioxydant proprieties and component of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chemistry* **93** : 265-272.
- **Iserin P.** (2001). Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. *Ed Larousse.* 10-335.

–J–

- **Jiangrong L., Yueming J.** (2007). Litchi Flavonoids: Isolation, Identification and Biological Activity. *Molecules* **12** : 745-758.
- **Jones P.J.** (2002). Functional foods more than just nutrition. *CMAJ* **166** (12): 1555-1563.

–K–

- **Kalt W.** (2005). Effects of Production and Processing Factors on Major Fruit and Vegetable Antioxidants. *Journal of Food Science* **70** (1) : 11-19.
- **Kaplan H, Hutkins RW.** (2000) Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Zppl Environ Microbiol* **66**:2682-2684.
- **Khan A., Thomson A., Gangl A., Guarner F., Garisch J., Krabshuis J., Eliakim R., Le Mair T.** (2008). Probiotiques et Prébiotiques. *World Gastroenterology Organisation.*
- **Kieran M. Tuohy., Hollie M. Probert., Chris W., Smejkal., Glann R., Gibson.** (2003). Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Therapeutic focus.* vol. **8**.

- **Koocheki, A., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., Razavi, S. M. A., & Taherian, A. R.** (2009). Rheological properties of mucilage extracted from *Alyssum homolocarpum* seed as a new source of thickening agent. *Journal of Food Engineering*, **91**: 490-496.
- **Kumaran A., Kurunakaran R. J.** (2007). *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT* **40** : 344-352.
- **Kurmann J., Rasic, Kroger M.** (1992). Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products.

- L -

- **Lai L., Liang H.** (2012). Chemical compositions and some physical properties of the water and alkali-extracted mucilage from the young fronds of *Asplenium australasicum* (J. Sm.) Hook. *Food Hydrocolloids*. **26**, 344-349.
- **Lapornik B., Prošek M., Wondra A.G.** (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering* **71**: 214–222.
- **Lavelli V., Pompei C., Casadei M. A.** (2009). Quality of nectarine and peach nectars as affected by lye-peeling and storage. *Food Chemistry* **115** : 1291–1298.
- **Libudzisz Z., Piatkiewicz A.** (1990). Kefir production in Poland. *Dairy Ind. Int.* **55**: 31-33.
- **Li H., Wang X., Li Y., Li P., et Wang H.** 2009. polyphenolic compounds and antioxidant properties selected chine winesfood chemistry. *112* :454-460
- **Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L., Wul M. J.** (2003). Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). *Journal of Food and Drug Analysis*. **11**(1): 60-66.
- **Lilly D.M et Stillwell R.H.**(1965). Probiotiques: Growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science* **147**: 747–748.
- **Leong L.P., Shui G.** (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry* **76** : 69-75.
- **Lorenz M.M.** (2011). Sainfoin tannins and their impact on protein degradation during silage rumen fermentation and testing of novel techniques. *Doctoral Thesis on Animal Nutrition and Management*. Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.
- **Luthar Z.** (1992). Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum* **12** : 36-42.

- M -

- **Macheix J., Fleuriet A., Jay-Allemand C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux (un exemple de métabolites secondaires d'importance économique). Edition technique et documentation, *Lavoisier*.
- **Macheix J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P.** (2006). Composés phénoliques dans la plante-structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: « Les polyphénols en agroalimentaire ». Ed. Tec &Doc. *Lavoisier*. 1-26.
- **Macfarlane GT, Gibson GR, Cummings JH.** (1992), Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon. *Appl Bacteriol.* **72**: 57–64.
- **Macfarlane G, Cummings J, Allison C.** (1986); Protein degradation by human intestinal bacteria. *J Gen Microbiol.* **132**: 56-1647.
- **Maisuthisakul P., Pasuk S., Ritthiruangdej P.** (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis* **21** : 229-240.
- **Malviya R., Srivastava P., Kulkarni G.** (2011). Applications of mucilages in drug delivery e a review. *Advances in Biological Research.* **5**: 1-7.
- **Marongiu B., Porcedda S., Piras A., Rosa A., Deiana M., Dessi A.** (2004). Antioxidant Activity of Supercritical Extract of *Melissa officinalis* Subsp. *Officinalis* and *Melissa officinalis* Subsp. *Inodora*, *Phytotherapy Research* **18**: 789-792.
- **Marteau P, Minekus M, Havenaar R, Huis in't Veld J** (1997). Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine : validation and the effects of bile. *J Dairy Sci.* **80**: 1031-1037.
- **Marteau P., Seksik P., Lepage P., Doré J.**(2004). Cellular and physiological effects of probiotics and prebiotics. *Medicinal Chemistry* **4**: 889-896.
- **Martha E.** (2008). Caractérisation de composés phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune: Etude de leur capacité antioxydante. *Thèse de Doctorat de l'université de Laval.* 115
- **Masmoudi, M., Besbes, S., Abbes, F., Robert, C., Paquot, M., Blecker, C., et al.** (2012). Pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice: effect of extraction conditions on chemical composition of pectins. *Food and Bioprocess*

Technology, **5**: 687-695.

- **Mei G. Y., Carey C. M., Tosh S., Kostrzynska M.** (2011). Utilization of different types of dietary fibres by potential probiotics. *Canadian Journal of Microbiology*, **57**, 857-865.
- **Metchnikoff E.** (1907). The prolongation of life. In *Optimistic Studies* (Heinemann W., Ed.). G. P. Putnam and Sons, London, UK. 1-100.
- **Miller H., Rigelhof F., Marquart L., Prakash A., Kanter M.** (2000). Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *Journal of American College Nutrition* **19**: 312-319.
- **Mohammedi Z.** (2012). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie de l'Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. 170.
- **Molyneux P.** (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol* **26** (2) : 211-219.

- *N* -

- **Nick Kalogeropoulos a,* , Antonia Chiou a, Maria Ioannou a, Vaios T. Karathanos a, Maria Hassapidou b, Nikolaos K. Andrikopoulos.** (2010). Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries **121**: 682–690.

- *O* -

- **Oomah B.D., Caspar F., Malcolmsom L.J., Bellido A.S.** (2011). Phenolic and antioxidant activity of lentil and pea hulls. *Food Research International*, **44**: 436-441.
- **Otles S, Cagindi O.** (2003). Kefir: a probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pak J Nutr.* **2**(2):54–9.
- **Özacar M., Soykan C., Sengil I.** (2004). Studies on Synthesis, Characterization, and Metal Adsorption of Mimosa and Valonia Tannin Resins. DOI 10.1002/app.23944.
- **Öztürk M., Aydogmus-Oztürk F., Emin Duru M., Topçu G.** (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*) : An edible medicinal plant. *Food chemistry* **103** : 623-630.

- P -

- **Parker R.B.**(1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim nutr health* **29**:4-8.
- **Pincemail J., Defraigne J.** (2004). Les antioxydants : un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Institut Danone. Université de Liège. Belgique.
- **Pszczola D. E.** (2002). Beefing up innovation for meat and poultry ingredients. *Food Technology*. **56**(3): 54–66.

- R -

- **Rambaud J.** (1997). Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *J. Nutr* **127**: 444-448.
- **Renner E., Renz-Schaven,** (1986). Nährwerttabellen für milch und milchprodukte. Verlag B. Renner. Köhner K. G. Gieben, Germany. Livre
- **Ribeiro M ., Bernardo-Gil M., Esquivel M.** (2001). *Melissa officinalis L*: study of antioxidant activity in supercritical residues. *Journal of Supercritical Fluids* **21**: 51 –60.
- **Ribéreau-Gayon P.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Ed Dunod*. Paris.
- **Ribéreau-Gayon J., Peynod E., Sudraud P., Ribéreau-Gayon P.** (1982). Science et technique du vin. Tome 1. Analyse et contrôle des vins. *Ed Dunod*. Paris.
- **Roberfroid M.B., Coxam V., Delzenne N.** (2008). Aliments Fonctionnels, Lavoisier, 05-05.
- **Rousseau V., Paul F.** (2004). Anhydrofuctose and oligosaccharides derivatives as Prebiotic.
- **Rollan S.** (1988). Les boissons de lait fermenté : rôle des bactéries et des levures - diététique et thérapeutique. *Thèse docteur en sciences pharmaceutiques*. 250.

- S -

- **Sako T., Tanaka R.** (2011). prebiotics. Yakult Europe B.V., Almere, The Netherlands and Yakult Central Institute for Microbiological Research .Tokyo, Japan.

- **Salminen S, Bouley C, Bouton-Ruault MC, et al.** (1998); Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr.* **80**: 71-147.
- **Sarni-Manchado P., Cheynier V.** (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. *Edition : Tec et Doc Lavoisier.* Paris.
- **Semih Otles, Ozlem Cagind,** (2003), A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects Pakistan. *Journal of Nutrition.* **2** (2): 54-59.
- **Shah N. P.**(2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Sciences* **83**: 894-907.
- **Simon GL, Gorbach SL** (1987). Intestinal flora and gastro-intestinal function. In: Johnson LR (ed). *Physiology of the gastro-intestinal tract.*, New York : *Raven Press*, (2): 1729-1355.
- **Simon G., Gorbach S.** (1984). Intestinal flora in health and disease. *Gastroenterology.* **86**: 93-174.
- **Smith E., Macfarlane G.** (1996). Enumeration of human colonic bacteria producing phenolic and indolic compounds: effects of pH, carbohydrate availability and retention time on dissimilatory aromatic amino acid metabolism. *J Appl Bacteriol*; **81**: 288–302.
- **Soomro A., Masud T., Anwaar K.** (2002). Role of lactic acid bacteria (LAB). *In Food Preservation and Human Health. Rev. Pakistan Journal of Nutrition.* 20-24.
- **Steven R. Hertzler., Shannon M., Clancy M.** (2003). Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *American Dietetic Association* . 103 (5): 582-587.
- **Sullivan A., Nord C.** (2005). Probiotics and gastrointestinal diseases. *J Intern Med* **257(1)**:78–92.
- **Sun M., Temelli F.** (2006). Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids from carrot using canola oil as a continuous co-solvent. *J. of Supercritical Fluids* **37**: 397-408.
- **Svoboda K., Hampson J.** (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidants, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. In: « Plant Biology Department ». Ed. SAC Auchincruive. Scotland. UK. 1-17.

- **Tannock G.W.** (2002). Probiotics and prebiotics: where are we going? In: Tannock G.W., ed. Probiotics and prebiotics: where are we going? Norfolk, U.K.: Caister Academic Press, 1-40.
- **Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Etpolissiou M.** (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry* **90** : 333-340.

- \mathcal{V} -

- **Valko M., Rhodes C., Moncol J., Izakovic M., Mazur M.** (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* **160** : 1-40.
- **Vasiljevic T., Shah N. P.** (2008). Probiotics – from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18: 714-728.
- **Véronique N., Radegonde M., Gilbert B.** (2009). Probiotiques, aliments fonctionnels et kéfir **13** : 1780-4507.
- **Vierling E.** (2008). Aliments et boissons, filières et produits. *Ed 3, bioscience et technique*. p155.
- **Villaño D., Fernández-Pachón M.S., Moyá M. L., Troncoso A. M., García-Parrilla M.C.** (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* **71** : 230-235.

- \mathcal{W} -

- **Wang N., Hatcher D., Toews R., Gawalco E.** (2009). Influence of cooking and dehulling on nutritional composition of several varieties of lentil (*Lens culinaris*). *LWT. Food science and Technology*, 42: 842-848.
- **Wang J., Yuan X., Jin Z., Tian Y., Song H.** (2007). Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chemistry* **104** : 242-250.

- \mathcal{Y} -

- **Yen Y.H., Shih C.H., Chang C.H.** (2008). Effect of adding ascorbic acid and glucose on the antioxidative properties during storage of dried carrot. *Food Chemistry* **107** : 265-272.

Annexe 1

Tableau I : Exemples de composés prébiotiques commercialisés (Synthétiques).

| Prébiotiques | Nom | Structure |
|--------------------------|------------------------|---|
| Oligofructoses | Raftilose [®] | Fru-Fru _n + Glc-Fru _n |
| Fructo-oligosaccharides | Actilight [®] | Glc-Fru _n |
| Galactooligosaccharides | Oligomate [®] | Glc-Gal _n |
| Lactulose | MLS-50 [®] | Gal-Fru |
| oligosaccharides de soja | Soya-Oligo | Gal _n -Glc-Fru |
| Isomaltooligosaccharides | IMO 900 | Glc _n |
| Glucooligosaccharides | Bioecolia [®] | Glc _n |
| Mannooligosaccharides | Bio-MOS [®] | Man _n |
| Xylooligosaccharides | Xylo-oligo | Xyl _n |

(Adapté de : Grizard et Barthomeuf, 1999 ; Franck, 2002)

Tableau II: les différents médicaments prébiotiques :

| Médicaments | Description | Effet thérapeutique |
|-------------------------------------|--|---|
| Duphalac® (lactulose) | est un disaccharide composé de galactose et de fructose | De nombreuses études confirment une bonne efficacité même en cas de constipation chronique. substrats nutritifs nécessaires au développement de bactéries utiles dans l'intestin – comme par exemple les lactobacilles et les bifidobactéries (flore intestinale favorable) (Ballongue et al., 1997). |
| Actilight® (fructooligosaccharides) | substances composées de deux sucres, le glucose et le fructose | traitement complémentaire des diarrhées et pour prévenir les pochètes (une inflammation de l'intestin chez les personnes ayant subi une ablation chirurgicale du côlon et du rectum) |
| Neocate ^{MC} junior | fibres prébiotiques est une préparation hypoallergène à base d'acides aminés | pour l'alimentation des enfants de plus d'un an les enfants allergiques aux protéines intactes du lait. |

Tableau III : Espèce connus comme probiotique et caractéristiques

| Type de probiotique | Espèces connus | Caractéristiques |
|------------------------|---|---|
| Les lactobacilles | <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus salivarius</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> | Capables d'induire une protection vis-à-vis des pathologies inflammatoires intestinales et de contribuer à l'homéostasie. |
| Les bifidobactéries | <i>Bifidobacterium animalis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> | appartiennent à la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques. |
| Bactéries lactiques | <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> | Peuvent être comme agents de la fermentation alimentaire, ou agents bénéfiques de la santé. |
| Levures et moisissures | <i>Escherichia coli</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Produisent des éléments essentiels à la croissance. |

(Adapté de: Holezapfel *et al.*, 2001)

Tableau IV: Principales classes des composés phénoliques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

| Squelette carboné | Classe | Exemple |
|---|---|------------------------------------|
| C ₆ | Phénols simples | Catéchol |
| C ₆ -C ₁ | Acides hydroxybenzoïques | p- hydroxybenzoïque |
| C ₆ -C ₃ | Acides hydroxycinnamiques Coumarines | Acide caféique Scopolétine |
| C ₆ -C ₄ | Naphthoquinones | Juglone |
| C ₆ -C ₂ -C ₆ | Stilbènes | Resvératrol |
| C ₆ -C ₃ -C ₆ | Flavonoïdes Isoflavonoïdes | Quercétine, cyanidine Daidzeine |
| (C ₆ -C ₃) ₂ | Lignanes | Pinoresinol |
| (C ₆ -C ₃) n | Lignines | – |
| (C ₆ -C ₃ -C ₆) n | Tannins condensés | – |

Tableau V : Teneur en acide phénolique dans les légumineuses sèches cuites (N. Kalogeropoulos *et al.*,2010).

| Les acides phénoliques (Ug/100g poids frais) | La fève | Pois chiches | Lentilles | Haricots |
|---|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <i>acide caféique</i> | 29.4 | 128.7 | 32.1 | 38.4 |
| <i>L'acide chlorogénique</i> | 16.0 | 87.9 | ---- | ---- |
| <i>L'acide cinnamique</i> | 22.8 | 35.3 | ---- | 10.3 |
| <i>o-coumarique acide</i> | 40.0 | ---- | 33.6 | 88.1 |
| <i>acide p-coumarique</i> | 32.0 | 90.4 | 70.8 | 86.1 |
| <i>L'acide férulique</i> | 44.5 | 125.7 | 36.3 | 229.6 |
| <i>acide gallique</i> | 16.2 | ---- | 24.3 | 18.3 |
| <i>p-hydroxybenzoïque</i> | 15.8 | 27.5 | 17.0 | 29.9 |
| <i>p-hydroxyphénylacétique</i> | 9.7 | ---- | 8.9 | 11.3 |
| <i>l'acide Phloretic</i> | 14.0 | ---- | 16.3 | 17.2 |
| <i>acide protocatéchique</i> | 8.8 | ---- | 30.0 | 14.8 |
| <i>l'acide sinapique</i> | 43.2 | 115.7 | ---- | 83.4 |
| <i>acide syringique</i> | ---- | ---- | ---- | 20.1 |
| <i>L'acide vanillique</i> | 14.1 | 56.9 | 16.4 | 15.7 |
| <i>Somme des acides phénoliques</i> | 306.5 | 668.1 | 285.7 | 657.2 |

Tableau VI : principales classes de flavonoïdes (Bougandoura , 2011).

| Classes | Structures chimiques | R3' | R4' | R5' | Exemples |
|------------------------|----------------------|-----|------------------|-----|---------------|
| Flavones | | H | OH | H | Apigénine |
| | | OH | OH | H | Lutéoline |
| | | OH | OCH ₃ | H | Diosmétine |
| Flavonols | | H | OH | H | Kaempférol |
| | | OH | OH | H | Quercétine |
| | | OH | OH | OH | Myricétine |
| Flavanols | | OH | OH | H | Catéchine |
| Flavanones | | H | OH | H | Naringénine |
| | | OH | OH | H | Eriodictyol |
| Anthocyanidines | | H | OH | H | Pelargonidine |
| | | OH | OH | H | Cyanidine |
| | | OH | OH | OH | Delphénidine |
| Isoflavones | | OH | OH | OH | Genistéine |
| | | H | O-Glu | OH | Daidzéine |

Annexe 2

| LSD test; variable PH_J1 (dpphacasstat.sta) | | | |
|---|------|------------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | |
| Error: Between MS = ,00540, df = 12,000 | | | |
| | | PH_J1 | |
| | ECH | Moyenne | 1 |
| 3 | K+Fe | 4,20666667 | **** |
| 5 | K+TF | 4,31333333 | **** |
| 4 | K+CF | 4,32333333 | **** |
| 1 | K | 4,33333333 | **** |
| 6 | K+CP | 4,33666667 | **** |
| 2 | K+in | 4,46666667 | **** |

| LSD test; variable PH_J7 (dpphacasstat.sta) | | | | |
|---|------|------------|------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | |
| Error: Between MS = ,00126, df = 12,000 | | | | |
| | | PH_J7 | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 |
| 2 | K+in | 4,13333333 | **** | |
| 6 | K+CP | 4,22 | | **** |
| 3 | K+Fe | 4,22666667 | | **** |
| 4 | K+CF | 4,23666667 | | **** |
| 1 | K | 4,24666667 | | **** |
| 5 | K+TF | 4,25 | | **** |

| LSD test; variable PH_J14 (dpphacasstat.sta) | | | | | | |
|--|------|------------|------|------|------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | | |
| Error: Between MS = ,00278, df = 12,000 | | | | | | |
| | | PH_J14 | | | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | K | 3,63333333 | **** | | | |
| 3 | K+Fe | 3,76666667 | | **** | | |
| 4 | K+CF | 3,96666667 | | | **** | |
| 2 | K+in | 4,03333333 | | | **** | **** |
| 6 | K+CP | 4,06666667 | | | | **** |
| 5 | K+TF | 4,1 | | | **** | **** |

| LSD test; variable PH_J28 (dpphacasstat.sta) | | | | | | |
|--|------|------------|------|------|------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | | |
| Error: Between MS = ,01591, df = 12,000 | | | | | | |
| | | PH_J28 | | | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | K | 2,86666667 | **** | | | |
| 3 | K+Fe | 3,03333333 | **** | **** | | |
| 6 | K+CP | 3,23333333 | | **** | **** | |
| 5 | K+TF | 3,3 | | | **** | |
| 4 | K+CF | 3,33333333 | | | **** | |
| 2 | K+in | 3,85 | | | | **** |

| LSD test; variable PH_J21 (dpphacasstat.sta) | | | | | | |
|--|------|------------|------|---|------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | | |
| Error: Between MS = ,00914, df = 12,000 | | | | | | |
| | | PH_J21 | | | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 | 3 | |
| 1 | K | 3,3 | **** | | | |
| 3 | K+WF | 3,36666667 | **** | | | |
| 4 | K+CF | 3,85 | | | **** | |
| 6 | K+CP | 3,86666667 | | | **** | **** |
| 5 | K+TF | 3,96333333 | | | **** | **** |
| 2 | K+in | 4,02666667 | | | | **** |

| LSD test; variable TTA_J7 (dpphacasstat.sta) | | | | | | |
|--|------|------------|------|------|------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | | |
| Error: Between MS = ,00194, df = 12,000 | | | | | | |
| | | TTA_J7 | | | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3 | K+Fe | 0,71666667 | **** | | | |
| 4 | K+CF | 0,75 | **** | **** | | |
| 5 | K+TF | 0,81666667 | | **** | **** | |
| 6 | K+CP | 0,88333333 | | **** | **** | |
| 1 | K | 0,88333333 | | **** | **** | |
| 2 | K+in | 0,96666667 | | | | **** |

| LSD test; variable TTA_J1 (dpphacasstat.sta) | | | | | |
|--|------|------------|------------|------------|------------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | |
| Error: Between MS = ,00236, df = 12,000 | | | | | |
| | | TTA_J1 | | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 | 3 |
| 4 | K+CF | 0,61666667 | **** | 0,11871493 | 0,00566714 |
| 3 | K+Fe | 0,65 | **** | 0,41723998 | **** |
| 2 | K+in | 0,68333333 | **** | **** | 0,11871493 |
| 5 | K+TF | 0,75 | 0,0268843 | **** | |
| 6 | K+CP | 0,85 | 0,00028882 | 0,00123006 | **** |
| 1 | K | 0,85 | 0,00028882 | 0,00123006 | **** |

| LSD test; variable TTA_J14 (dpphacasstat.sta) | | | | |
|---|------|------------|------------|------------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | |
| Error: Between MS = ,00144, df = 12,000 | | | | |
| | | TTA_J14 | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 |
| 3 | K+Fe | 0,79666667 | **** | 0,01964767 |
| 4 | K+CF | 0,8 | **** | 0,0239656 |
| 5 | K+TF | 0,88 | 0,0239656 | **** |
| 6 | K+CP | 0,90666667 | 0,00485865 | **** |
| 1 | K | 0,91666667 | 0,00268715 | **** |
| 2 | K+in | 0,93333333 | 0,00102287 | **** |

| LSD test; variable TTA_J21 (dpphacasstat.sta) | | | | |
|---|------|------------|------------|------------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | |
| Error: Between MS = ,00483, df = 12,000 | | | | |
| | ECH | TTA_J21 | | |
| | | Moyenne | 1 | 2 |
| 2 | K+in | 0,78333333 | **** | 0,02804471 |
| 3 | K+Fe | 0,91666667 | | **** |
| 1 | K | 0,925 | 0,88564188 | **** |
| 5 | K+TF | 0,93333333 | 0,77391452 | **** |
| 4 | K+CF | 0,93333333 | 0,77391452 | **** |
| 6 | K+CP | 1 | 0,16752655 | **** |

| LSD test; variable TTA_J28 (dpphacasstat.sta) | | | | | |
|---|------|------------|------------|------------|------------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | |
| Error: Between MS = ,00216, df = 12,000 | | | | | |
| | ECH | TTA_J28 | | | |
| | | Moyenne | 1 | 2 | 3 |
| 1 | K | 0,91666667 | **** | 0,21234451 | 0,10448908 |
| 4 | K+CF | 0,91666667 | **** | 0,21234451 | 0,10448908 |
| 6 | K+CP | 0,96666667 | **** | **** | 0,66839685 |
| 2 | K+in | 0,98333333 | **** | **** | **** |
| 5 | K+TF | 1,02333333 | 0,01574384 | **** | **** |
| 3 | K+Fe | 1,05 | 0,00428027 | 0,04853031 | **** |

| LSD test; variable UFC_J1 (dpphacasstat.sta) | | | | | | | | |
|--|------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|---|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | | | | |
| Error: Between MS = ,00518, df = 12,000 | | | | | | | | |
| | ECH | UFC_J1 | | | | | | |
| | | Moyenne | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 5 | K+TF | 7,44291549 | **** | 9,3114E-05 | 1,5445E-07 | 1,6104E-08 | 2,6157E-10 | |
| 1 | K | 7,62958032 | | **** | 6,1026E-06 | 3,3553E-07 | 2,1828E-09 | |
| 6 | K+CP | 7,7803066 | 0,02480913 | | **** | 7,2698E-06 | 1,6465E-08 | |
| 3 | K+Fe | 8,07794954 | 6,1026E-06 | 0,00027815 | | **** | 3,121E-06 | |
| 4 | K+CF | 8,22094602 | 3,3553E-07 | 7,2698E-06 | 0,03157657 | | **** | |
| 2 | K+in | 8,5568084 | 2,1828E-09 | 1,6465E-08 | 3,121E-06 | 9,7002E-05 | | |

| LSD test; variable UFC_J7 (dpphacasstat.sta) | | | | | |
|--|------|------------|------------|------------|------------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | |
| Error: Between MS = ,06606, df = 12,000 | | | | | |
| | | UFC_J7 | | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 | 3 |
| 2 | K+in | 8,56192872 | **** | 0,08021567 | 0,03474363 |
| 1 | K | 8,64779853 | **** | **** | 0,07221638 |
| 5 | K+TF | 8,96291365 | **** | **** | **** |
| 3 | K+Fe | 9,06145022 | 0,07221638 | **** | **** |
| 6 | K+CP | 9,36406237 | 0,00514355 | 0,08010725 | **** |
| 4 | K+CF | 9,3827791 | 0,00436331 | 0,06856729 | **** |

| LSD test; variable UFC_J14 (dpphacasstat.sta) | | | | | |
|---|------|------------|------------|------------|------------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | |
| Error: Between MS = ,02641, df = 12,000 | | | | | |
| | | UFC_J14 | | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 | 3 |
| 2 | K+in | 8,51323441 | **** | 0,00083319 | 0,00063814 |
| 3 | K+Fe | 9,08354489 | | **** | 0,78639164 |
| 6 | K+CP | 9,09999548 | 0,90339415 | **** | 0,88080976 |
| 5 | K+TF | 9,12032144 | 0,78639164 | **** | **** |
| 1 | K | 9,1342132 | 0,70927003 | **** | **** |
| 4 | K+CF | 9,39024732 | 0,03938964 | 0,04925044 | **** |

| LSD test; variable UFC_J21 (dpphacasstat.sta) | | | | | |
|---|------|------------|------------|------------|--|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | |
| Error: Between MS = ,08023, df = 12,000 | | | | | |
| | | UFC_J21 | | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 | |
| 5 | K+TF | 8,15020619 | **** | 0,4901982 | |
| 3 | K+Fe | 8,24434556 | **** | 0,76577528 | |
| 4 | K+CF | 8,31482756 | **** | | |
| 1 | K | 8,35687628 | **** | 0,85876541 | |
| 6 | K+CP | 8,39473554 | **** | 0,7356929 | |
| 2 | K+in | 9,06983834 | 0,00385738 | **** | |

| LSD test; variable UFC_J28 (dpphacasstat.sta) | | | | | |
|---|------|------------|------------|------------|------------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | |
| Error: Between MS = ,01407, df = 12,000 | | | | | |
| | | UFC_J28 | | | |
| | ECH | Moyenne | 1 | 2 | 3 |
| 2 | K+in | 7,26298779 | **** | 1,3876E-05 | 9,8477E-06 |
| 4 | K+CF | 7,88375934 | | **** | 0,40513478 |
| 6 | K+CP | 7,94329843 | 0,55023267 | **** | 0,80821192 |
| 5 | K+TF | 7,9673343 | 0,40513478 | **** | **** |
| 1 | K | 7,97501804 | 0,36468283 | **** | **** |
| 3 | K+Fe | 8,16823849 | 0,01244023 | 0,038603 | **** |

Annexe 3

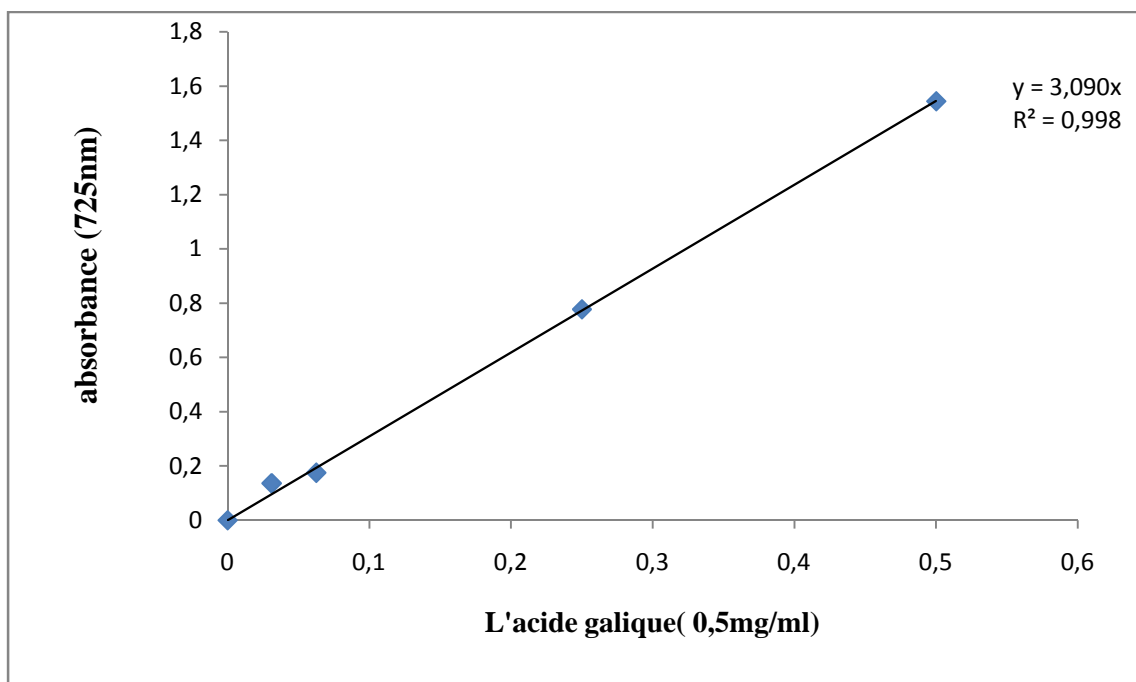


Figure1 : courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

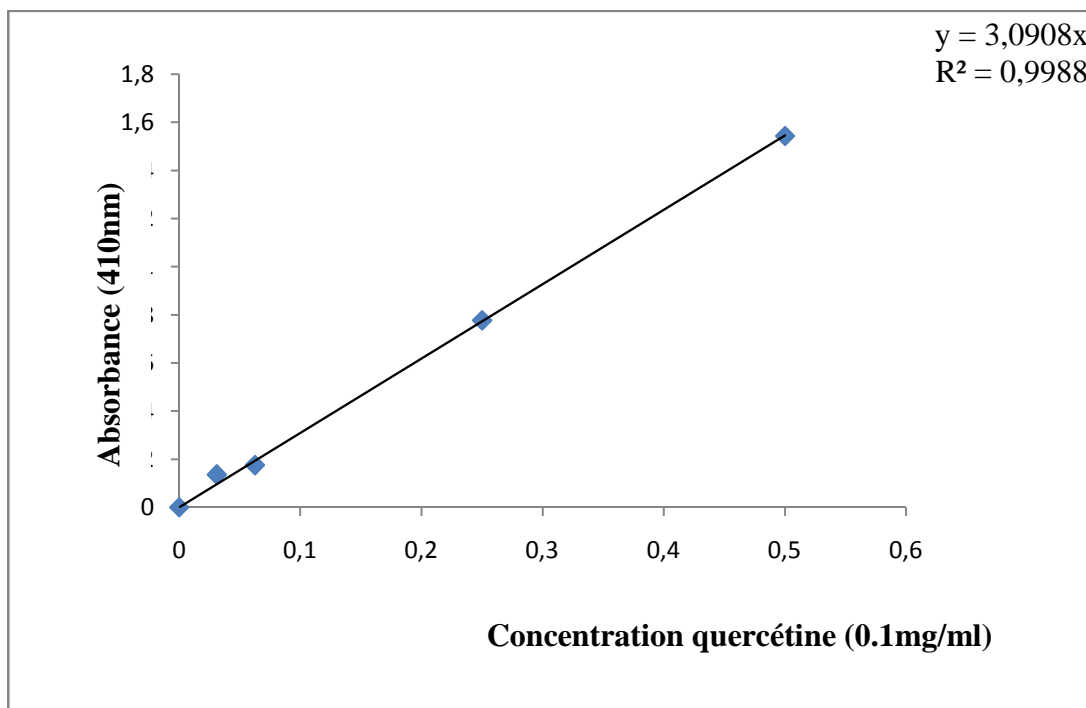


Figure2 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes et flavonols

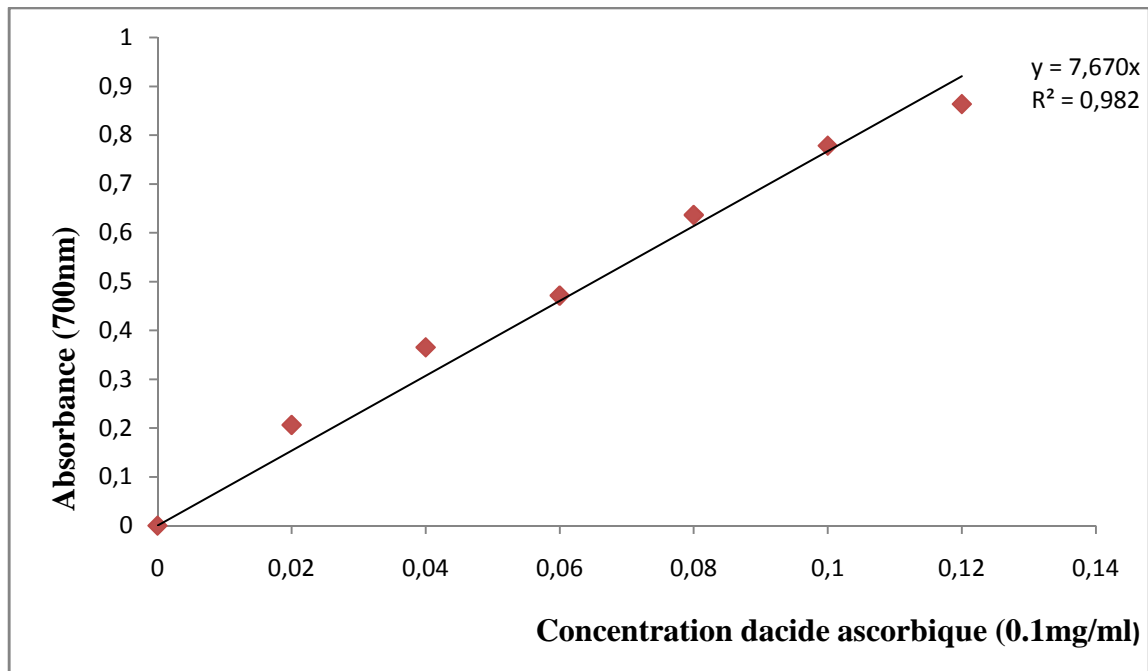


Figure3 : courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur

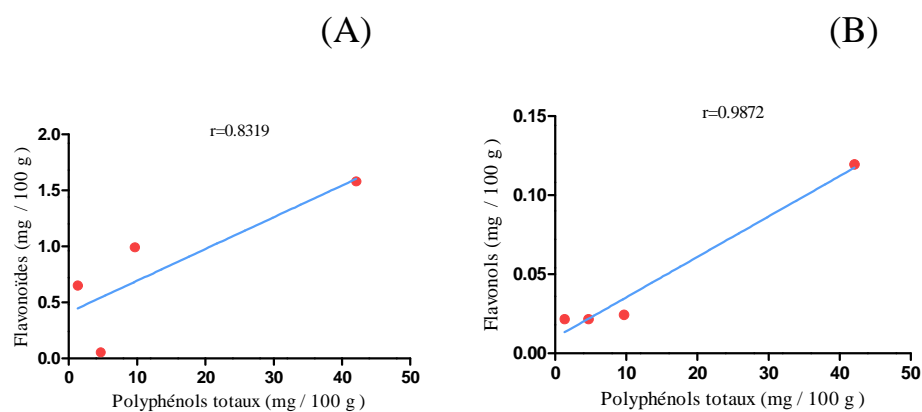
Annexe 4

Tableau : Préparation des solutions

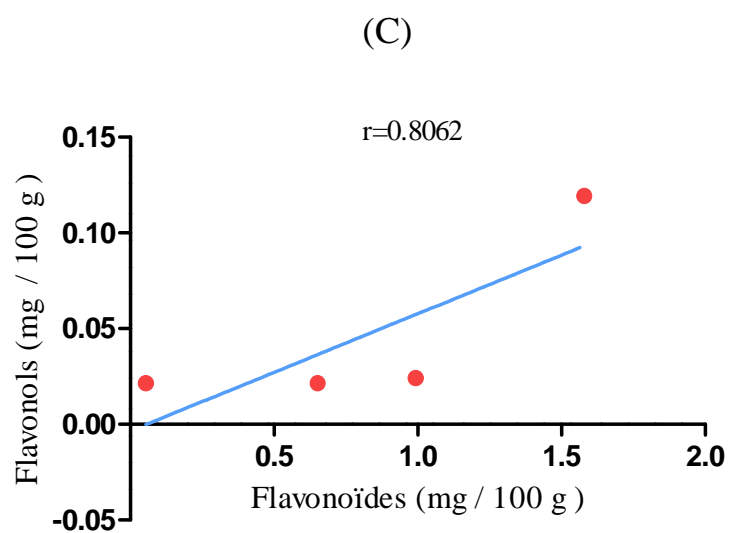
| Solutions | Réactifs |
|---|--|
| éthanol 80% | 80ml de l'éthanol pure ajuste jusque à 100ml d'eau distillée |
| Solution de folin-ciocalteu(0,1) | 10 ml de folin coicalteu + ajouste jusqu'à 100ml d'eau distillée |
| Solution de carbonate de sodium (7,5) Na_2CO_3 | 7,5g de la poudre de Na_2CO_3 dissout dans 100ml l'eau distillée. |
| Solution de chlorure d'aluminium hydrate à 2% ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) | 21,87g de la poudre d' AlCl_3 hydrate dissout dans 250ml de l'eau distillée. |
| HCl (0,01M) | 0,085ml d'HCL 36% est ajuste à 1 litre l'eau distillée. |
| FeCl_3 (0,01M dans Hcl 0,01M) | Dissoudre 1,62 g de FeCl_3 dans un litre de Hcl à 0,01M |
| HCL24% | 24ml de HCl concentré ajusté à 100ml de méthanol. |
| Solution de Quercétine | 0.1mg de quercétine dans 1ml de méthanol |
| Solution DPPH (65uM/l) | 0.0024g DPPH dans 100ml de méthanol pur |
| Tampon phosphate (0,2M, pH6,6) : | 2,72 g de KH_2PO_4 (acide) dans 100 ml d'eau distillée 3,48g de K_2HPO_4 (basique) dans 100ml d'eau distillée La solution acide est ajoutée avec la solution basique jusqu'à l'obtention d'un pH 6,6 |

| | |
|--|---|
| | |
| Chlorure ferrique (FeCl ₃) à 0,1 % (p/v) | 0,1g de FeCl ₃ dans 100ml d'eau distillée |
| Tampon phosphate (0,1M, pH7,4) : | 1,36g de KH ₂ PO ₄ dans 100ml d'eau distillée 1,74g de K ₂ HPO ₄ dans 100ml d'eau distillée. La solution de KH ₂ OP ₄ est ajuste avec la solution K ₂ HPO ₄ jusqu'à l'obtention d'un pH7,4. |
| FeCl ₂ à 2mM | 0,025g de FeCl ₂ 2H ₂ O dans 100ml d'eau distillée. |

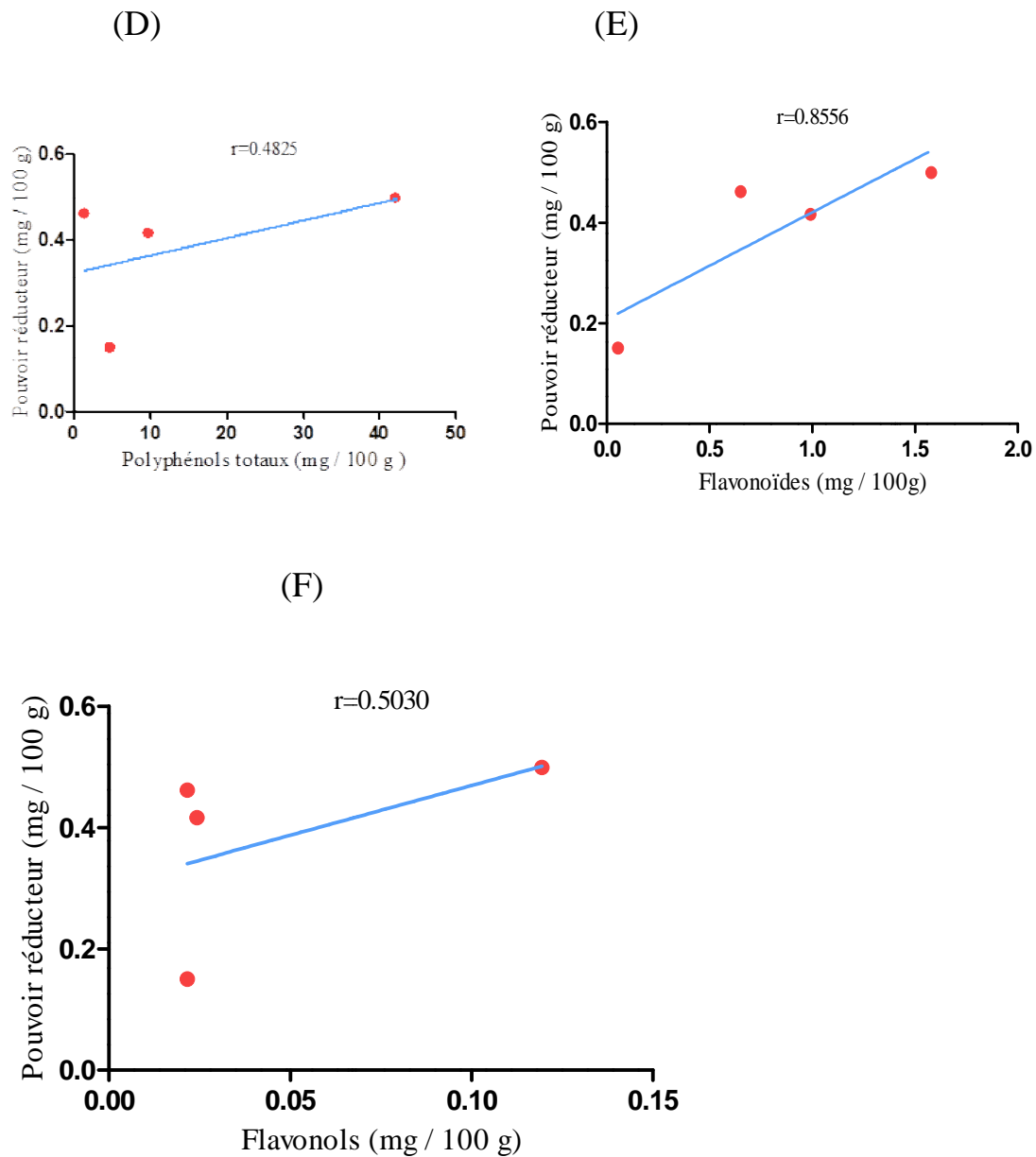
Annexe 5



Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes (A), et flavonol (B).

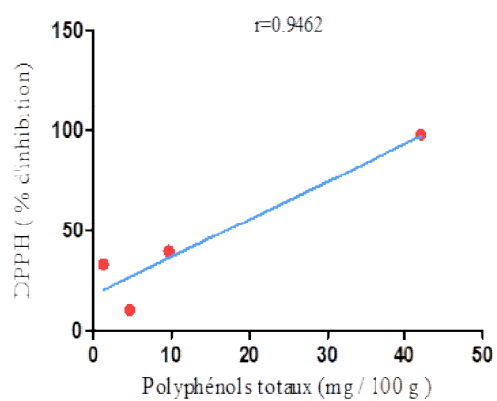


Corrélation entre les teneurs en flavonoïdes et flavonols.

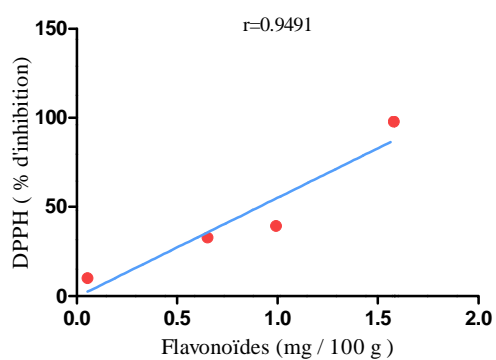


Corrélation entre le pouvoir réducteur et les teneurs en polyphenols totaux (D), flavonoïdes (E) et flavonols (F).

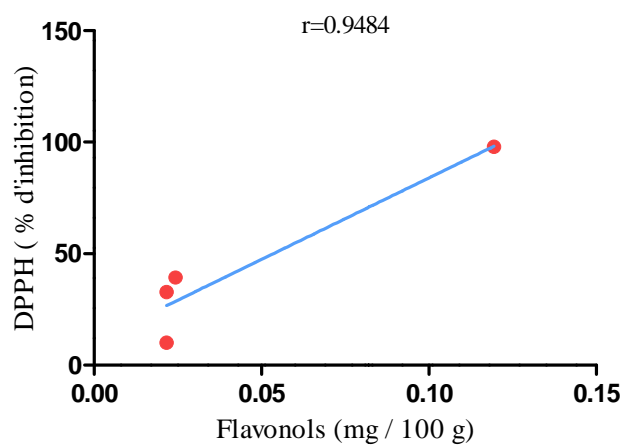
(G)



(H)



(I)



Corrélation entre l'activité antiradicalaire et les teneurs en polyphénols totaux (G), flavonoïdes (H) et flavonols (I).

Résumé

Les légumineuses dont la féverole et le pois chiche contiennent des glucides complexes (fibres, amidon et oligosaccharides résistants) protéines, vitamines et minéraux ainsi que des antioxydants importants. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante ainsi que le potentiel Prébiotique des mucilages de féverole (*Vicia faba L.*) et du pois chiche (*Cicer arietinum*) en utilisant le kéfir comme model fermentaire. Les mucilages sont extraits à l'eau distillée sous agitation pendant 3h à 60°C. Une concentration de 3% des mucilages de féverole décortiqué, pois chiche et inuline sont incorporée dans le kéfir. Nous avons suivi pendant les 28 jours de stockage à froid la viabilité microbienne, pH et l'acidité titrable totale (TTA).

Le dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et flavonols ont été utilisés pour la détermination des teneurs en composés phénoliques ainsi que la détermination de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité inhibitrice du DPPH) de tous les mucilages.

Les résultats de cette étude montrent que le nombre de bactéries pendant les 28 jours de stockage est significativement plus élevé ($P < 0.05$) dans le kéfir supplémenté de mucilage et inuline par rapport au control (kéfir sans poudre), à chaque semaine nous enregistrons une augmentation de l'acide lactique (0.55% à 1.05) dans les kéfirs et une diminution global du pH. Les résultats obtenus montrent que le mucilage de féverole est plus riche en polyphénols totaux, flavonoïdes et flavonols, que le pois chiche. Le mucilage de tégument présente l'activité antioxydante la plus élevé avec un taux d'inhibition de 97,90% contre le radical DPPH et un pouvoir réducteur de 0,49mg AAC/100g. De ceci on tir que les mucilages de nos graines sont une bonne source d'antioxydants et de Prébiotique capable d'améliorer la formulation du kéfir d'un point de vue nutritionnel.

Mots clés : Kéfir, *Vicia faba L.*, *Cicer arietinum*, mucilages. Activité antioxydante, composés phénoliques.

Abstract

Legumes including faba beans and chickpeas contain complex carbohydrates (fiber, resistant starch and oligosaccharides) protein, vitamins and minerals as well as major antioxidants.

The objective of this study is to evaluate the antioxidant activity and the mucilage Prebiotic potential of faba bean (*Vicia faba L.*) and chickpea (*Cicer arietinum*) using the model as kefir fermentation. Mucilage was extracted with distilled water with stirring for 3 h at 60 ° C. A concentration of 3% of faba bean mucilage husked, chickpea and inulin are incorporated in kefir. We followed during 28 days of cold storage microbial viability, pH and total titratable acidity (TTA).

The determination of total polyphenols, flavonoids and flavonols were used for the determination of levels of phenolic compounds and the determination of antioxidant activity (inhibitory activity reducing power and DPPH) of all mucilage.

The results of this study show that the number of bacteria during the 28 days of storage was significantly higher ($P < 0.05$) in kefir supplemented with inulin and mucilage compared to control (powder-free kefir), every week we record increases in lactic acid (0.55% to 1.05) in kefir and a global decrease in pH. The results obtained show that the mucilage faba bean is richer in total polyphenols, then flavonoids, flavonols, and chickpea. The mucilage of the present integument the higher antioxidant activity with an inhibition rate of 97.90% against DPPH radical and a reducing power of 0,49mg AAC / 100g. From this we shot the mucilage of our seeds are a good source of antioxidants and Prebiotic able to improve the formulation of kefir from a nutritional point of view.

Keywords: Kefir, *Vicia faba L.*, *Cicer arietinum*, mucilage. Antioxidant activity, phenolic compounds.

