



*République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

*Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires*

Mémoire de fin de cycle

*En vue d'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie
Agro-ressources Aliment et Nutrition*

Thème

***Effet de poudres de graines de légumineuses
(Lens culinaris et Vicia faba major et minor) sur
la viabilité de probiotiques***

Présenté par :

**M^{elles} : IMECHKET Fatiha
KATTI Dyhia**

Devant le jury :

Président: M^r .KATI D.E

Examineurs : M^{me} .HASSISSENE.N

M^{me} .DJELLILI.F

Promoteur: M^r .ZAIDLF

Co-promotrice: M^{elle} . BOUDJOUS

Année Universitaire : 2012/2013





REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tout premièrement Dieu le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience, qu'il nous a donné durant toutes ces longues années.

Aussi, nous tenons également à exprimer nos vifs remerciements à nos promoteurs Mr ZAIDI.F et M^{elle} BOUDJOU. S pour leurs conseils, leur disponibilité et la confiance qu'ils nous ont accordés.

Nos remerciements à tous les membres du jury qui ont accepté d'examiner notre travail.

A tous les enseignants qui ont fait de leur mieux pour former les futurs cadres que nous sommes.

Nous tenons à remercier vivement toutes les personnes qui nous ont aidés à élaborer et réaliser ce mémoire, ainsi à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à accomplir ce travail.

Dédicace

A ma Tendre Maman

A mon Père et mes grands parents

A la mémoire de ma grande mère qui m'est chère

A mes Sœurs, Sara et Asma

A mon petit frère, Lounis

A toute ma famille, cousins et oncles

A mes Amis

Et surtout un grand merci pour Linda

Dyhia



Dédicace

La place de l'homme dans la vie est marquée non par ce qu'il sait, mais par ce qu'il veut et ce qu'il peut.

Ce modeste travail est dédié à toutes les personnes que j'aime :

 *A cette femme courageuse et merveilleuse qui est ma Mère et qui a su avec sa tendresse et sa patience me propulser encore plus loin dans mon parcours, d'encouragement, a constitué un important soutien moral et pour qui tous les mots de remerciement seraient insuffisants.*

 *A la Mémoire de mon père que dieu l'accueille dans son vaste paradis.*

 *A Mes très chers frères : Kamel, Farid, Lyess, Younes, Abdelkrim.*

 *A Mes très chères sœurs : Samira et Karima.*

 *A ma belle sœur : Khira*

 *A Mon oncle Mohand-Amokrane et sa femme, ses enfants (Zouina et Massi)*

 *Aux chochottes de la famille : Nacira et Lamia*

 *A toutes Mes Amies*

 *A toutes les doctorantes de laboratoire de nutrition*

Ainsi que toute la promotion de Biotechnologie (2012/2013)

Fatima



Sommaire

Liste des Abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Introduction 1

Partie théorique

Chapitre I : Probiotiques et bactéries lactiques

I.1. Les probiotiques	3
I.1.1. Définition	3
I.1.2. Types	4
I.1.3. Critères de sélection	4
I.1.4. Survie des probiotiques dans le tube digestif	5
I.1.5. Effets positifs des probiotiques	7
I.1.6. Risques des probiotiques	8
I.1.7. Applications des probiotiques	8
I.2. Les bactéries lactiques à potentiel probiotique	8

Chapitre II: Intêret des prébiotiques

II.1. Les prébiotiques	11
II.1.1. Définition	11
II.1.2. Source des prébiotiques	11
II.1.3. Différents types de prébiotiques	12
II.1.4. La fermentation des prébiotiques dans le côlon.....	15
II.1.5. Effets des prébiotiques	15
II.1.5.1. Effets des prébiotiques sur la flore intestinale	16
II.1.5.2. Effets clinique de l’administration des prébiotiques	18
II.2. Les symbiotiques	18
II.2.1. Définition	19
II.2.2. Intêret de symbiotique.....	20

Partie pratique

Chapitre I: Matériel et Méthodes

I.1. Matériel végétal.....	21
I.1.1. Origine et provenance des Graines.....	21
I.1.2. Classification botanique des graines	22
I.1.3. Préparation des échantillons.....	22
I.2. Les cultures microbiennes.....	23
I.3. Préparation du yaourt.....	24
I.4. Analyses microbiologiques.....	25
I.5. Analyses physico-chimiques.....	25
I.5.1. Mesure du pH.....	25
I.5.2. Mesure de l'acidité	25
I.5.3. Extraction et Dosage des glucides totaux.....	26
I.5.3.1. Extraction.....	26
I.5.3.2. Dosage	26
I.6. Analyses statistiques	27

Chapitre II: Résultats et Discussion

II. Résultats et discussion	28
II.1. Teneur en Glucides	28
II.2. Evolution des paramètres fermentaires.....	29
II.2.1. Evolution du pH	29
II.2.2. Evolution de l'acidité	29
II.2.3. Discussion.....	32
II.3. Croissance et viabilité des souches.....	33
Conclusion.....	35
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
ANOVA	Analyse de la variance
B	Bifidobactérium
Ca	Calcium
CFU	Colonie forming units
DO	Densité optique
FAO	Food and Agriculture Organisation
FOS	Fructo-oligosaccharides
Fru	Fructose
Gal	Galactose
Glu	Glucose
GC	Guanine + Cytosine
GOS	Gluco-oligosaccharides
g	Gramme
h	Heure
HDL	High density lipoprotein
L	Lactobacillus
l	Litre
LDL	Low density lipoprotein
Man	Mannose
ml	Millilitre
mn	Minute
Mg	Magnésium
MRS	Man Rogosa Sharpe
N	Normalité
Na	Sodium
nm	Nanomètre
OH	Radical hydroxyle

pH	Potentiel hydrogène
Prob	Probiotique
TTA	Total titrable acidité
Xyl	Xylose
°C	degré celsius
%	Pourcentage
µl	Microlitre

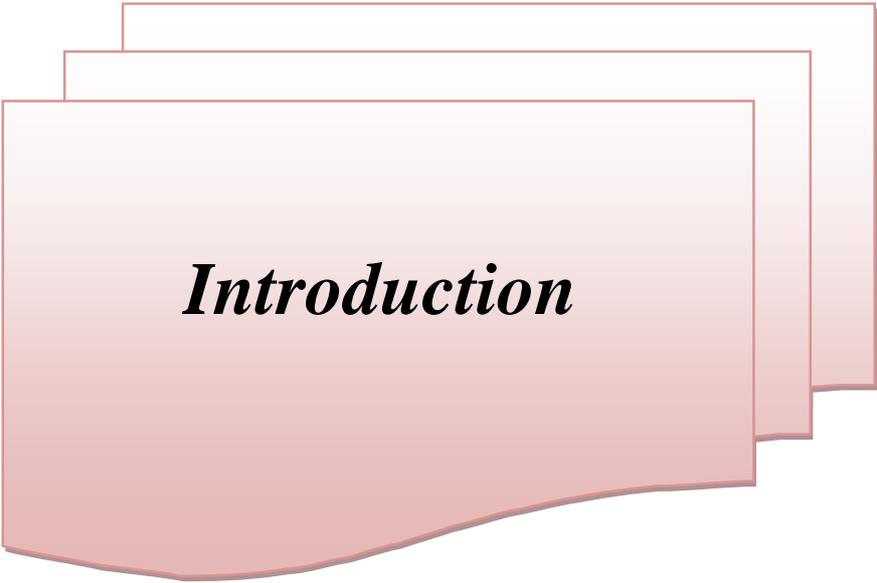
Liste des Figures

Numéro	Titre	Page
01	Composition bactérienne quantitative et qualitative en fonction de la région du tube digestif	6
02	Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres Associés	9
03	Structure de l'inuline	14
04	Structure de galacto-oligosaccharides (GOS)	14
05	Effet de 10g de transgalacto-oligosaccharides sur la concentration des acides gras totaux à courte chaîne et de l'acide acétique (Total SCFA et Acétate)	15
06	Concentration des bifidobactéries et des entérobactéries dans les selles de volontaires après ingestion de 10g de transgalacto-oligosaccharides pendant 21 jours	16
07	Changements dans les nombres de bactéries fécales humaines après l'incubation pour 12 h dans la présence de 7 g/L du fructose, amidon, fructo-oligosaccharides et l'inuline.	17
08	Les échantillons utilisés; lentille (a), fève (b), Fèverole (c)	21
09	Classification de <i>Lens culinaris</i> et <i>Vicia faba</i>	22
10	Moulin traditionnel	22
11	Broyeur "IKA A11basic "	23
12	Tamiseuse électrique "Relesch-AS200 "	22
13	Etapas d'extraction des Glucides totaux	26
14	Etapas de dosage des Glucides totaux	26

Numéro	Titre	Page
15	Teneurs en glucides totaux	28
16	Evolution du pH	30
17	Evolution de l'acidité titrable totale	31
18	Evolution des colonies	34

Liste des Tableaux

Numéro	Titre	Page
I	Espèce connus comme probiotique et caractéristiques	4
II	Principaux critères de sélection des probiotiques	5
III	Effets positifs des probiotiques sur la santé (effets probables ou suspectés)	7
IV	Effets de quelques espèces de bactéries lactiques à potentiel probiotique	10
V	Teneurs en prébiotiques de quelques légumineuses	12
VI	Exemples de composés prébiotiques commercialisés	13
VII	Composition de la microflore de selle fécale humaine (100 g/l) après six rotations dans un continu qui contient du glucose, Fructooligosaccharides et l'inuline comme le substrat de l'augmentation (10 g/l)	17
VIII	Le potentiel nutritionnel et effets thérapeutiques de certains prébiotiques	19
IX	Exemple d'études sur l'efficacité des symbiotiques	20
X	Dispositif expérimental	24



Introduction

Introduction

Les travaux de **Metchinkoff. (1907)** ont démontré que la consommation d'aliments fermentés permet de rétablir la flore intestinale en générant des effets bénéfiques sur la santé de l'Homme et des animaux. De nombreuses études scientifiques ont rapporté les propriétés prophylactiques et thérapeutiques de certains microorganismes présents dans les aliments fermentés (**Parker, 1974 ;Gibson, 2000 ; Varcose et al., 2003 ; Marelli et al.,2004; Lin et al., 2005**).

La perception des propriétés prophylactiques et thérapeutiques des probiotiques et à l'origine de la consommation accrue des produits laitiers fermentés notamment le yaourt (**Mercenier et al., 2002 ; Chukeatriot, 2003**).

La consommation de yaourt aux états unis est passée de 0.5 à 2 kg/ personne/an (**Blum et al., 1999**). En Europe, le marché des probiotiques destinés à la consommation humaine a été évaluée à près de 12.9 millions \$ US en 2003, ce marché augmente actuellement d'environ de 14 % par an (**Anderson, 2004**).

Depuis une dizaine d'années, un intérêt considérable s'est développé autour de l'utilisation de cultures lactiques (*Bifidobacterium,Lactobacillus*) à effets bénéfiques pour la santé ou «probiotique» pour des applications alimentaires, pharmaceutiques ou encore en alimentation animale. Dans la majorité des cas, les produits laitiers tels que yaourts, laits fermentés, fromages, laits en poudre et crèmes glacées ont été choisis comme véhicules privilégiés des cultures probiotiques (**Doleyres et al., 2002**).

Cependant, l'effet probiotique des bifidobactéries dépend de leur taux de survie non seulement dans les aliments mais également dans le tractus gastro-intestinal (**Shah 2000; Marteau et al., 2003; Gagnon et al., 2004**).

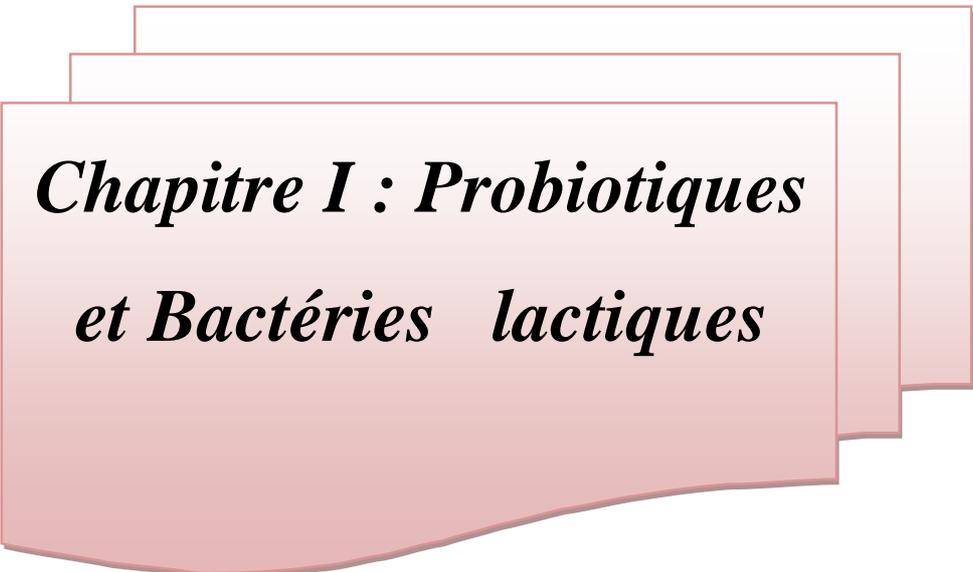
L'enrichissement du lait est, par conséquent, une méthode reconnue dans l'améliorer de la croissance des cultures de bactéries lactiques et probiotiques dans les laits fermentés. En plus de favoriser la croissance des probiotiques, l'enrichissement peut augmenter les propriétés nutritionnelles du yaourt.

Les légumineuses, y compris les fèves (*vicia faba*), féveroles (*vicia faba*) et lentilles (*Lens culinaris*), sont de bonnes sources de nutriments ayant un potentiel bénéfique pour la santé. Les légumineuses 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 qui limite l'oxydation. Les légumineuses pourraient donc constituer une très bonne source de facteurs de croissance et de composants prébiotiques pour le yaourt et autres aliments contenant des probiotique (**Miller., Rigelhof., Marquart.,Prakash et Kanter., 2000**), offrant la possibilité d'améliorer la formulation des laits fermentés d'un point de vue nutritionnel ainsi qu'une amélioration de la croissance bactérienne. Cependant à ce jour, peu d'études ont été faites sur l'enrichissement du yaourt à base de légumineuses.

La présente étude a été consacrée à l'évaluation de l'effet de la poudre de lentille entière, fève entière et féverole (entière et décortiquée) sur l'acide lactique, le pH et la croissance des probiotiques dans le yaourt, ainsi que le dosage de la teneur en glucides totaux dans les différents extraits des échantillons entiers et décortiqués.



Partie théorique



***Chapitre I : Probiotiques
et Bactéries lactiques***

I.1. Les probiotiques

I.1.1. 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. Depuis, plusieurs définitions ont été données aux probiotiques dépendamment de leurs effets sur la santé. Selon **Parker. (1974)**, « probiotiques » désigne des organismes et les 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'animal de l'hôte en améliorant sa 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, ne sont donc susceptibles d'exercer un effet physiologique que pendant leur transit intestinal (**Bouhnik, 2000**).

I.1.2. Types

Les probiotiques sont des bactéries bénéfiques qui peuvent se trouver dans divers aliments. **Holezapfel et al. (2001)** distinguent (**Tableau I**) quatre grands groupes : les lactobacilles, les bifidobactéries, les Bactéries lactique les levures et moisissures.

Tableau I : Espèces connues de probiotiques (Holezapfel *et al.*, 2001).

Type de probiotique	Espèces connus	Caractéristiques
Les lactobacilles	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus caseii</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.

I.1.3. Critères de sélection

Afin de satisfaire à la définition des probiotiques, les micro-organismes doivent posséder diverses propriétés de survie, d'activité et de persistance dans le tractus digestif qui leurs permettront d'exercer des effets bénéfiques sur l'hôte. Ces propriétés sont propres à chaque souche et ne peuvent pas être extrapolées d'une souche à l'autre même au sein d'une même espèce. Les critères majeurs de sélection (**Tableau II**) établis par **Rousseau. (2004)** et **Paul. (2004)** portent sur la sécurité, la fonctionnalité, la technologie et les critères physiologiques.

Tableau II : Principaux critères de sélection des probiotiques (Rousseau, 2004 et Paul, 2004).

Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none"> • souche pour l'usage humain d'origine humaine ou alimentaire. • souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques. • pas de déconjugaison excessive des sels biliaires. • pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques. • pas de dégradation excessive du mucus.
Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> • tolérance à l'acidité et aux enzymes gastriques. • tolérance à la bile et aux enzymes digestives. • adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus gastro-intestinal. • production de substances antimicrobiennes et antagonisme vis-à-vis des pathogènes. • effets sur la santé documentés.
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none"> • stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini. • Viabilité désirée pendant le traitement et stockage et après la production. • non modification des propriétés organoleptiques du produit fini.
Critères physiologiques désirables	<ul style="list-style-type: none"> • Immuno-modulation. • Activité antagoniste vers les pathogènes gastro-intestinaux. • Métabolisme du cholestérol. • Métabolisme du lactose.

I.1.4. Survie des probiotiques dans le tube digestif

La survie de microorganismes ingérés diffère entre genres microbiens, espèces et même parfois souches. Certains microorganismes sont détruits dès leur passage dans l'estomac alors que d'autres ont une haute capacité de survie jusque dans les selles. Les bactéries du yaourt du genre *Lactobacillus* et *Streptococcus* sont résistantes à une faible acidité mais rapidement détruites (quelques minutes) à des pH=2. Certains auteurs ont observé que les concentrations de ces bactéries viables parvenant au duodénum chez les sujets sains ayant ingéré 430g de yaourt contenant 10^7 UFC/mL était d'environ 10^4 UFC/mL au moment du pic (**Figure01**) (Pochart *et al.*, 1990).

Certains bifidobactéries, ingérées dans des produits laitiers fermentés, ainsi que les *lactobacilles* et certaines levures ont une survie très importante jusque dans les selles avec les concentrations fécales observées supérieures à 10^{12} UFC/ml (Bouhnik *et al.*, 1992).

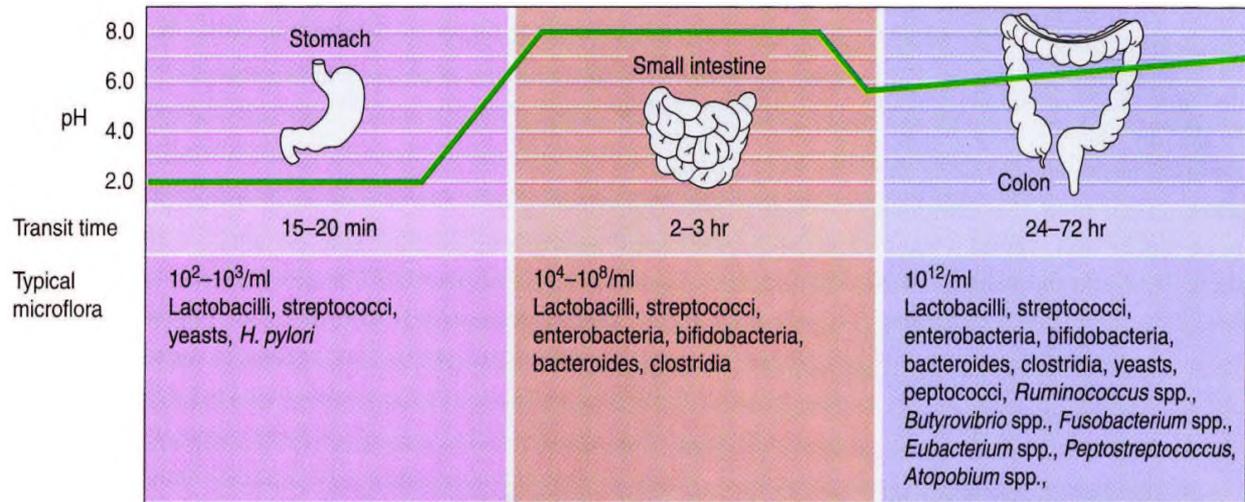


Figure 01: Composition bactérienne quantitative et qualitative en fonction de la région du tube digestif (Bouhnik *et al.*, 1992).

I.1.5. Effets positifs de probiotiques

La reconnaissance des souches précédemment citées en tant que probiotiques, est validée par de nombreuses études. Différents effets positifs sont ainsi attribués aux probiotiques. Cependant, des études doivent encore être réalisées afin de confirmer certains bienfaits. Ces effets sont décrits dans le **Tableau III** et expliqués ci-dessous.

Tableau III : Effets positifs des probiotiques sur la santé (effets probables ou suspectés) (Rousseau, 2004).

Evidences scientifiques fortes	
Effets des probiotiques	Mécanismes des probiotiques
Aide à la digestion du lactose	<ul style="list-style-type: none"> • Action de la β-galactosidase bactérienne
Réduction du risque des diarrhées	<ul style="list-style-type: none"> • Activité antipathogène • Stimulation du système immunitaire
Diminution des allergies alimentaires	<ul style="list-style-type: none"> • Amélioration de la fonction barrière de la muqueuse • Stimulation du système immunitaire • Dégradation des protéines allergènes
Evidences scientifiques prometteuses	
Effets des probiotiques	Mécanismes des probiotiques
Activité hypocholestérolémiant	<ul style="list-style-type: none"> • Assimilation du cholestérol • Déconjugaison des sels biliaires
Prévention du cancer du côlon	<ul style="list-style-type: none"> • Dégradation de carcinogènes • Production de composés antimutagéniques • Modulation des enzymes fécales carcinogéniques • Stimulation du système immunitaire
Résistances contre les maladies inflammatoires et irritables des intestins	<ul style="list-style-type: none"> • Activité antipathogène • Stimulation du système immunitaire
Diminution des infections à <i>Helicobacter pylori</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Activité antipathogène
Effet antihypertenseur	<ul style="list-style-type: none"> • Action des peptidases sur les protéines du lait donnant des peptides bioactifs

I.1.6. Risques des probiotiques

De façon générale, il faut retenir que les risques sur la santé sont faibles. Les effets de l'apport de probiotiques ou de symbiotiques ont cependant été impliqués dans diverses septicémies et le risque principal reste la mutation de souches avec incorporation de gènes, assurant un pouvoir pathogène aux microorganismes (**Géraldine, 2004**)

I.1.7. Applications des probiotiques

Les différents produits commercialisés en tant que probiotiques humains ou animaux sont constitués soit d'un seul microorganisme (produits dits monosouches) ou d'une association de plusieurs espèces (produits dits plurisouches). De nos jours, les produits probiotiques sont commercialisés sous trois formes :

- Un concentré de culture ajouté à des aliments et boissons à base de produits laitiers, de Fruits et de céréales.
- Un ingrédient ajouté à un aliment à base de lait ou de soja et auquel on permet d'atteindre une concentration élevée par fermentation.
- Des cellules séchées, concentrées, en poudre, en capsule ou en comprimés.

Les nouvelles technologies, comme la Micro encapsulation et la technologie des cellules immobilisées, offrent une protection additionnelle aux organismes probiotiques et de nouvelles façons d'inclure des probiotiques dans les produits alimentaires. Les fabricants commercialisent de nouveaux vecteurs d'administration de probiotiques comme des pailles et des capsules de bouteille qui, lorsque percées ou brisées, délivrent des doses thérapeutiques de probiotiques dans un produit alimentaire (**Kailasapathy, 2002; Patterson, 2008**).

I.2. Les bactéries lactiques à potentiel probiotique

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes vivants et unicellulaires, Grams positifs (avec GC% bas) en forme de bâtonnet ou de coque, immobiles et ne sporulent pas, elles ont également un métabolisme aérobie facultatif et ne produisent pas de catalase (**Sillanpaa, 2001; Fooks et Gibson, 2002**).

Les bactéries lactiques sont très répandues dans la nature, et se retrouvent partout où il y a de fortes concentrations de glucides, de produits de dégradation des protéines, de vitamines et peu d'oxygène, Elles sont présentes dans le tube digestif, peuvent résister en milieu acide (pH=4) et persister plus longtemps dans l'intestin grâce à un pouvoir d'adhésion ou à l'utilisation préférentielle de certains de ses constituants (Servin et Coconnier, 2004).

Leur taxonomie des bactéries lactiques est en évolution permanente et le nombre de nouvelles espèces a augmenté au cours de ces dix dernières années. La classification peut se faire selon des critères phylogénétiques, la composition en G+C de l'ADN et la composition en acides gras (Vandamme, 1996; Stiles et Holzopfel, 1997). La figure suivante décrit les différents genres de groupe de bactéries lactiques (Figure 02)

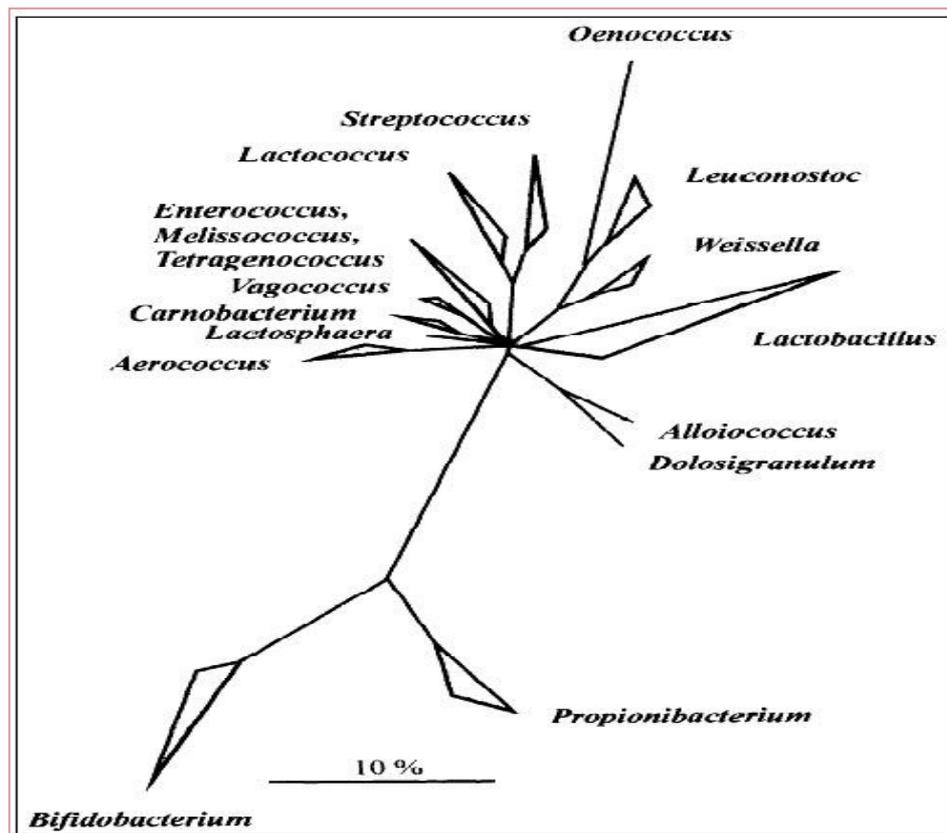
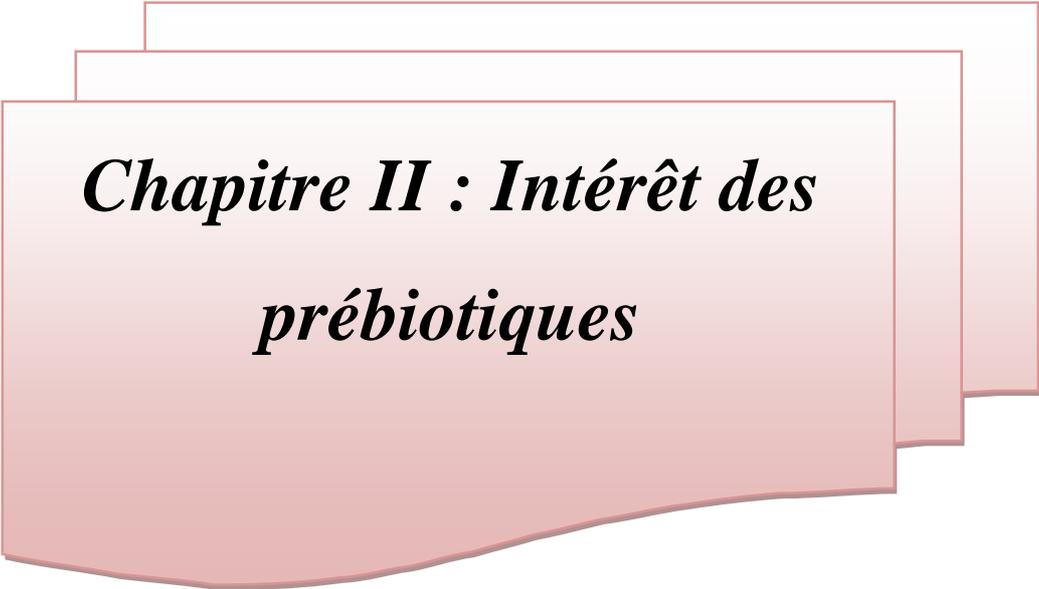


Figure 02 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres Associés (Stiles et Holzapfel, 1997).

Les bactéries lactiques peuvent jouer une activité probiotique ; les principales souches reconnues en tant que probiotiques chez l'humain sont des bactéries appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus* **Tableau IV** et des levures du genre *Saccharomyces*.

Tableau IV : Effets de quelques espèces de bactéries lactiques à potentiel probiotique.

L'espèce	Description	Effet	Référence
<i>Bifidobacterium animalis</i>	C'est une bactérie anaérobie, Gram positive, sous forme de tringle qui peut être trouvée dans les gros intestins.	<ul style="list-style-type: none"> • Prévenir tous types d'infections de rhumes et quelques formes de cancer. • Empêche la prolifération des bactéries pathogènes dans les intestins avec la réduction du pH et production d'acides 	(Axelsson <i>et al.</i> , 2004; Pilet <i>et al.</i> , 2005 ; Ho <i>et al.</i> , 2007)
<i>Lactobacillus casei</i>	Présente dans la flore intestinale et dans la bouche, trouvée sous la forme de bacille, elle est de gram positif.	<ul style="list-style-type: none"> • Aide à la propagation de bactéries bénéfiques. • Produit de l'enzyme amylase qui permet la digestion des glucides. • Réduit l'intolérance au lactose et la constipation 	(Khalid et Marth, 1990; Leclerc <i>et al.</i> ,1994)
<i>Lactobacillus reuteri</i>	C'est une bactérie gram-positif. Anaérobie et homofermentaire.	<ul style="list-style-type: none"> • Contribue à la prévention des inflammations destructrices. • Permet le maintien de l'intégrité intestinale. • Inhibe la croissance de certaines bactéries. 	(Khalid et Marth, 1990; Leclerc <i>et al.</i> , 1994)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	C'est une bactérie à gram positif, Trouvée dans l'étendue digestive, dans la bouche, les intestins et le vagin.	<ul style="list-style-type: none"> • Améliore la valeur alimentaire. • Contribue à la dégradation des aliments et produit ainsi du peroxyde d'hydrogène et l'acide lactique. • Permet de se prémunir contre les infections et les maladies. 	(Gomez et Malcata, 1999)



***Chapitre II : Intérêt des
prébiotiques***

II.1. Les prébiotiques

II.1.1. Définition

Le terme «prébiotique» est utilisé pour décrire les compléments alimentaires non digestibles par l'hôte, mais qui améliorent la santé en stimulant sélectivement la croissance et / ou les activités d'une ou d'un nombre limité de bactéries gastro-intestinales. (**Gibson et Roberfroid, 1995**)

Cette définition a été mise à jour en 2004. Les prébiotiques sont maintenant défini comme ingrédients fermentescibles sélectifs qui permettent des changements spécifiques, à la fois dans la composition et / ou de l'activité de la microflore gastro-intestinale qui confère des avantages sur le bien-être et la santé de l'hôte». (**Gibson et al., 2004**)

L'effet d'un prébiotique est essentiellement indirecte du fait qu'il alimente sélectivement une ou un nombre limité de micro-organismes provoquant ainsi une modification sélective de la microflore intestinale de l'hôte. Ce n'est pas le prébiotique en soi, mais plutôt les changements induits dans la composition de la microflore qui sont responsables de ses effets. Les genres bactériens les plus importants ciblés pour la stimulation sélective sont les bifidobactéries et les lactobacilles. (**Wang, 2008**)

Pour qu'un ingrédient alimentaire puisse être considéré comme un prébiotique, il doit répondre à ces trois caractéristiques :

- ✓ Etre capable de résister aux processus digestifs avant d'atteindre le côlon et de préférence persister tout au long du gros intestin. (**Gibson et al., 2004**)
- ✓ Etre un substrat sélectif d'une ou de plusieurs bactéries commensales ayant un rôle bénéfique.
- ✓ Modifier la composition de la flore intestinale dans un sens favorable à la santé (**Collins et Gibson, 1999**), soit en favorisant la croissance de bactéries bénéfiques, soit en atténuant celle des souches pathogènes.

II.1.2. Source de prébiotiques

L'alimentation fournit plusieurs sources de prébiotiques qui peuvent se retrouver naturellement dans les fruits et les légumes tels que l'oignon, l'ail, blé, banane, topinambour, avoine, orge et dans la plupart des légumineuses (**Tableau V**). Les prébiotiques peuvent aussi être extraits de certaines plantes (la racine de chicorée par exemple) ou créés à partir d'autres ingrédients avant d'être ajoutés aux aliments, à des comprimés ou dans les boissons.

Tableau V : Teneurs en prébiotiques 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
Haricot	5,6	30-35	17	2,2	2,5-4
Pois	60,10	46-48	12-16	2,7	6
Soja	40	8	5-12	20	5
Blé	68	70	8-10	2,50	2

II.1.3. Différents types de prébiotiques

Du fait du métabolisme des bactéries lactiques et des différentes enzymes digestives, les prébiotiques ne peuvent pas être de nature protéinique ou lipidique mais plutôt glucidique (**Cummings et MacFarlane, 2002**). Les prébiotiques les plus utilisés actuellement sont les oligosaccharides (**Delzenne, 2003**). Le **Tableau VI** décrit les principaux prébiotiques commercialisés.

Tableau VI : Exemples de composés prébiotiques commercialisés (**Grizard et Barthomeuf, 1999 ; Franck, 2002**).

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

➤ **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**).

➤ **L'inuline :**

C'est un polymère de fructose (**Figure 03**), avec des liaisons de type β (2,1) ; il s'agit d'un glucide non hydrolysé et non absorbé dans l'intestin grêle, mais dégradé par la flore colique (**Adrian et al., 2003**).

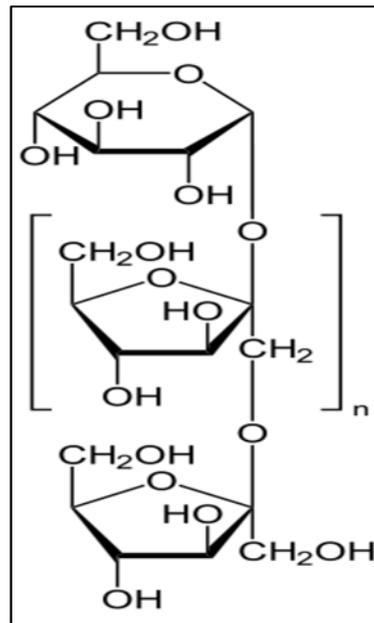


Figure 03: Structure de l'inuline (Sako *et al.*, 2011).

➤ 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 04**) 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)

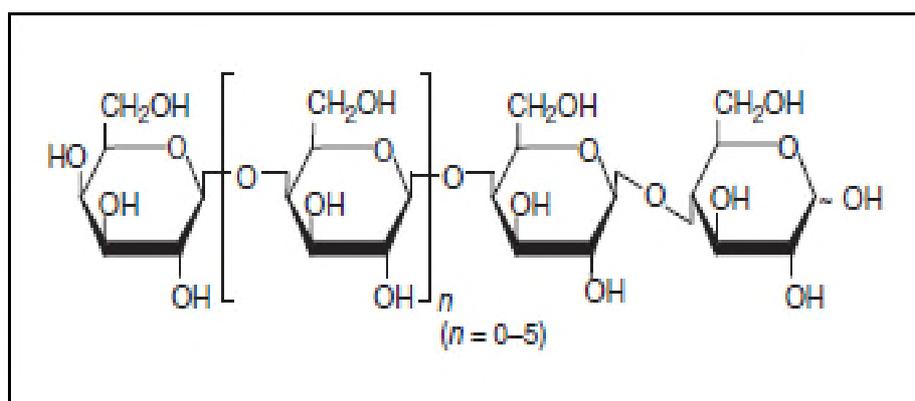


Figure 04 : Structure de galacto-oligosaccharides (GOS) de type- β 1,4 (Sako *et al.*, 2011).

II.1.4. 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.*, 2004b). Les acides gras à courte chaîne tels que les acides acétique, butyrique et propionique sont les produits majeurs de la fermentation des prébiotiques dans le côlon (Cummings *et al.*, 2001 ; Marteau *et al.*, 2004b).

Les travaux de Bouhnik *et al.* (1997) montrent (Figure 05) que la concentration en acides gras à courte chaîne au temps 0 entre le 1^{er} et le 7^{ème} jour est comprise entre 50 et 100mmol/l ; cette concentration augmente après 2h et 5h pour le 1^{er} et 2^{ème} jour. Pour les 7^{ème} et 14^{ème} jours, la concentration des acides gras à courte chaîne après 2h est voisine de celle mesurée après 5h et la proportion moyenne de l'acide acétique est comprise entre 51 et 65% entre le 1^{er} et le 7^{ème} jour dans tous les temps.

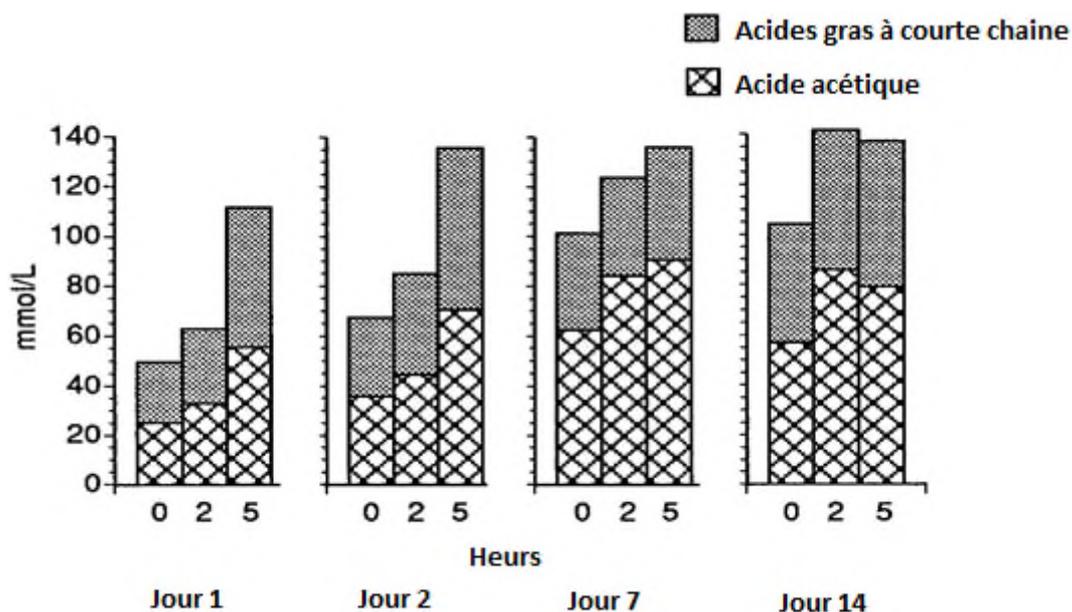


Figure 05 : Effet de 10g de transgalacto-oligosaccharides sur la concentration des acides gras totaux à courte chaîne et de l'acide acétique (Bouhnik *et al.*, 1997).

II.1.5. Effets des prébiotiques

II.1.5.1. Effets de prébiotiques sur la flore intestinale

Plusieurs évidences démontrent que l'administration des différents prébiotiques (inuline, fructo-oligosaccharides) induit une modification significative de la microflore intestinale, en augmentant le nombre de bifidobactéries et l'acide lactique (Bruzzese *et al.*, 2006).

Bouhnik et al. (1997) ont rapporté que l'ingestion de 10g de transgalacto-oligosaccharides pendant 21 jours stimulait la croissance des bifidobactéries et augmentait leur concentration au niveau du côlon ; elle n'a aucun effet sur les entérobactéries (**Figure 06**).

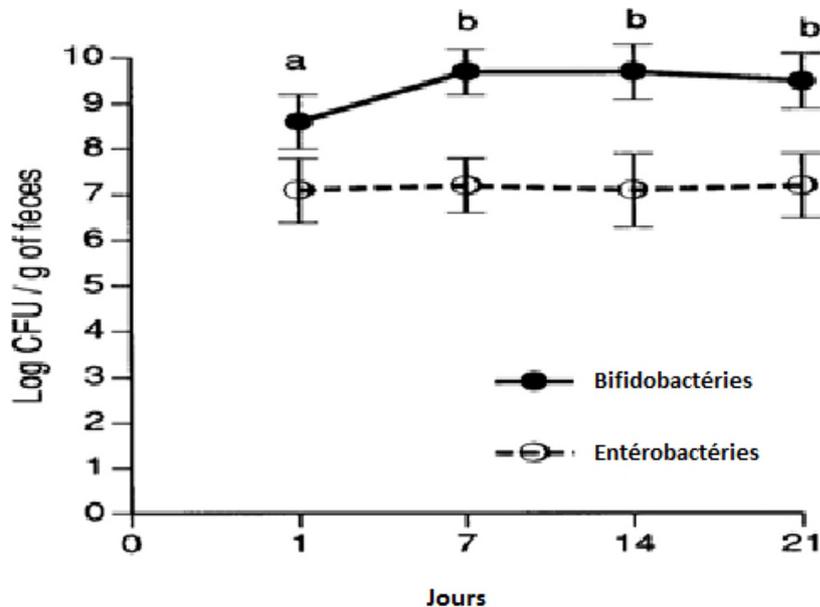


Figure 06 : Concentration des bifidobactéries et des entérobactéries dans les selles de volontaires après ingestion de 10g de transgalacto-oligosaccharides pendant 21 jours (**Bouhnik et al., 1997**).

Les résultats indiquent que la concentration des bifidobactéries est significativement importante dans les 7^{ème}, 14^{ème}, et 21^{ème} jours en le comparant avec le jour 1; elle est de $8,6 \pm 0,6$ log UFC/g dans le 1^{er} jour et de $9,7 \pm 0,6$ et $9,5 \pm 0,6$ dans les autres jours. Alors que la concentration des entérobactéries n'est pas encore affectée durant l'ingestion des transgalacto-oligosaccharides.

Certaines expérimentations *in vitro* ont rapporté l'effet bifidogène de quelques prébiotiques ; ces derniers stimulent la croissance des bifidobactéries et autres souches. **Wang et Gibson. (1993)** ont montré, après 12h d'incubation des selles humains dans des lots de cultures en anaérobiose en présence de 7g/l de fructose, l'amidon, l'inuline et les fructo-oligosaccharides de la chicorée. La croissance des bifidobactéries est plus élevée en présence des fructooligosaccharides à des quantités de 25g/jour de ce prébiotique (**Figure 07**)

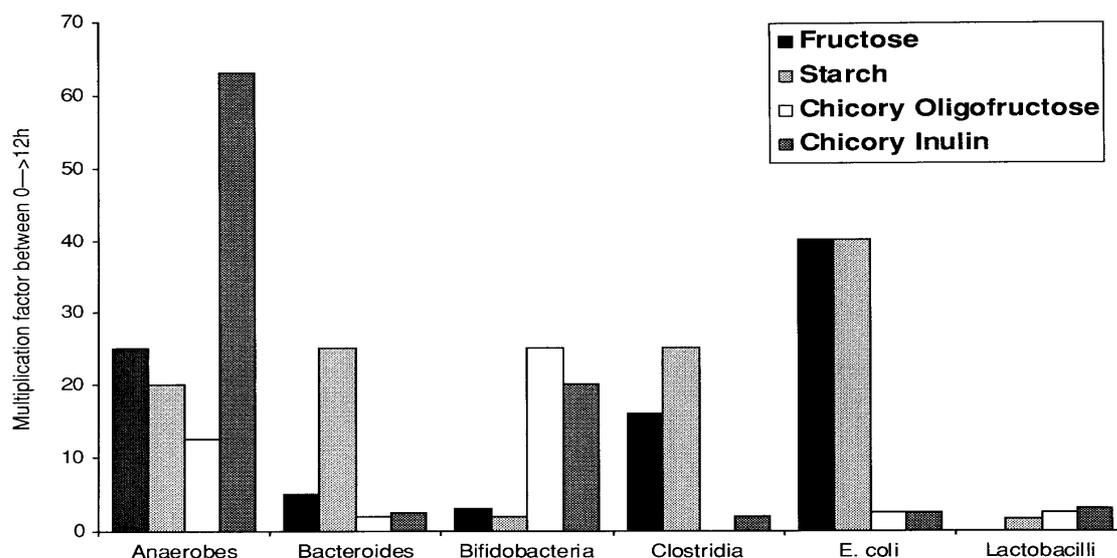


Figure 07 : Changements dans les nombres de bactéries fécales humaines après l'incubation pour 12 h dans la présence de 7 g/L du fructose, amidon, fructo-oligosaccharides et l'inuline. (Valeurs calculées de Wang et Gibson,1993).

Le **Tableau VII** illustre une autre étude de ces deux auteurs (**Gibson et Wang, 1994b**) ayant utilisé des cultures bactériennes inoculées avec 160 g/L de selles fécales ; les fructo-oligosaccharides de la chicorée sont capables de stimuler l'augmentation du bifidobactéries sélectivement. Le nombre de ces bactéries était presque trois fois plus élevé que les Bactéroides alors que dans le cas du glucose utilisé comme substrat, les Bactéroides étaient d'ordres deux fois plus élevé que les bifidobactéries.

Tableau VII : Composition de la microflore de selles fécales humaines (100 g/l) après six rotations dans un continu qui contient du glucose, Fructooligosaccharides et l'inuline comme le substrat de l'augmentation (10 g/l) (**Gibson et Wang, 1994b**).

Types de Bactéries	Glucose	Fructooligosaccharides de la chicorée	Inuline de la chicorée
Anaérobies	13,4	12,6	12,1
Bactéroides	12,0	9,4	9,3
Bifidobactéries	10	12,7	12,1
Clostridia	9.9	8.4	9.6
Coliforms	5.3	5.5	5.3
Lactobacilles	10.5	7.3	<8

II.1.5.2. Effets cliniques de l'administration des prébiotiques

➤ L'amélioration de l'absorption des minéraux

Les prébiotiques jouent un rôle important dans l'augmentation de l'absorption des minéraux, comme le montrent les résultats obtenus principalement dans des modèles animaux expérimentaux. Plusieurs études ont montré que l'absorption intestinale du calcium (Ca) et le magnésium (Mg) a été augmentée par l'utilisation de prébiotiques. Les données préliminaires ont montré que les fructanes à chaîne courte augmentent l'absorption de Mg, tandis que l'effet d'absorption du calcium est moins prononcé (**Bruzzese et al., 2006**).

➤ 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, avec comme conséquence directe, l'amélioration des habitudes de défécation. Ainsi, un soulagement de la constipation a été obtenu chez les sujets traités constipés chronique met par l'inuline (**Bruzzese et al., 2006**).

Tableau VIII : le potentiel nutritionnel et effets thérapeutiques de certains prébiotiques (Saad *et al.*, 2012).

Substrats	Type de l'étude	Effets thérapeutique
FOS, inuline et/ ou en symbiotique au prébiotique	<i>In vitro</i>	➤ Inhibition des pathogènes humains et animaux.
Inuline	Etude expérimentale	➤ L'amélioration de rat colite distale. ➤ Stimulation de l'absorption du Ca et Mg intestinales.
Inuline enrichie en oligo-fructose	Sur des modèles animaux Sur des modèles humains et animaux	➤ L'amélioration de l'adsorption du calcium et les minéraux osseux. ➤ Immuno-modulation. ➤ Prévention du cancer. ➤ Concentration en lipides plasmatiques.
FOS/ GOS	En double insu, les essais contrôlés randomisés Sur des modèles rats	➤ Rechute de <i>Clostridium</i> difficile diarrhée associée ➤ Effets du cholestérol total et LDL-cholestérol chez l'enfant ➤ Augmentation des proportions des bifidobactéries. ➤ Simule lactobacillus et bifidobactéries ➤ Augmente les acides gras à courte chaîne dans le gros intestin. ➤ Réduire les ulcérations coliques.
Xylo-oligosaccharides (XOS)	Des volontaires humains, des modèles de rats et souris	➤ Effet bifidogène et augmentation des acides gras à courte chaîne dans les fèces.

II.2. Les symbiotiques

II.2.1. Définition

Un symbiotique est un mélange de prébiotiques et de probiotiques, dans lequel le composé prébiotique soutient la croissance des microorganismes probiotiques ou d'autres bactéries bénéfiques pour l'hôte. Il est de plus en plus utilisé pour exprimer la relation synergique entre les microorganismes bénéfiques et viables et leurs substrats sélectifs (Schrezenmier et Vrese, 2001). L'objectif est d'améliorer la survie et l'activité des probiotiques éprouvés *in vivo*, et stimuler les bifidobactéries et les lactobacilles indigène.

Un fructo-oligosaccharide peut être associé de cette manière à une souche de bifidobactéries ou bien du lactitol à un lactobacille (**Gibson *et al.*, 1995**).

II.2.2. Intérêt des symbiotiques

L'intérêt d'utilisation d'un symbiotique est de favoriser la croissance des probiotiques par la fourniture de substrat spécifique pour la fermentation. En absence de ce dernier, d'autres bactéries se développeront au détriment des probiotiques en créant des conditions (pH, oxygène, température) défavorable à ces derniers.

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

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

Symbiotique	Observations	Références
Inuline + Bifidobacterium spp,	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation supplémentaire du nombre de bifidobactéries. 	(Bouhnik <i>et al.</i>, 1996)
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 <i>et al.</i>, 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 contestées avec l'azoxymethane cancérigène. 	(Femia <i>et al.</i>, 2002)
L. acidophilus et B. longum + FOS	<ul style="list-style-type: none"> • Amélioration significative du rapport (LDL / HDL) cholestérol. 	(Kieran <i>et al.</i>, 2003)



Partie pratique



***Chapitre I : Matériel et
Méthodes***

Objectif du travail

Notre travail porte sur l'évaluation de l'effet prébiotique de graines de légumineuses sur la viabilité de probiotiques suivis au cours de 28 jours de stockage.

I.1. Matériel végétal

I.1.1. Origine et provenance des Graines

Nous avons utilisé trois graines de légumineuses :

- Fève «*Vicia faba major*» : récoltée dans la zone de Remila, Sidi aich, dont la longueur de sa graine aplatie peut atteindre 2,5 à 3 cm. **(b)**
- Fèverole «*vicia faba minor L*» : la graine plus ou moins cylindrique ou ovoïde, provien de Merdj Ouamane- Amizour de la wilaya de Bejaia. **(c)**
- Une variété de lentille «*Lens culinaris*» : c'est une variété de l'esculenta de la Lentille avec les cotylédons jaunes qui ont été fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC), Sétif. **(a)**

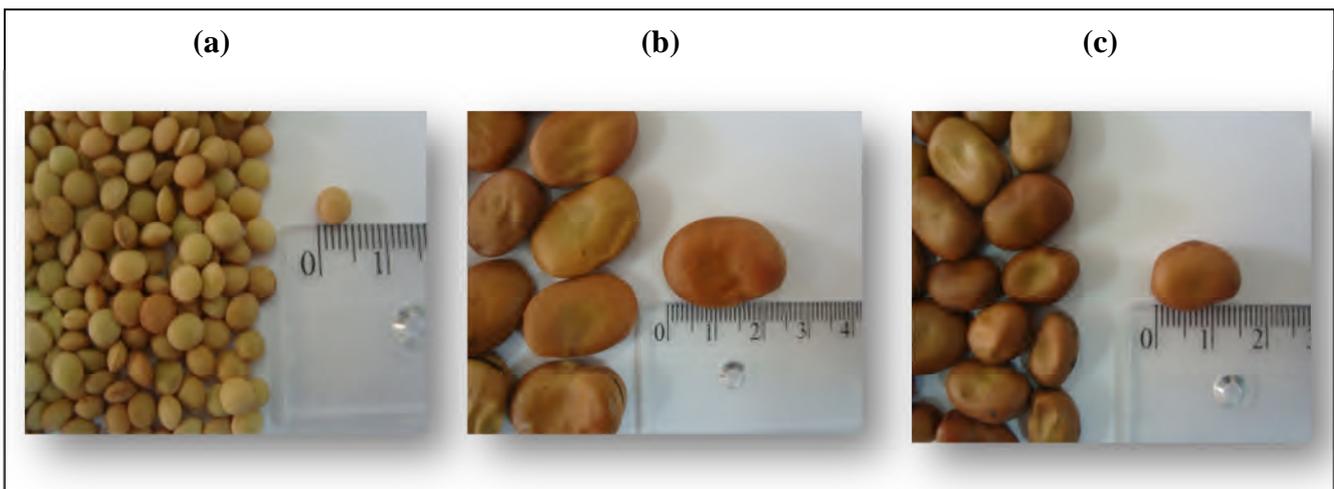


Figure 08: les échantillons utilisés; lentille **(a)**, fève **(b)**, Fèverole **(c)**

I.1.2. Classification botanique des graines

Fève et Fèveole

Lentille

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Fabales

Famille: Fabaceae

Genre:

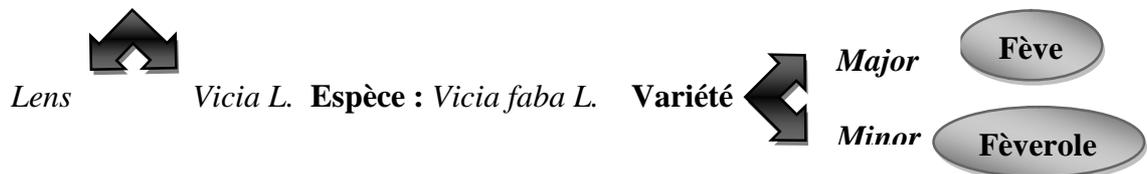


Figure 09: Classification de *Lens culinaris* et *Vicia faba* (Akroum, 2005)

I.1.3. Préparation des échantillons

Les graines de Fève ont été triées, et les graines saines ont été nettoyées, séchées à l'air libre et séparées manuellement en téguments et cotylédons. Tous les échantillons de fèveole et la lentille entière ont été d'abord écrasés grossièrement dans un moulin de pierre traditionnel (**Figure 10**), broyés au moyen d'un broyeur électrique (IKA élément essentiel A11) (**Figure 11**), puis tamisés à l'aide d'une tamiseuse (**Figure 12**) du laboratoire (Tap sieve shaker AS 200; Retsch GmbH, Haan).



Figure 10 : Moulin traditionnel

Le décorticage des lentilles a été réalisé suivant la méthode décrite par (Boudjou *et al.*, 2012). Les poudres obtenues ont été conservées dans des sacs en plastiques et gardées dans un réfrigérateur.



Figure 11: Broyeur “ IKA A11basic ”



Figure 12: Tamiseuse électrique “ Relesch-AS200 ”

I.2. Les cultures microbiennes

Les cultures microbiennes utilisées comprennent deux ferments lactiques et deux souches probiotiques, cultivées dans le bouillon MRS (Man, Rogosa et Sharpe) à 37 ° C pendant 24 heures. Elles sont ajustées à une absorbance comprise entre 0,7 à 0,9 après un lavage à l'eau stérile (Agil *et al.*, 2013).

I.3. Préparation du yaourt :

Dans un erlenmeyer de 1000ml, du lait Tchic Candia (1.6% de matières grasses) est pasteurisé à 85°C pendant 15 mn sur une plaque chauffante puis refroidi dans un bain marie à 42°C, 2g de poudre de ferments lactiques sont ajoutés et l'ensemble est agité pendant 5mn et versé dans des flacons de 50ml. Le dispositif expérimental suivi est résumé dans le **Tableau X**.

Chaque échantillon de poudre de légumineuses est incorporé à raison de 2g pour 50 ml de yaourt. Cette concentration (4%) est identifiée par Agil *et al.* (2012) comme étant la quantité maximale d'échantillon qui pouvant être ajoutée au yaourt sans perturber la fermentation.

Les lots du yaourt ont été préparés en triples et incubés à 42 °C pendant 24h.

Tableau X: Dispositif expérimental

Microorganismes	Poudres	Code d'échantillon
Y1	-	1
Y2+Prob1	-	2
Y3+Prob2	-	3
Y4+Prob1+Prob2	-	4
Y1	+	1P
Y2+Prob1	+	2P
Y3+Prob2	+	3P
Y4+Prob1+Prob2	+	4P

(+) : Avec poudre, (-) : Sans poudre, (Y): yaourt standard contient les ferments lactiques.

P: Poudres des échantillons :

WF: fève entière

WL: lentille entière

Wfr: fèverole entière

Cfr: cotylédon de la fèverole

I.4. 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). 10µl de chacune des trois dernières dilutions ont été étalée par la méthode des stries sur des boîtes de Pétri contenant la gélose MRS qui sont incubées à 40°C pendant 24h.

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

I.5. Analyses physico-chimiques

I.5.1. 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.

I.5.2. Mesure de l'acidité

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

Dans un bécher, Nous avons versé le contenant de l'échantillon dans le tube (10^{-1}), puis ajoutons quelques gouttes de phénolphtaléine à l'aide d'une pipette en plastique. Nous avons titré ensuite avec une solution NaOH (0,1N) jusqu'à la persistance de la couleur rose et notons le volume du NaOH. Elle est calculée chaque semaine jusqu'au 28^{ème} jour.

➤ Expressions des résultats

L'acidité titrable (TTA%) est 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.

I.5.3. Extraction et Dosage des glucides totaux

La détermination des glucides totaux est réalisée par la méthode colorimétrique à l'antrone décrite par **Osborne et Voogt. (1986)**.

I.5.3.1. Extraction

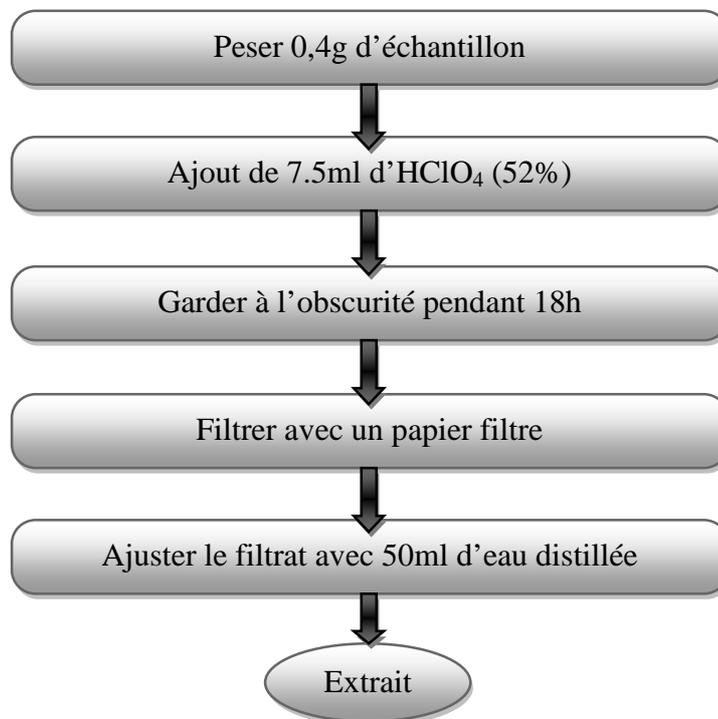


Figure 13 : Etapes d'extraction des Glucides totaux (Osborne et Voogt, 1986).

I.5.3.2. Dosage

Les extraits collectés sont utilisés pour le dosage des glucides totaux comme suit:

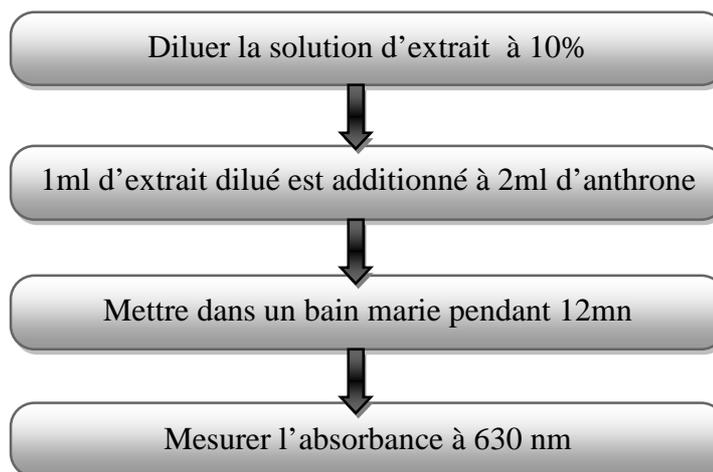
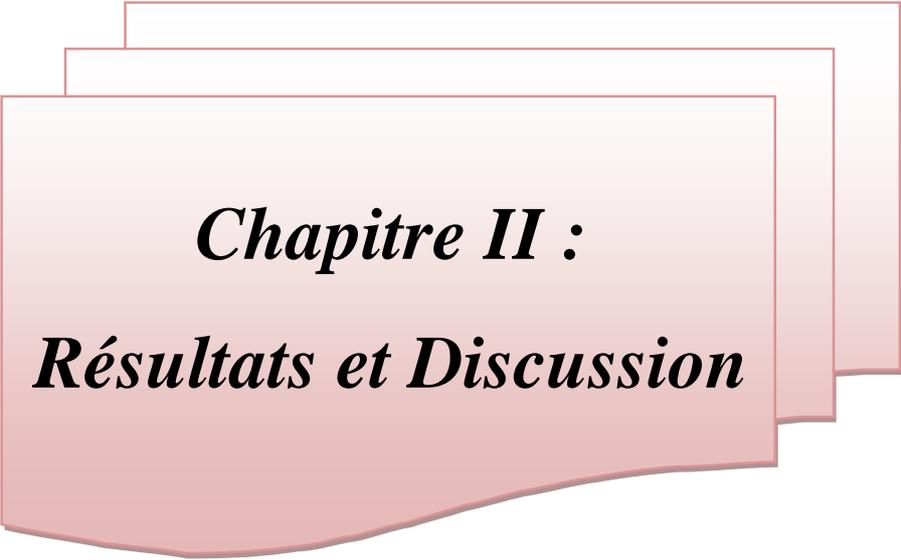


Figure 14: Etapes de dosage des Glucides totaux (Osborne et Voogt, 1986).

Les valeurs d'absorbance des différents extraits ont été comparées à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions (**Annexe 2**) avec le glucose pris comme standard.

I.6. Analyses statistiques

Le traitement statistique des résultats est réalisé au moyen du logiciel STATISTICA : analyse de la variance (ANOVA) et comparaison multiple des moyennes. Les résultats sont considérés significatifs à $P < 0,05$.



Chapitre II :
Résultats et Discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Teneur en Glucides

L'analyse statistique de nos résultats montre (**Tableau XI ; Annexe 3**) un effet hautement significatif de chacun des deux facteurs (Graine et partie de la graine) mis en jeu sur les teneurs en glucides.

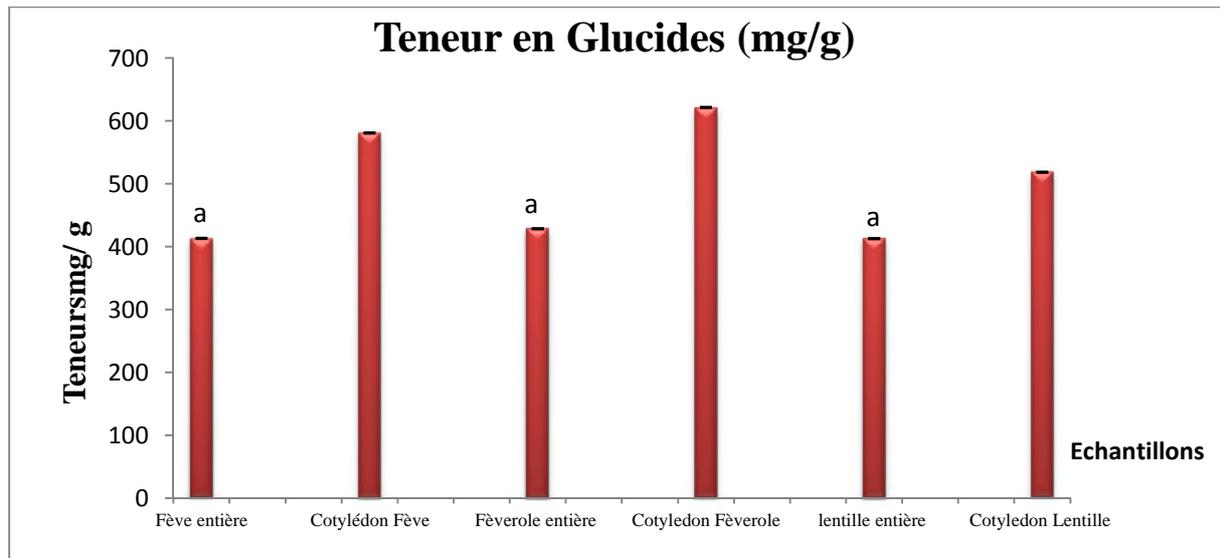


Figure 15 : Teneurs en Glucides totaux

Les teneurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes entre elles ($P > 0,05$).

La comparaison multiples des moyennes (**Figure 15**) révèlent des différences significatives ($P < 0,05$) de teneurs en Glucides.

Les trois graines entières se caractérisent par ces teneurs en glucides comparables ($P > 0,05$) et varient de 412,43 à 428,50 mg/ g d'échantillon.

Nos données sont inférieures à celles rapportées par **Roudaut et Lefrancq. 2005**.

Les cotylédons issus du décorticage des graines diffèrent significativement ($P < 0,05$) entre (518,1 à 621,1mg/g). Ces différences sont liées aux proportions des téguments dans la graine et aux teneurs de ces mêmes en glucides

II.2. Evolution des paramètres fermentaires

II.2.1. Evolution du pH

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

Nos données analytiques montrent que l'addition de poudre de graine de légumineuse s'accompagne d'une baisse de pH dès le 1^{er} jour. Cette réduction varie de 6.6 à 0.99% les baisses les plus importante sont notés pour le cotylédon du Fèverole.

Au cours du stockage le pH des différents échantillons diminue d'une semaine à une autre. L'analyse de nos données décrit 2 phases :

- Une première phase au cours de laquelle le pH accuse une forte baisse (9.8 à 10.8%) et qui s'établit pendant les deux premières semaines.
- La deuxième phase se caractérise par une baisse du pH beaucoup plus progressive et s'étend sur les deux dernières semaines. Les baisses du pH varient de 0.35 à 5.75%.

Nous notons aussi que l'addition de poudre s'accompagne d'une plus forte baisse du pH par rapport aux témoins correspondants.

La comparaison multiples des moyennes enregistrés montre des différences significatives entre échantillons et détermine groupe homogènes (**Tableau XII Annexe**).

II.2.2. Evolution de l'acidité

Chacun des facteurs prébiotique et probiotique exerce un effet significatif ($p < 0,05$) sur les résultats enregistré (**Tableau XIII Annexe**).

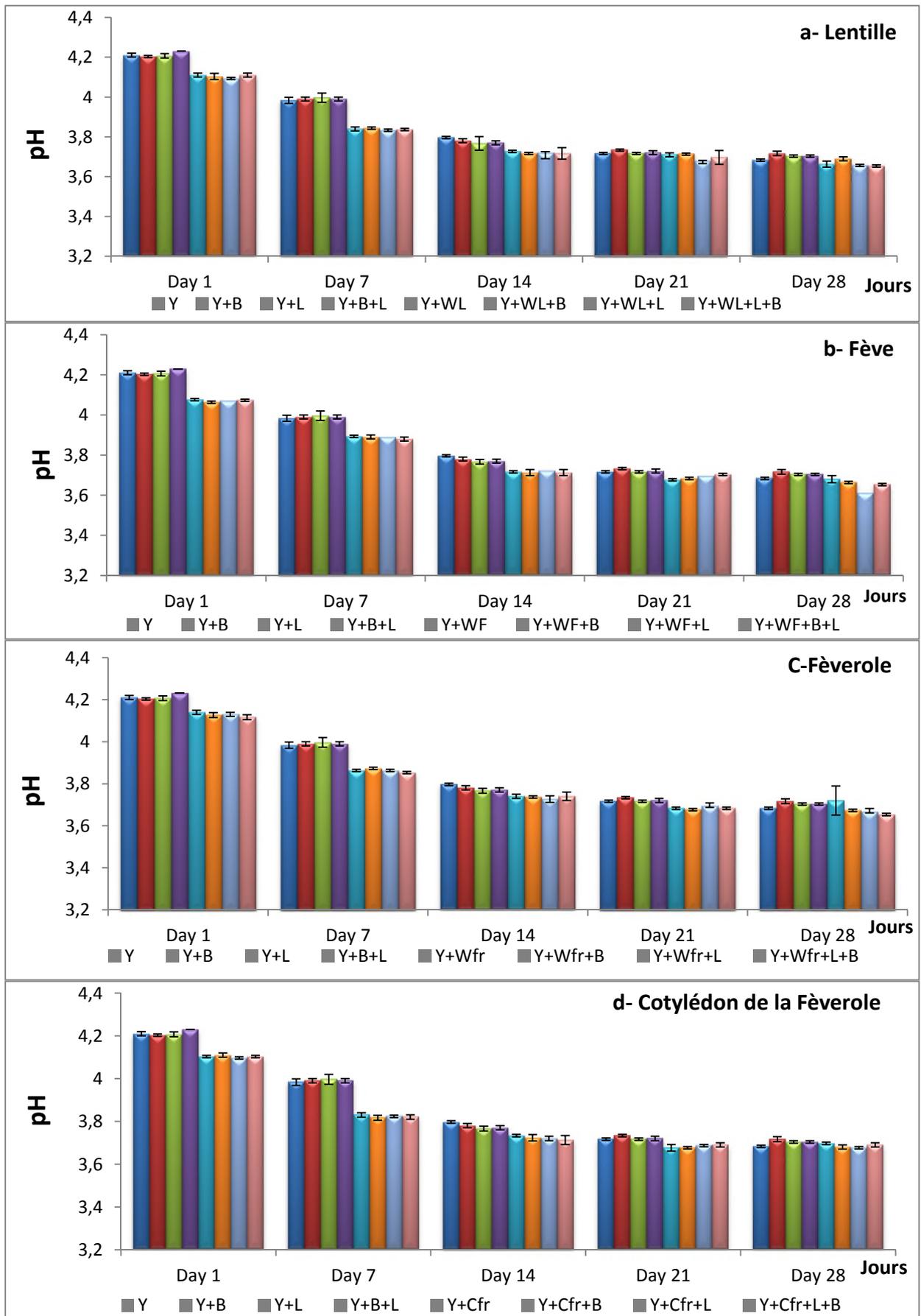


Figure 16 : Evolution du pH

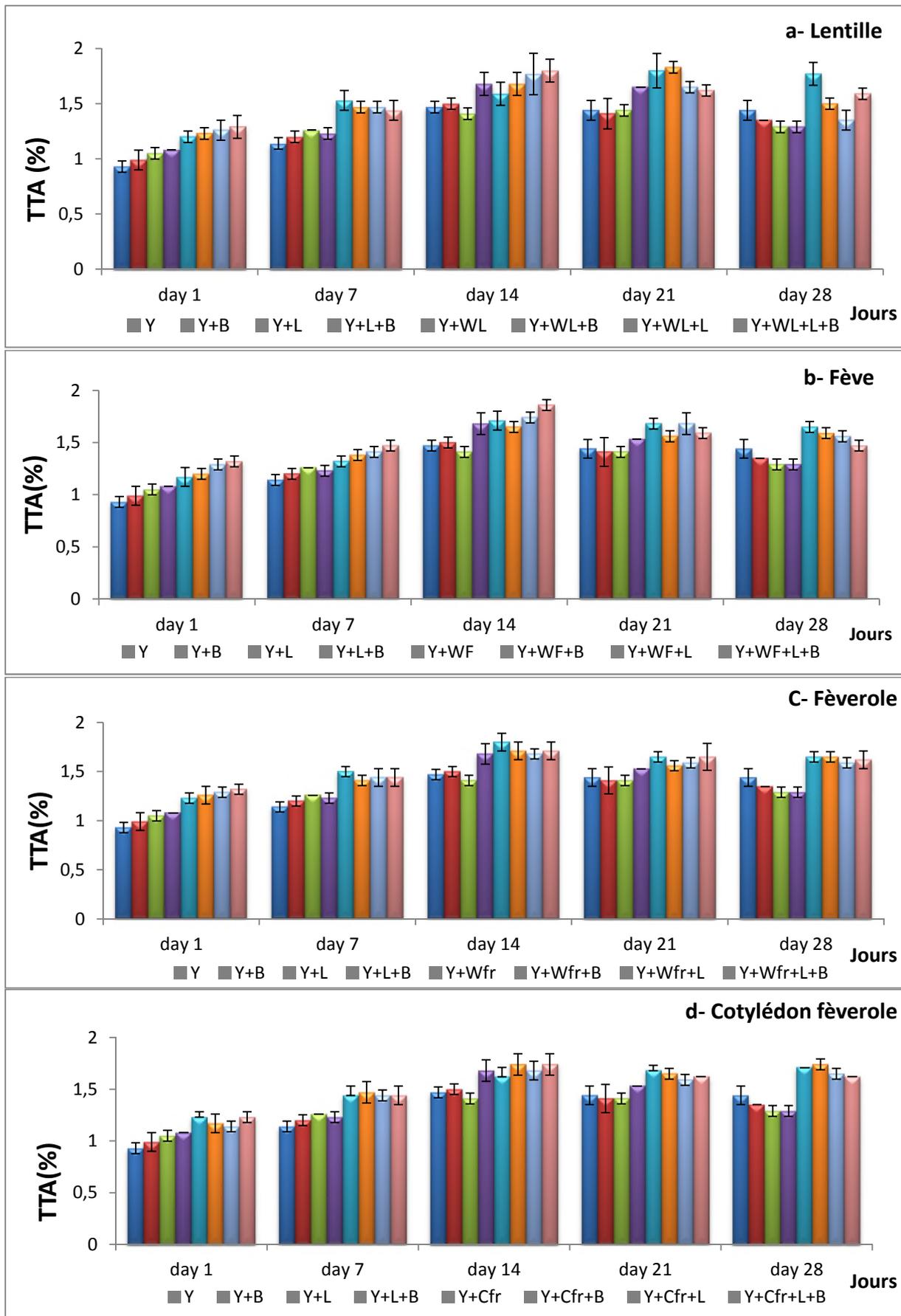


Figure 17 : Evolution de l'acidité titrable totale

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

Dans un premier temps, nous observons une forte augmentation allant de 3.92 à 36.58%. Pendant cette phase, les échantillons avec poudres de légumineuses manifestent des augmentations variables par rapport aux témoins correspondants (3.92 à 29.5 contre 11.9 à 36.58) respectivement.

La valeur maximale de l'acidité est atteinte au 14^{ème} jour de stockage (1.41 à 1.86%). Pour les échantillons contenant les prébiotiques le maximum varie de 1.74 à 1.86%.

Au-delà, nous notons la deuxième étape qui se caractérise par une diminution de l'acidité. Cette dernière varie et s'établit entre 1.29 à 1.77%. Au cours de cette phase, les échantillons témoins manifestent les plus faibles diminutions (2 à 24%) comparativement aux échantillons avec poudres de légumineuse. Pour ces derniers les baisses du TTA varient de 1.78 à 23.72 et dépendent de la nature de la poudre utilisée et du probiotique associés.

Y+WL+L et Y+WF+L+B affichent les plus fortes diminutions des concentrations en acide lactique : 23.72 et 20.96% respectivement.

L'analyse comparative des moyennes révèle des différences significative entre elle ($p < 0,05$). Les groupes homogènes sont résumés dans le **Tableau XIII Annexe**.

II.2.3. Discussion

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 différentes poudres de légumineuses, les bactéries sont plus actives comme en témoigne la production d'acide lactique.

Dans nos conditions expérimentales, la production d'acide lactique est plus faible que celle emportée par **Agil et Hosseinein (2012)** pour les lentilles verts canadiennes et **Almeida et al, (2008)** pour la pulpe d'açaï.

Agil et Hosseinein, 2012 et Asil et al.2013 rapportent que la baisse d'acidité du yaourt observée à partir de la 3^{ème} semaine entre deux semaines dans notre cas. Ces données traduisent ces différences d'utilisation des prébiotiques comme source de glucides.

L'acide lactique est l'acide le plus produit par les probiotiques durant la fermentation du glucose (**Drakoularakou et al., 2011**).

Des métabolites (lactate et éthanol) sont des produits de fermentation du glucose qui n'affectent pas le pH mais exerce un effet positif sur la viabilité des cellules.

II.3. Croissance et viabilité des souches

Les différents résultats de dénombrement bactérien sont résumés par la **Figure 18**.

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

En accord avec **Agil et al. (2013)**, nous notons que c'est en présence de probiotiques que le nombre de CFU/ml est plus important.

A l'issue de la période de conservation, la croissance bactérienne s'établit dans une gamme comprise entre 7.9 à 8.78 log CFU/ml pour les échantillons témoins contre 8.09 à 9.02 log CFU/ml pour les yaourts enrichis en légumineuses. Des observations similaires sont rapportées par **Esperito et al. (2010)** travaillent sur les poudres d'açaï.

Cette meilleure croissance des microorganismes s'expliquent (**Koplan et Hutkins, 2000**). Par un apport élevé en hydrate de carbones par les poudres utilisées 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) confèrent un effet positif sur les probiotiques en leurs servant de source d'énergie (**Koplan et Hutkins, 2000**).

Pour tous les échantillons de yaourt, la viabilité des bactéries est maintenue après le 14^{ème} jour ; ce nombre commence à baisser pendant au 28^{ème} jour de stockage. La réduction de la quantité de prébiotiques et de micronutriments dans le yaourt serait à l'origine de ce phénomène.

L'analyse comparative des moyennes révèle des différences significatives entre elle ($p < 0,05$). Les groupes homogènes sont résumés dans le **Tableau XIV Annexe**.

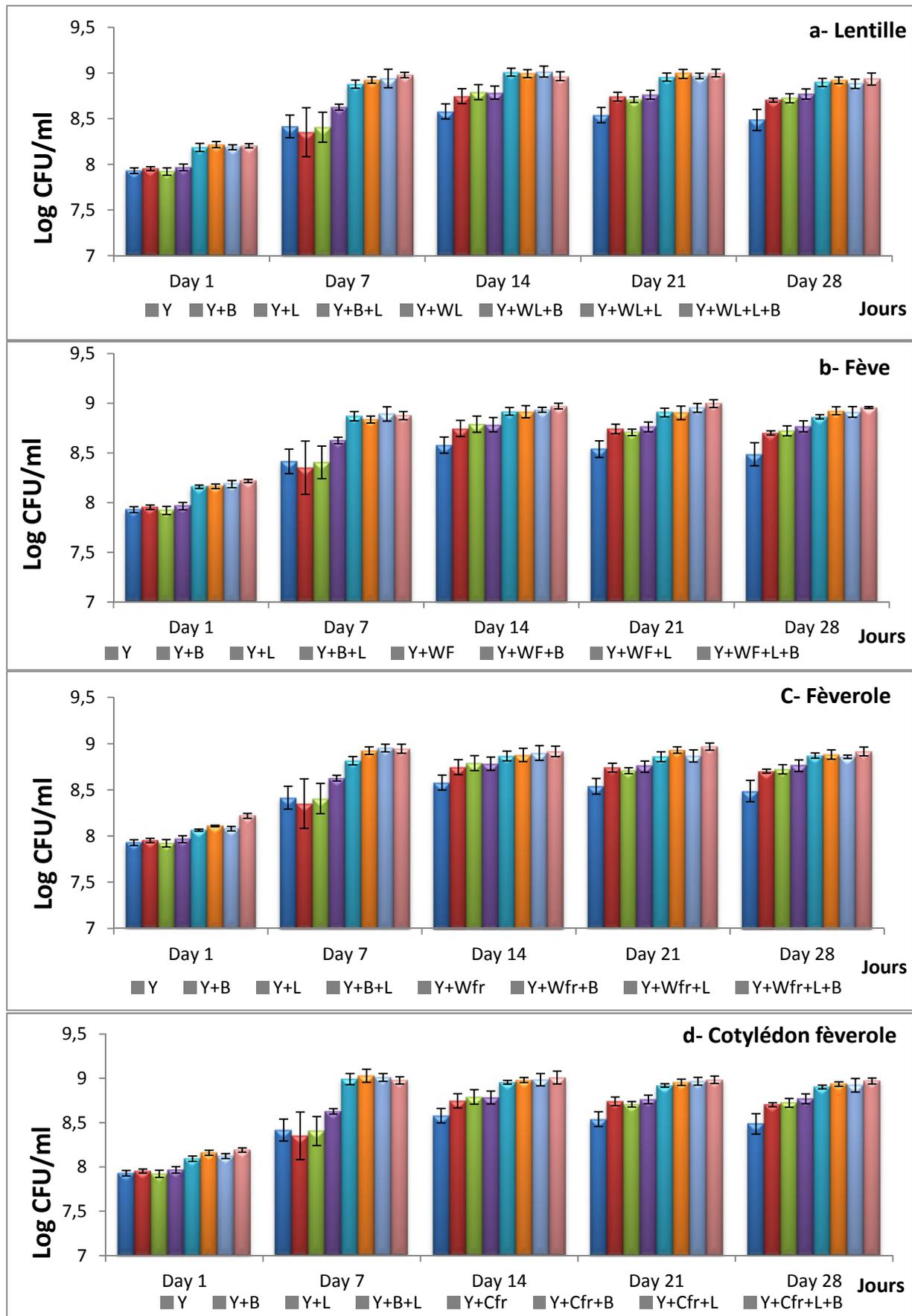


Figure 18 : Evolution des colonies



Conclusion

Conclusion et perspectives

La teneur en glucides des différents échantillons étudiés varie de 412,43 à 621,11mg/g. Les teneurs en glucides des Fèves, Lentille Fèverole décortiquées sont plus élevées que celles des graines entières avec des rapports de 40,5%, 44,94%, et 25,63% respectivement.

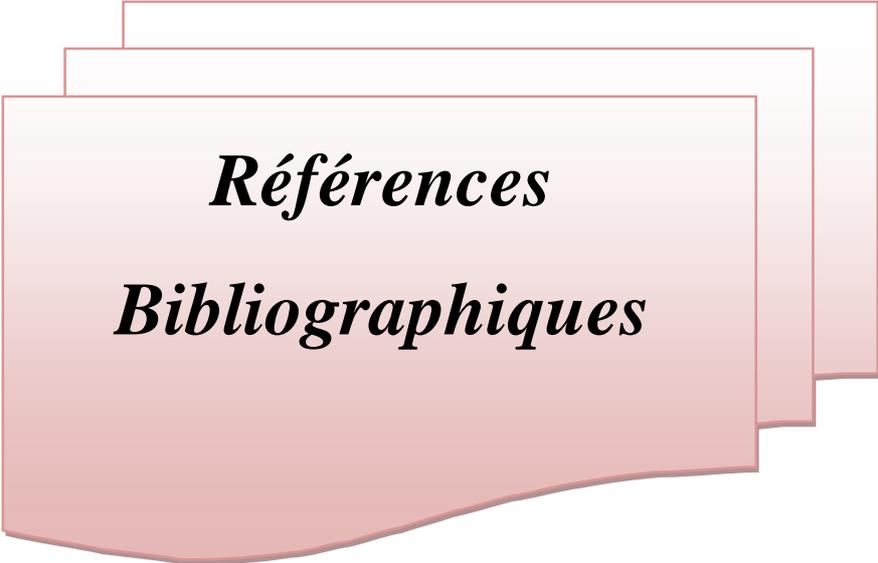
Les résultats obtenus montrent une augmentation de l'acidité (0,93% à 1,89%), et une diminution du pH (4,23 à 3,61) pendant la période de stockage. En présence des différentes poudres de légumineuses, les bactéries sont potentiellement plus actives et produisent plus d'acide lactique.

Le nombre de CFU dans le yaourt contenant à la fois la poudre de légumineuses et probiotiques est plus élevé que celui des échantillons contenant la poudre sans probiotiques et renferment la poudre de graine. A l'issue des 28 jours de stockage, l'utilisation des graines de légumineuses a permis de maintenir la croissance des souches bactériennes.

A partir d'une suspension bactériennes initiale de 6,62 Log CFU/ml, nous notons une masse microbienne qui s'établit dans une gamme de 7,92 à 8,78Log CFU/ml pour les yaourts témoins et de 8,09 à 9,02 Log CFU/ml pour les yaourts enrichis en prébiotique.

Les résultats de cette étude suggèrent que les légumineuses peuvent servir de nouveau prébiotique dans la formulation d'aliments fonctionnels et applications nutraceutiques. Ces derniers méritent d'être complétés, il serait intéressant :

- D'utiliser des milieux sélectifs pour Le dénombrement des souches bactériennes.
- D'approfondir l'étude des polysaccharides aussi bien autant que facteur de croissance des probiotiques dans le yaourt et leurs relation entre le potentiel prébiotique et la structure des polysaccharides.
- De réaliser une évaluation sensorielle pour les échantillons de yaourt.
- De réaliser des études sur des modèles animaux et essais cliniques pour déterminer l'effet du yaourt contenant des légumineuses sur la santé.



Références

Bibliographiques

-A-

Adjanooun E.J., Assi L.A., Floret J.J., Guindo S., Koumaré M., Ahyi A. M. R., 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, p 97.

Adrian J., Potus J., Frangne R. (2003). La science alimentaire de A à Z. 3^{ème} édition Tec et Doc Lavoisier. LONDRES-PARIS-NEW-YORK.579.

Agil R., Hosseeinian F.(2012). Dual Functionality of triticale as a novel Dietary Source of Prebiotics with Antioxidant Activity in Fermented Dairy Products . *Plant Foods Hum Nutr* **67**:88-93.

Agil R., Gaget A., Gliwa J., Avis T.J., Willmore W.G., Hosseeinian F.(2013). Lentils enhance probiotic growth in yogurt and provide added benefit of antioxidant protection. *Food Science and Technology* **50**:45-49.

Almeida, M. H. B., Szoellner, S. S., Cruz, A. G., Moura, M. R. L., Carvalho, L. M. J., Freitas, et al., (2008). Potentially probiotic açai yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* **61**,178-182.

Anderson N.(2004). Probiotics market face EU challenge. *Breaking News on Supplements, Nutrition & Healthy Foods*. 08 Janvier, p.1.

Axelsson L.(2004). Classification and physiology. *In* : Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects (Salminen S., Wright A.V; Ouwehand A.). 3^e Ed., *Marcel Dekker, Inc.* New York. 1-66.

-B-

Barreteau H., Delattre C., Michaud P. (2006). Production of oligosaccharides as promising new food additive generation. *Food Technology and Biotechnology* **44** : 323-333.

Blum S., Delneste Y., Alvarez S., Haller D., Perez P. F., Bode Ch. Hammes W. P., Pfeir A.M. A., Schiffrin E. J.(1999). Interactions between commensal bacteria and mucosal immunocompetent cells. *International Dairy Journal* **9**: 63-68.

Bomba A, Nemcovà R, Mudronová D, Guba P (2002) The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends Food Sci Technol* **13**:121-126

Bornet F. (2001). Fructooligosaccharides et autres fructanes : chimie, structure et effets nutritionnels. *Industries Alimentaires et Agricoles* .74-80.

Borriello S. P., Hammes W. P, Holzapfel W., Marteau P., Schrezenmeir J., Vaara M., Valtonen V.(2003). Safety of probiotics that contain Lactobacilli or Bifidobacteria. *Clinical Infectious Diseases* **36**: 775-780.

Boudjou S, Dave Oomah B., Hosseinian F., Zaidi F.(2012). Phenolics content and antioxidant and anti-inflammatory activities of legume fractions. *Food Chemistry* **138**:1543-1550.

Bouhnik Y., Pochart P., Marteau P.(1992). Fecal recovery in humans of viable *bifidobacterium sp* ingested in fermented milk. *Gastroenterology* **102**:875-878. *In: Bactéries lactiques et probiotiques de (Corrieu G; Luquet F.M). TEC & Doc; Lavoisier. Paris. 256.*

Bouhnik Y., Flourié B., D'Agay-Abensour L., Pochart P., Gramet G., Durand M., Rambaud J.C. (1997). Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *J. Nutr* **127**: 444-448.

Bouhnik Y.(2000). Flore intestinale, probiotique et MICI, lettre Association François Au petit, 16, Paris.

Bruzzese E., Volpicelli M., Squaglia M., Tartaglione A., Guarino A.(2006). Impact of probiotics on human health. *Digestive and Liver Disease 38 Suppl. 2* : S283–S287.

-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.

Chukeatirote E.(2003). Potential use of probiotics. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* **25**: 275-282.

Collins D.M., Gibson G.R. (1999). Probiotics, prebiotics, and synbiotics : approches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr* **69** (suppl1): 1052S-1057S.

Cummings J.H., Macfarlane G.T., Englyst H.N. (2001). Prebiotic digestion and fermentation. *Am.J.Clin.Nutr* **73** (suppl1): 415S-420S.

Cummings J., MacFarlane G. (2002). Gastrointestinal effects of prebiotics. *British Journal of Nutrition* **87** (suppl2):145-151.

-D-

Delattre C., Michaud P., Courtois B., Courtois J. (2005). Oligosaccharides engineering from plants and algae applications in biotechnology and therapeutics. *Minerva Biotechnology* **17**:107-117.

Delzenne N. (2003). Oligosaccharides: state of the art. Proceedings of the nutrition society **62**:177-182.

Doleyres Y., Paquin C., Leroy M. et Lacroix C. (2002). *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 cell production during free- and immobilized-cell cultures in MRS-whey permeate medium. *App. Microbiol. Biotechnol.* **60** : 168-173.

Drakoularakou, A., Rastall, R., et Gibson, G. (2011). Functional foods for the gut : probiotics, prebiotics and synbiotics. In M. Saarela (Ed), Functional foods: concept to product (205 ed.) (pp. 449-470). Philadelphia: Woodhead publishing.

-E-

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-

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.

Fooks L.J., Gibson G. R. (2002). Probiotics as modulators of the gut flora. *Brit. J. Nutr* **88** (suppl I): 39-49.

Franck A. (2002) Prébiotiques. In : Aliments Fonctionnels. *Ed Tec & Doc*. Londres-Paris-NewYork, 104-123.

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.

-G-

Gagnon M., Kheadr E. E., Le Blaya G., Flissa I.(2004). In vitro inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 by bifidobacterial strains of human origin. *International Journal of Food Microbiology* **92**:69-78

Géraldine F.(2004). Prébiotiques et probiotiques : Ont-ils un réel intérêt pour la santé ? Rôle du pharmacien dans leur conseil à l'officine. *Thèse de doctorat en pharmacie*. Université Joseph Fourier-Grenoble I.

Gibson, G. R. & Wang, X. (1994b). Enrichment of bifidobacteria from human gut contents by oligofructose using continuous culture. *FEMS Microbiol. Lett* **118**: 121±128.

Gibson G. R., Roberfroid M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* **125**: 1401–1412.

Gibson G. R., Fuller R.(2000). Aspects of *in vitro* and *in vivo* research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. *Journal of Nutrition* **130**: 391-395.

Gibson G. R., Probert H. M., Van Loo J., Rastall R. A., Roberfroid M. B. (2004b). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* **17**: 259–275.

Gomez AMP., Malcata F.X.(1999). *Bifidobacterium spp* and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci Technol* **10**: 139-157.

Grizard D., Barthomeuf C. (1999) Non-digestible oligosaccharides used as prebiotic agents: mode of production and beneficial effects on animal and human health. *Reproduction, Nutrition, Development* **39**(5-6):563-588.

Gusils C., Bujazha M., Gonzalez S. (2002). Preliminary studies to design a probiotic for use in swine feed. *Aug.* Vol. 27. N°08.

-H-

Ho T.N.T., Tuan N., Deschamps A., Caubet R. (2007). Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology.* 134-142.

Holzappel W.H., Haberer J., Snel U., Schillinger. (2001). Overview and probiotics. *Int. J. Food Microbiol* **41**:85-101.

-J-

Jones P.J. (2002). Functional foods more than just nutrition. *CMAJ* **166** (12): 1555-1563.

-K-

Kailasapathy K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria : technology and potential applications. *Curr. Issues. Intest. Microbiol* **3** : 39-48.

Kaplan H., Hutkins R.W. (2000) Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Zppl Environ Microbiol* **66**:2682-2684

Khalid N.M., Marth E.H. (1990). Lactobacilli, their enzymes and role. *In: Ripening and spoilage of cheese. Rev. Dairy Sci* **73** : 158-167.

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**.

-*L*-

Leclerc H., Gaillard F.L., Simonet M.(1994). Les grands groupes de bactéries. *In* : Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. *DOIN*. Paris. 445.

Lilly D.M et Stillwell R.H.(1965). Probiotiques: Growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science* **147**: 747–748.

Lin H. C., Su B. H., Chen A. C., Lin T. W., Tsai C. H., Yeh T. F., Oh W.(2005). Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* **115**:1-4.

-*M*-

Marelli G., Papaleo E., Ferrari A.(2004). Lactobacilli for prevention of urogenital Infections: a review. *European Review of Medicine and Pharmacology Sciences* **8**: 87-95.

Marteau P., Shanahan F. (2003). Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side effects. *Best Practices & Research Clinical Gastroenterology* **17**: 725-740.

Marteau P., Seksik P., Lepage P., Doré J.(2004b). Cellular and physiological effects of probiotics and prebiotics. *Medicinal Chemistry* **4**: 889-896.

Mercenier A., Pavan S., Pot B.(2002). Probiotics as biotherapeutic agents: Present knowledge and future prospects. *Current Pharmaceutical Design* **8**: 99-110.

Metchnikoff E. (1907). The prolongation of life. In *Optimistic Studies* (Heinemann W., Ed.), pp. 1-100. G. P. Putnam and Sons, London, UK.

Miller H. E., 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.

Mussamatto S. I., Mancilha I. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: a review. *Carbohydrate Polymers* **68**:587-597.

-N-

Nugent M. A. (2000). Heparin sequencing brings structure to the function of complex oligosaccharides. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **97**:10301-10303.

-O-

Osborne D. R., Voogt P. (1986). Análisis de los nutrientes de los alimentos Zaragoza. *Ed. Acribia.* (p 258).

-P-

Parker R.B.(1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim nutr health* **29**:4-8.

Patterson C.A.(2008). Probiotiques : bienfaits au-delà des fonctions nutritionnelles de base. *AAFC*.1-4.

Pilet M.F., Magras C., Federigh M.(2005). Bactéries lactiques. *In* : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2^e Ed., *Economica*. Paris. 219-240.

Pochart P., Dewit O., Desjeux JF., Bourlioux P.(1990). Viable starter culture, β -galactosidase activity and lactose in duodenum after yogurt ingestion in lactase-deficient humans. *Am J Clin Nutr* **49**:828-831. *In*: Bactéries lactiques et probiotiques de (Corrieu G., Luquet F.M). *TEC & Doc, Lavoisier*. Paris. 256.

-R-

Roudaut H et Lefrancq E.(2005). Alimentation théorique .biosciences et technique. Lavoisier. pp 149-150

Rousseau V., Paul F. (2004). Anhydrofuctose and oligosaccharides derivatives as Prebiotic.5th NEPSA meeting, march, Braunschweig, Germany.

-S-

Saad N.,Delattre C. M., Urdaci c, Schmitter J.M., Bressollier P.(2012). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field.

Saito T.(2004). Selection of useful probiotic lactic acid bacteria from the *Lactobacillus acidophilus* group and their applications to functional foods. *Animal Science Journal* **75**: 1-13.

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

Sanders M. E.(2000). Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *Journal of Nutrition* **130**: 384-390.

Schrezenmeir J., Vrese M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition* **73**: 361- 364.

Servin AL.,Coconnier M.H. (2004). Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* **17**:741-754.

Shah N. P.(2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Sciences* **83**: 894-907

Sillanpaa J. (2001). Tissue-Adherence in lactic acid bacteria: Identification and characterization of the collagen-bindings S-layer protein of *lactobacillus crispatus*.University of Helsinki.

Soomro A.H.,Masud T., Anwaar K. (2002). Role of lactic acid bacteria (LAB). *In Food Preservation and Human Health. Rev. Pakistan Journal of Nutrition.* 20-24.

Stiles M.E et Holzapfel W.H.(1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol* **36** : 1-29.

Sullivan A., Nord C. E.(2002). The place of probiotics in human intestinal infections. *International Journal of Antimicrobial Agents* **20**:313-319.

-T-

Takeo K., Ohguchi Y., Hasegawa R., Kitamura S. (1995). Synthesis of (1→4)-beta-D-xylo-oligosaccharides of dp 4-10 by a blockwise approach. *Carbohydrate Research* **278**:303-313.

Teitelbaum J. E., Walker W. A. (2002). Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. *Annual Review Nutrition* **22**: 107–138.

-V-

Vandamme P., Pot B., Gillis M., DeVos P., Keresters K., Swings J.(1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol. Rev.* **60** : 407

Varcoe J. J., Krejcarek G., Busta F., Brady L.(2003). Prophylactic feeding of *Lactobacillus acidophilus* NCFM to mice attenuates overt colonic hyperplasia. *Journal of Food Protection* **66**:457-465.

Vierling E. (2008). Aliments et boissons, filières et produits. *Ed 3, bioscience et technique*.p155.

-W-

Wang X., Gibson G. R. (1993). Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J. Appl. Bacteriol* **75**: 373±380.

Wang Y (2008). Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International* **42** :8-12.

Weijers C. A., Franssen M. C., Visser G. M. (2008). Glycosyltransferase-catalyzed synthesis of bioactive oligosaccharides. *Biotechnology Advances* **26**:436-456.



Annexes

Annexe 1

1. Composition du milieu MRS (Man, Rogosa, Sharpe)

Composé	quantité
Peptone	10g
Extrait de viande	8g
Extrait de levure	4g
Acitate de sodium	5g
Sulfate de manganèse	0,05g
Glucose	20g
Tween80	1ml
Phosphate dipotassique	2g
Sulfate de magnésium	0,2g
Eau distillée	1000ml
Citrate d'ammonium	2g
Dextrose	20g
pH= 6,2 ± 0,2 à 25°C Stériliser à 120°C/15mn	

2. Composition de la gélose MRS (GUIRAUD, 1998)

5,2g de la poudre du milieu précédent est additionnée à 100 ml d'eau distillée avec 1g d'agar, puis stérilisé dans l'autoclave à 120°C pendant 15 mn.

3. Préparation des différentes solutions:

➤ **Solution NaOH (0,1 N) :**

- 4,4g de poudre de soude caustique
- Ajuster à 1000 ml avec l'eau distillée.

➤ **Réactif d'anthrone (0.1%) :**

- 0,1g d'anthrone dissous dans 100 ml d'acide sulfurique concentré (95%).

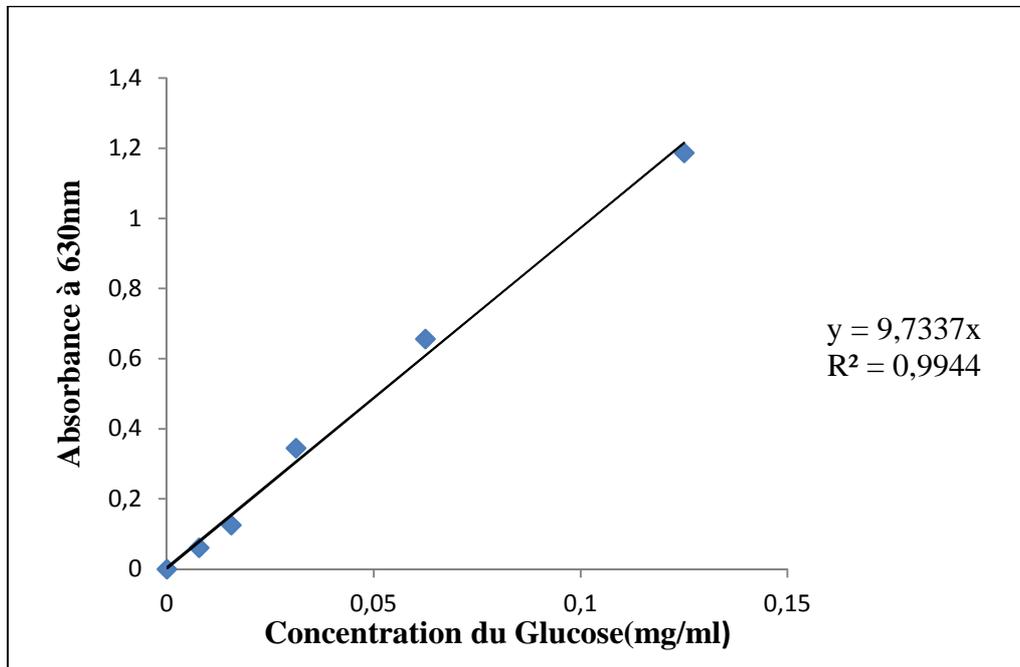
➤ **Préparation de phénolphtaléine**

- 0,5g de poudre de la phénolphtaléine.
- Ajout de 50ml d'éthanol pur (96%).
- Ajout de 50ml d'eau distillée.

➤ **Préparation d' HClO_4 (52%)**

- 74,29 ml de solution HClO_4 (70%).
- Ajuster avec 25,71ml d'eau distillée.

Annexe 2



Courbe d'étalonnage du glucose

Annexe 3

Tableau XXI : Analyse statistiques des teneurs en glucose.**Tableau XIa** : Analyse de la variance (teneur en glucides)

Facteur 1: Graine G1: Fève G2 : Feverole G3:Lentille
 Facteur 2: Partie
 P1:Entière P2: Cotyledon

Univariate Tests of Significance for GLUC (new.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4422190	1	4422190	52011,56	0
GRAINE	10640	2	5320	62,57	0
PARTIE	108579	1	108579	1277,05	0
GRAINE*PARTIE	6003	2	3001	35,3	0,000009
Error	1020	12	85		

Tableau XIb: Comparaison multiple des moyennes de teneurs en glucides

LSD test; variable GLUC

(new.sta)

Homogenous Groups, alpha =
,05000

Error: Between MS = 85,023, df = 12,000

GRAINE	PARTIE	Mean	1	2	3	4
G3	P1	412,4302	****			
G1	P1	413,0346	****			
G2	P1	428,509	****			
G3	P2	518,1607		****		
G1	P2	580,699			****	
G2	P2	621,1166				****

analyses statistiques du pH (suite)
jour 14
Analyses de la variance

Univariate Tests of Significance for J14 (new.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	836,86411	1	836,86411	4E+06	0
POUDRE	0,0311433	4	0,0077858	36,496	7,49E-13
YAOURT	0,0013733	3	0,0004578	2,1458	0,109583
POUDRE*YAOURT	0,0016433	12	0,0001369	0,6419	0,793709
Error	0,0085333	40	0,0002133		

comparaison multiples moyennes du pH

LSD test; variable J14 (new.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = ,00021, df = 40,000

		J14					
	POUDRE	YAOURT	Mean	1	2	3	4
12	P2	Y4	3,7133333	****			
20	P4	Y4	3,7133333	****			
10	P2	Y2	3,7133333	****			
9	P2	Y1	3,7166667	****	****		
8	P1	Y4	3,7166667	****	****		
6	P1	Y2	3,7166667	****	****		
7	P1	Y3	3,72	****	****		
19	P4	Y3	3,72	****	****		
11	P2	Y3	3,7233333	****	****		
18	P4	Y2	3,7233333	****	****		
5	P1	Y1	3,7266667	****	****		
15	P3	Y3	3,7266667	****	****		
17	P4	Y1	3,7333333	****	****		
14	P3	Y2	3,7366667	****	****		
13	P3	Y1	3,74		****		
16	P3	Y4	3,74		****		
3	P0	Y3	3,7666667			****	
4	P0	Y4	3,77			****	
2	P0	Y2	3,78			****	****
1	P0	Y1	3,7966667				****

analyses statistiques du pH(suite)
jour 28

Analyses de la variance

Univariate Tests of Significance for J28 (new.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	811,072667	1	811,072667	1062540,61	0
POUDRE	0,01745	4	0,0043625	5,7150655	0,0009803
YAOURT	0,0066	3	0,0022	2,88209607	0,04762825
POUDRE*YAOURT	0,01395	12	0,0011625	1,52292576	0,15628197
Error	0,03053333	40	0,00076333		

Comparaison multiples des moyennes du pH

LSD test; variable J28 (new.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = ,00076, df = 40,000

		J28						
	POUDRE	YAOURT	Mean	1	2	3	4	5
11	P2	Y3	3,61	****				
16	P3	Y4	3,65333	****	****			
8	P1	Y4	3,65333	****	****			
12	P2	Y4	3,65333	****	****			
7	P1	Y3	3,65667		****			
5	P1	Y1	3,66333		****	****		
10	P2	Y2	3,66333		****	****		
15	P3	Y3	3,66667		****	****		
14	P3	Y2	3,67333		****	****	****	
19	P4	Y3	3,67667		****	****	****	****
18	P4	Y2	3,68		****	****	****	****
9	P2	Y1	3,68		****	****	****	****
1	P0	Y1	3,68333		****	****	****	****
6	P1	Y2	3,69		****	****	****	****
20	P4	Y4	3,69		****	****	****	****
17	P4	Y1	3,69667		****	****	****	****
3	P0	Y3	3,70333			****	****	****
4	P0	Y4	3,70333			****	****	****
2	P0	Y2	3,71667				****	****
13	P3	Y1	3,72					****

Analyses statistiques de l'acidité totale titrable suite (TTA%)

Jour21

Univariate Tests of Significance for J21 (new.sta tta.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	155,14	1	155,14	26725	0
POUDRE	0,46656	4	0,1166	20,09	4E-09
YAOURT	0,0378	3	0,0126	2,171	0,107
POUDRE*YAOURT	0,1782	12	0,0149	2,558	0,013
Error	0,2322	40	0,0058		

Comparaison multiples des moyennes

LSD test; variable J21 (new.sta tta.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = ,00580, df = 40,000

	J21		Mean	J21					
	POUDRE	YAOURT		1	2	3	4	5	6
3	P0	Y3	1,41	****					
2	P0	Y2	1,41	****					
1	P0	Y1	1,44	****	****				****
4	P0	Y4	1,53	****	****	****			
14	P3	Y2	1,56		****	****	****		
10	P2	Y2	1,56		****	****	****		
12	P2	Y4	1,59			****	****		
15	P3	Y3	1,59			****	****		
8	P1	Y4	1,59			****	****		
19	P4	Y3	1,59			****	****		
20	P4	Y4	1,62			****	****		
7	P1	Y3	1,65			****	****		
13	P3	Y1	1,65			****	****		
18	P4	Y2	1,65			****	****		
16	P3	Y4	1,65			****	****		
11	P2	Y3	1,68				****	****	
9	P2	Y1	1,68				****	****	
17	P4	Y1	1,68				****	****	
5	P1	Y1	1,8					****	****
6	P1	Y2	1,83						****

analyses statistiques des colonies (suite)

jour 7

Univariate Tests of Significance for J7 (new. cfu sta.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4679,6	1	4679,603	583801,212	0
POUDRE	2,3047	4	0,576169	71,8796311	0
YAOURT	0,0633	3	0,021098	2,63209684	0,0631
POUDRE*YAO urt	0,1306	12	0,010884	1,35781626	0,2263
Error	0,3206	40	0,008016		

Comparaison multiples des moyennes de colonies

LSD test; variable J7 (new. cfu sta.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = ,00802, df = 40,000

		J7							
	POUDRE	YAOURT	Mean	1	2	3	4	5	6
2	P0	Y2	8,350423	****					
3	P0	Y3	8,405089	****					
1	P0	Y1	8,414809	****					
4	P0	Y4	8,625915		****				
13	P3	Y1	8,815792			****			
10	P2	Y2	8,835807			****	****		
9	P2	Y1	8,869492			****	****	****	
12	P2	Y4	8,87572			****	****	****	
5	P1	Y1	8,877328			****	****	****	
11	P2	Y3	8,89188			****	****	****	****
6	P1	Y2	8,919937			****	****	****	****
14	P3	Y2	8,924673			****	****	****	****
7	P1	Y3	8,93992			****	****	****	****
16	P3	Y4	8,944261			****	****	****	****
15	P3	Y3	8,953015			****	****	****	****
20	P4	Y4	8,976487				****	****	****
8	P1	Y4	8,977039				****	****	****
17	P4	Y1	8,991241					****	****
19	P4	Y3	9,00982					****	****
18	P4	Y2	9,029072						****

Analyses statistiques des nolonies (suite)

Day 21

Univariate Tests of Significance for J21 (new. cfu sta.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4742,65	1	4742,6508	####	0
POUDRE	0,64574	4	0,1614342	64,8	0
YAOURT	0,08152	3	0,0271721	10,9	0
POUDRE*YAOURT	0,06679	12	0,005566	2,23	0,03
Error	0,09967	40	0,0024918		

Comparaison des moyennes de colonies

LSD test; variable J21 (new. cfu sta.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = ,00249, df =

40,000

		J21						
	POUDRE	YAOURT	Mean	1	2	3	4	5
1	P0	Y1	8,5387481	****				
3	P0	Y3	8,7068317		****			
2	P0	Y2	8,741238		****			
4	P0	Y4	8,7615972		****			
13	P3	Y1	8,8591639			****		
15	P3	Y3	8,8658436			****		
10	P2	Y2	8,903159			****	****	
9	P2	Y1	8,9070437			****	****	
17	P4	Y1	8,9187415			****	****	****
14	P3	Y2	8,9302184			****	****	****
6	P1	Y2	8,9313798			****	****	****
11	P2	Y3	8,9527816				****	****
18	P4	Y2	8,9548578				****	****
5	P1	Y1	8,9628935				****	****
7	P1	Y3	8,9662055				****	****
19	P4	Y3	8,9669354				****	****
16	P3	Y4	8,9688663				****	****
20	P4	Y4	8,9824934				****	****
12	P2	Y4	8,995898					****
8	P1	Y4	8,9986924					****

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets prébiotiques des différentes poudres de légumineuses (*Lens culinaris*, *Vicia faba major*, *Vicia faba minor L* (entières et décortiquées)) sur la viabilité microbienne, le pH et l'acidité titrable totale (TTA) dans le yaourt pendant les 28 jours de stockage à froid, ainsi que le dosage de la teneur en glucides totaux dans les différents extraits des échantillons entiers et décortiqués. Une concentration de 4% de chaque poudre est incorporée dans le yaourt contenant des ferments lactiques avec ou sans bactéries probiotiques. Les résultats de cette étude montrent que les légumineuses améliorent le nombre de bactéries probiotiques, nous remarquons que le nombre de CFU dans le yaourt contenant à la fois la poudre de légumineuses et probiotiques est plus élevé que celui des échantillons contenant la poudre sans probiotiques. Ces résultats se confirment par une augmentation de l'acidité (0,93% à 1,89%), et une diminution du pH (4,23 à 3,61) plus importante dans les yaourts contenant les poudres. La teneur en glucides dans les différentes légumineuses varie de 412,43 à 621,11mg/g, les extraits des graines entières présentent des teneurs très rapprochées à l'opposé les graines décortiquées présentent des teneurs plus élevées que les graines entières avec des rapports de 40,5%, 44,94%, et 25,63% pour *Vicia faba major*, *Vicia faba minor L* et *Lens culinaris* respectivement. En plus de favoriser la croissance des probiotiques, l'enrichissement par les légumineuses peut augmenter les propriétés nutritionnelles du yaourt.

Mots clé : *Lens culinaris*, *Vicia faba major*, *Vicia faba minor L*, ferments lactiques, probiotiques, glucide.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the prebiotic effects of different legumes powders (*Lens culinaris*, *Vicia faba major*, *vicia faba minor L* (whole and dehulling)) on microbial viability, pH and total titratable acidity (TTA) in yogurt during 28 days of cold storage, as well as the determination of total carbohydrates in different extracts of whole and dehulling samples. A concentration 4% of each powder is incorporated in the yogurt with or without probiotic bacteria. We note that the number of CFU in yogurt containing both probiotic and legumes powders is higher than the sample containing the powder without probiotics. These results are confirmed by an increase in acidity (0.93% to 1.89%) and a decrease in pH (4.23 to 3.61) higher in yogurts containing powders. The carbohydrate content in various legumes ranges from 412.43 to 621.11 mg / g, extracts of whole seeds are very close, in the opposite dehulling seeds present higher levels than whole seed with reports of 40.5%, 44.94% and 25.63% for *Vicia faba major*, *vicia faba minor L* and *Lens culinaris* respectively. In addition to promoting the growth of probiotic enrichment by pulses can increase the nutritional properties of yogurt.

Keywords: *Lens culinaris*, *Vicia faba major*, *vicia faba minor L*, Starter culture, probiotics, carbohydrate.