



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



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Larbi chaimaa

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE : SCIENCES ALIMENTAIRES

OPTION : AGROALIMENTAIRE ET CONTROLE DE QUALITE

Thème

Isolement et identification partielle de *Saccharomyces* spp. à partir de semoule: tolérance à l'éthanol et aux sels biliaries

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Mr. Goudjal Yacine	Professeur	Président
Mr Adamou Alaaeddine	Professeur	Examineur
Mr. Houicher Abderrahmane	Professeur	Rapporteur

Promotion : Juin – 2022

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة عمار تليجي- الاغواط

كلية: العلوم

قسم العلوم الفلاحية

مذكرة ماستر

تقديم الطالبة: العربي شيماء

ميدان: علوم الطبيعية و الحياة

شعبة: علوم غذائية

تخصص: صناعات غذائية و مراقبة النوعية

موضوع البحث



عزل و تحديد جزيئي ل *Saccharomyces spp.* من السميد: تحمل الايثانول و
الاحماض الصفراوية

أعضاء لجنة المناقشة :

الاسم و اللقب	الدرجة العلمية :	الصفة
السيد قوجال ياسين	استاذ التعليم العالي	رئيسا
السيد عظامو علاء الدين	أستاذ التعليم العالي	ممتحن
السيد هويشر عبد الرحمن	استاذ التعليم العالي	مقررا

الدفعة: جوان – 2022

Résumés

Nom et Prénom : Larbi Chaimaa.

Thème : Isolement et identification partielle de *Saccharomyces* spp. à partir de semoule: tolérance à l'éthanol et aux sels biliaires

Résumé

L'objectif principal de la présente étude est d'isoler et identifier partiellement des levures appartiennent au genre *Saccharomyces* à partir de levain fermenté traditionnellement (Sourdough). L'isolement a permis d'identifier partiellement 26 isolats de levures présentant une similarité aux caractéristiques morphologiques du genre *Saccharomyces*. L'étude de la fermentation des sucres a déterminé que les isolats sont capables de fermenter le glucose, le maltose, le fructose, le sucrose, et D-galactose, et incapables d'assimiler l'arabinose et le lactose. De plus, l'étude de la résistance de *Saccharomyces* spp. à la forte concentration d'éthanol 20% (v/v) montre que tous les isolats ont résisté aux fortes concentrations d'éthanol, à l'exception de 6 isolats. Les résultats de tolérance aux sels biliaires également montrent que les isolats *Saccharomyces* spp. ont une capacité assez importante à croître dans une concentration de 0.3% (m/v) en sels biliaires. Le présent travail est une étude préliminaire pour la recherche des levures appartiennent au genre *Saccharomyces* afin de sélectionner des isolats purs pour pouvoir être utilisés comme cultures starters en industrie des aliments fermentés et en biotechnologie.

Mots clé : *Saccharomyces*, semoule, fermentation, sucre, tolérance, éthanol, sel biliaire

الاسم و اللقب: العربي شيماء.

الموضوع : العزل والتحديد الجزيئي ل *Saccharomyces spp* من السميد : تحمل الايثانول و الأملاح الصفراوية.

تلخيص :

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو عزل والتعرف الجزيئي على الخمائر التي تنتمي إلى جنس *Saccharomyces* من العجين المخمر التقليدي. سمح العزل بالتعرف الجزيئي على 26 عزلة من الخميرة تظهر تشابهاً مع الخصائص المورفولوجية للجنس *Saccharomyces*. توصلت دراسة تخمير السكر إلى أن العزلات قادرة على تخمير الجلوكوز ، المالتوز ، الفركتوز ، السكروز ، والجالاكتوز ، وغير قادرة على تخمير الأرابينوز واللاكتوز. بالإضافة إلى دراسة مقاومة *Saccharomyces spp* للإيثانول بتركيز عالٍ قدره 20% (v / v)، يظهر أن جميع العزلات قاومت التركيز العالي من الإيثانول ، باستثناء 6 عزلات. تظهر نتائج تحمل الأملاح الصفراوية أيضاً أن *Saccharomyces spp* لديها قدرة كبيرة إلى حد ما على النمو في تركيز 0.3% (m/ v) من الأملاح الصفراوية. العمل الحالي عبارة عن دراسة أولية للبحث عن الخمائر التي تنتمي إلى جنس *Saccharomyces* من أجل اختيار عزلات نقية لاستخدامها في صناعة الأغذية المخمرة وفي التكنولوجيا الحيوية.

الكلمات المفتاحية: *Saccharomyces* , السميد ، التخمر ، السكر ، التحمل ، الإيثانول ، الأملاح الصفراوية.

Résumés

Name: Larbi

Surname: Chaimaa

Theme: Isolation and identification partial of *Saccharomyces* spp. from semolina: tolerance to ethanol and bile salts.

Abstract:

The main objective of this study is the isolation and partial identification of yeasts belonging to the genus *Saccharomyces* from traditionally fermented sourdough. The isolation allowed partial identification of 26 isolates of yeast showing similarity with morphological characteristics of the genus *Saccharomyces*. The study of sugar fermentation showed that the isolates are able to ferment glucose, maltose, fructose, sucrose, and galactose, and are unable to ferment arabinose and lactose. In addition, the study of *Saccharomyces* spp. tolerance to high concentration of ethanol, at 20% (v/v), showed that all isolates were resistant to high ethanol concentrations, except for six isolates. The bile salts tolerance results also show that *Saccharomyces* spp. have high ability to grow at a concentration of 0.3% (m/v) of bile salts. The present work is a preliminary research study of yeasts belonging to the genus *Saccharomyces* in order to select pure isolates for use as starter cultures in the fermented food industry and in biotechnology.

Keywords : *Saccharomyces*, semolina, fermentation, sugar, tolerance, ethanol, bile sal.

Dédicaces

Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions. Je dédie ce travail à mes Parents qui m'ont permis de réaliser ce travail grâce à leur amour, leurs encouragements, leurs disponibilités, leur patience, leurs conseils qui m'ont été très précieux.

A mes sœurs

Fatima, Khaira

A mes frères

Ben galoula, Omar, Lamin, Kada et Djailali

A mes chères amies

loubna, Louiza, Zahara, Djihen, Messaouda, Hadjer, Fatima.

REMERCIEMENT

Tout d'abord, nous remercions "Allah" tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donnée durant tous les années d'études.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse **Pr. Kouiche Abderrahmane** professeur à l'université Amar Telidji Laghouat, qui a accepté de m'encadrer, qui m'a guidé par ses précieux conseils et suggestions pertinentes et m'a bien expliqué les étapes de ce travail.

Veillez trouver ici, l'expression de mon profond respect et mes sincères remerciements.

Je tiens à remercier **Pr. Goudjal Yacine** et **Pr. Adamou Alaedine**, mes professeurs à l'université de Laghouat pour m'avoir fait l'honneur de faire partie de mon jury de mémoire et d'examiner ce travail.

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau N°01	Composition chimique du grain de blé	05
Tableau N°02	Liste non exhaustive de produits alimentaires fermentés par des levains naturels.	12
Tableau N°03	Classification des levures	18
Tableau N°04	Production et utilisations de certaines enzymes levuriennes	19
Tableau N°05	Informations concernant l'échantillonnage de semoule de blé utilisé dans l'étude	20
Tableau N°06	Les étapes de préparation du levain naturel (sourdough) fermenté traditionnellement	27
Tableau N°07	Caractéristique microscopique des isolats à l'état frais et après la coloration par lugol et le bleu de méthylène à l'objectif (X40)	28
Tableau N°08	Résultats de fermentation des sucres (le glucose, le maltose, le fructose, le sucrose, arabinose et lactose, D-galactose) par les isolats de <i>Saccharomyces</i> spp.	29
Tableau N°09	Résultats de la résistance des isolats de <i>Saccharomyces</i> spp. à l'éthanol 20%(v/v)	30
Tableau N°10	Résultats de la résistance des isolats de <i>Saccharomyces</i> spp. Aux sels biliaires	

Liste des figures

Figure 01	Schéma histologique d'une coupe longitudinale d'un grain de blé	04
Figure 02	Diagramme industriel simplifié de fabrication de semoules de blé dur	08
Figure 03	représentation schématique des différents domaines d'utilisation de la levure	15
Figure 04	diagramme de Protocol expérimental d'étude	24
Figure 05	Résultats de fermentation de levain	25
Figure 06	observation macroscopique de colonie d'isolat SY3 et VY1	26
Figure 07	Observation microscopique de l'isolat SY8 à l'état frais	26

Liste des abréviations

FAO: Food and Agriculture Organization.

UFC: Unité Formant Colonies.

YPD: Yeast Peptone Dextrose.

Sommaire

Liste des tableaux		
Liste des figures		
Liste des figures		
Introduction générale	01	
Partie I : Etude bibliographique		
Chapitre I : Données générales sur le blé dur et Levain de panification (Sourdough).		
I .Données générales sur le blé dur		
1	Origine et histoire du blé	03
1.1	Origine génétique	03
1.2	Origine géographique	03
2	Composition histologique	03
2.1	Morphologie et structure du grain de blé	04
	- Albumen	04
	-Enveloppes de la graine	04
	- Germe	04
2.2	Composition chimique	05
3	les produits finis de blé	06
3.1	Semoule	07
3.1.1	Définition de la semoule	07
3.1.2	Différents types de semoule	07
3.1.2.1	Pureté	07
3.1.2.2	Granulation	08
II.1	Levain de panification (Sourdough).	08

II.2.Utilisation de levain en technologie alimentaire.	09	
Chapitre II: Généralités sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire		
I	Généralités sur les levures	12
1	Historique et généralité	12
2	Définition	12
3	Caractères généraux des levures	12
3.1	Morphologiques	13
3.2	Caractères physiologiques et biochimiques	13
4	Habitats	13
5	Reproduction des levures	14
5.1	Reproduction asexuée ou végétative	14
5.2	Reproduction sexuée	14
6	Classification	15
	Les ascomycètes	15
	Les basidiomycètes	15
	Les deutéromycètes	15
7	Les besoins nutritifs	16
7.1	Sources de carbone	16
7.2	Source d'azote	17
7.3	Oligoéléments et facteurs de croissance	17
	I. L'utilisation de levure	
1.	L'utilisation de levures dans les industries agro-alimentaires	18
1.1	Utilisation des levures dans la production des boissons alcoolisées	18
1.2	Utilisation des levures dans la panification	19
1.3	Utilisation des levures dans les industries des produits laitiers	19

sommaire

1.4	Les levures dans les industries des produits carnés	19
2	Autre utilisation de la levure	20
2.1	Les levures et la production de médicaments	20
2.2	L'utilisation de levure dans la production d'enzymes	21

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

matériel et méthodes

1	Echantillonnage	22
2	Préparation du levain naturel (Sourdough)	22
3	Isolement des levures de levain	23
4	Purification et conservation des levures	23
5	Caractéristique morphologique	24
5.1	Observation macroscopique	24
5.2	Observation microscopique à l'état frais.	24
5.3	Observation microscopique après la coloration	24
6	Caractéristique physiologique :	25
6.1	Fermentation des sucres	25
6.2	Tolérance à l'éthanol	25
6.3	Résistance aux sels biliaries	25

Résultats et discussion

1	Levain (sourdough)	29
2	Isolement des levures	29
3	Caractéristique morphologique	29

sommaire

3.1	Observation macroscopiques	29
3.2	Observation microscopiques	30
4	Caractéristique physiologique :	32
4.1	Fermentation de sucre	32
4.2	La résistance à l'éthanol	33
4.3	La résistance aux sels biliaires	34
	Conclusion	36
	Références bibliographique	37

Introduction

Introduction

Les céréales constituent la ressource alimentaire la plus importante au monde à la fois pour l'alimentation humaine et animale. Elles occupent une place stratégique dans l'alimentation de la population mondiale et en particulier dans les pays en développement. En effet, le blé est la céréale la plus cultivée dans le monde et ses produits sont très importants dans la nutrition humaine, car ils fournissent un tiers des besoins en énergie nécessaire pour un adulte (**environ 2400kcal**) (**Alfonso et al., 2013**). Le blé est consommé après l'avoir transformé par plusieurs techniques en dérivés tels que la semoule, la farine, les pâtes...etc.

La production du pain au levain ("sourdough" en anglais) nécessite un processus de panification particulier, qui influence le goût et les arômes du produit fini (**Hansen & Schieberle, 2005**). Le pain levé était originellement réalisé à l'aide d'un levain, c'est-à-dire un mélange de farine et d'eau où se développe naturellement une communauté de microorganismes tels que les bactéries lactiques et les levures. Le levain était un reste de pâte de la fournée précédente (eau, farine ou semoule et sel) (**Jacob, 2007**). Les levures sont les premiers microorganismes utilisés par l'homme depuis des millénaires, en particulier dans la fabrication des boissons alcoolisées et de pain par fermentation (**Bouix et Leveau, 1991 ; Pol, 1996**),

Les levures ont un rôle utile dans la fabrication de nombreux aliments liquides et solide, dans la fabrication de protéines et dans d'autres applications agroalimentaires. Diverses levures dont *Saccharomyces cerevisiae* sont utilisées dans la fabrication du pain. Des souches de *Saccharomyces cerevisiae* sélectionnées sont également impliquées dans la fabrication de boissons alcoolisées (vins, bières, cidres) (**Delarras, 2014**). De plus, l'industrie a sélectionné et hybridé des souches de levures (souches de *Saccharomyces cerevisiae*) afin de les rendre plus performantes pour la panification (**Roussel et Chiron, 2005**). Parmi les critères de choix de la sélection des souches de levures performantes sont leur capacité à résister à des concentrations élevées en éthanol (15%, v/v) (**Da Silva et al., 2013**), leur tolérance aux sels biliaires (0.3%) (**Ozturk et Sagdic, 2014**) et leur capacité de croître dans des environnements acides 1.5 à 3 (**Delarras, 2014**).

Dans ce contexte, le but de la présente étude était, d'une part l'isolement et l'identification de levures appartenant au genre *Saccharomyces* spp. à partir de levain fermenté traditionnellement (sourdough), d'autre part de tester la capacité des isolats de levures à fermenter les sucres (le glucose, le maltose, le fructose, le sucrose, et D-galactose, l'arabinose

Introduction

et le lactose), et à résister aux fortes concentrations d'éthanol 20% (v/v) et de sels biliaires 0.3% (m/v).

Dans cette étude, la première partie présente une synthèse bibliographique divisée en deux chapitres, le premier rapporte des données générales sur le blé dur et le levain de panification (Sourdough), le deuxième chapitre portera sur la levure et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire. La deuxième partie est consacrée au matériel et aux méthodes utilisés pour la réalisation de cette étude, les différents résultats obtenus ainsi que leur discussion. Enfin, nous achevons ce travail par une conclusion générale et des perspectives possibles à la poursuite de ce travail.

Partie I :

Etude bibliographique

Chapitre I : Données générales sur le blé dur et Levain de panification (Sourdough) .

Chapitre I : Généralité sur le blé dur

1. Origine et histoire du blé

1.1. Origine génétique

Depuis le début du XXe siècle, les blés ont fait l'objet de nombreuses études des ogénétiques, et l'on sait maintenant qu'ils se classent dans une série polygénisme. Ils diffèrent par leur nombre de chromosomes et par la constante de leur génome. Certains sont diploïdes (ils ont deux jeux de chromosomes) et partagent le génome appelé AA. D'autres sont tétraploïdes (quatre jeux de chromosome) et de formule AABB. Un groupe est hexaploïde (six jeux de chromosomes) est de formule AABBGG. Enfin, les blés de Géorgie forment une série parallèle, avec les génomes AAGG et AAAAGG (INRA, 2006). Selon Grignac (1978) et Feuillet (1976), l'origine hybride des tétraploïdes dont le blé dur ; ceux proviendraient du croisement suivi du doublement des chromosomes entre *Triticum monococcum* apportant le génome A et *Aegilops sépaloïdes* apportant le génome B, une telle hybridation aurait donné naissance à *Triticum dicoccum* et *Triticum durum* (blé dur).

1.2. Origine géographique

Le blé est l'une des premières espèces cueillies et cultivées par l'homme, depuis plus de 7000 à 10000 ans, dans le croissant fertile, zone couvrant la Palestine, la Syrie, l'Irak et une grande partie de l'Iran (Croston et Williams, 1981). Des restes de blé, diploïde et tétraploïde, remontant au VIIème Millénaire avant J.C ont été découverts sur des sites archéologiques au proche orient (Harlan, 1975 et Mouellef, 2010).

1. Composition histologique

Le grain de blé est de forme ovoïde plus ou moins allongée, son examen révèle : une face dorsale plus ou moins bombée et une face ventrale, comportant un sillon profond. A sa partie supérieure, de courts poils forment la brosse et à sa partie inférieure, le germe est visible sur la face dorsale. La couleur des blés varie du roux au blanc, en rapport avec le pays d'origine, le sol, la culture, et le climat (Leslie Jacquemin, 2012).

Chapitre I : Données générales sur le blé dur et Levain de panification (Sourdough) .

2.1 Morphologie et structure du grain de blé

Selon **Moule**, 1980, le grain de blé dur est de forme allongée, bombée et pointue aux extrémités, de la couleur jaune ambrée. La coupe de grain fait apparaître trois parties (Figure 1) :

- **Albumen** : constitué de l'albumen amylicé (au sein duquel subsistent des cellules remplies de granules d'amidon dispersés au milieu d'une matrice protéique et dont les parois celluliques sont peu visibles) et de la couche à aleurone (80-85% du grain).
- **Enveloppes de la graine** : formées de six tissus différents : épiderme du nucelle, tégument séminal ou testa (enveloppe de la graine), cellules tubulaires, cellules croisées, mésocarpe et épicarpe (13-17%).
- **Germe (3%)** : composé d'un embryon (lui-même formé de la coléoptile, de la gemmule, de la radicule, du coléorhize et de la coiffe) et du scutellum.

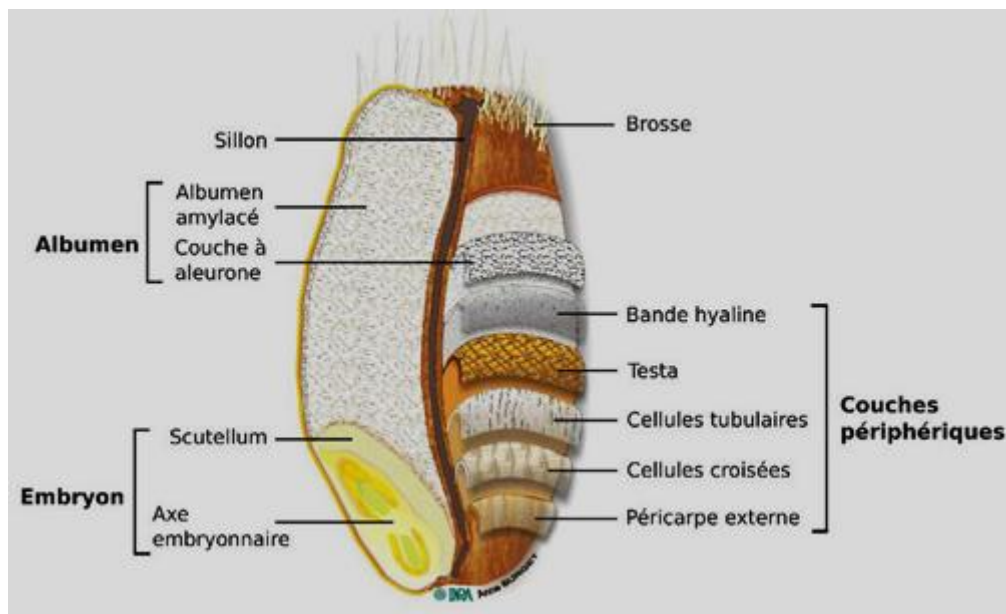


Figure 01 : Schéma histologique d'une coupe longitudinale d'un grain de blé (Surget et Barron, 2005).

2.2 Composition chimique

Chapitre I : Données générales sur le blé dur et Levain de panification (Sourdough) .

Le grain est principalement constitué d'amidon (environ 70%), de protéines (10 à 15% selon les variétés et les conditions de culture), les autres constituants, pondéralement mineurs (quelques% seulement), sont les lipides, la cellulose, les sucres libres, les minéraux et les vitamines (Tableau 1) (Feillet, 2000).

Tableau 01 : Composition chimique du grain de blé (Feillet, 2000).

Nature des composants	Teneur (%ms)
Protéines	10-15
Amidon	67-71
Pentosanes	8-10
Cellulose	2-4
Sucre libre	2-3
Lipides 2-3	2-3
Matières minérales	1,5-2,5

3. Le produits finis de blé dur :

Les principaux produits du blé sont la semoule et la farine. C'est à partir de ces deux dérivés et de leurs processus de fabrication que peuvent être obtenus tous les autres produits finaux qui sont principalement le pain et les pâtes, mais également tous les produits de la pâtisserie, de la viennoiserie et plus généralement de l'industrie agroalimentaire qui emploie comme intrants les farines ou les semoules (Bonjean et Leblond, 2000).

3.2Semoule

3.2.1Définition de la semoule

La semoule est définie par le Codex Alimentarius (1995), comme étant : « le produit obtenu à partir des grains de blé dur par un procédé de mouture au cours duquel le son et le germe sont essentiellement éliminés et le reste est broyé à un degré de finesse adéquat. La semoule

Chapitre I : Données générales sur le blé dur et Levain de panification (Sourdough) .

complète de blé dur est préparée par procédé de broyage similaire, mais le son et une partie du germe sont préservés. Selon **Fortin (1996)**, le terme semoule désigne le produit obtenu par la mouture des grains de blé. Il désigne également plus précisément la farine granulée tirée du blé dur et on se sert pour fabriquer les pâtes alimentaires.

3.2.2 Différents types de semoule :

Les semoules sont classées selon deux critères : la pureté et la granulation

3.2.2.1 selon Pureté

Selon **Apfelbau et al (1981)**, on distingue deux types de semoules :

- a. Semoule supérieure** : Elle provient de la partie centrale de l'amande du grain de blé dur et contient un faible taux de matières minérales. Elle sert à fabriquer les pâtes alimentaires dites supérieures.
- b. Semoule courante** : Elle contient plus de parties périphériques et ayant un plus fort taux de matières minérales, sert à faire les pâtes dites courantes.

3.2.2.2 selon Granulation

Il existe différentes catégories de semoules, chaque catégorie est obtenue par une succession de plusieurs broyages et classées en fonction de leur grosseur. Les différentes catégories de semoules sont:

- a. Semoules grosses (SG)** : La dimension des particules de cette catégorie est comprise entre 900 à 1100 μm destinées aux usages domestiques (**Madani, 2000**). Elles sont considérées comme une semoule très pure du point de vue présence des débris du grain et vendues au commerce pour être consommées en l'état ou encore à la fabrication du couscous (**Matveef, 1969**).
- b. Semoules grosses moyennes (SGM)** : La dimension des particules de cette catégorie est comprise entre 550 à 900 μm , elles sont vendues en l'état (**Feillet, 2000**). Elles sont destinées à la fabrication de la galette, le couscous (**Madani, 2009**).
- c. semoule sassées super extra (SSSE)** : Elles proviennent de la partie centrale de l'amande de grain de blé dur et elles ont un faible taux de matières minérales (**Matveef, 1969**). La dimension des particules de cette catégorie est comprise entre 180 à 500 μm , elles sont destinées à la fabrication des pâtes alimentaires de qualité supérieure (**Feillet, 2000**).

Chapitre I : Données générales sur le blé dur et Levain de panification (Sourdough) .

d. **Semoules sassées super fines (SSSF)** : La dimension des particules de cette catégorie est comprise entre 140 à 250 μm , elles servent à la fabrication des pâtes dites courantes (**Feillet, 2000**). Elles proviennent des couches périphériques du grain, comparée à la semoule 3SE, la semoule 3SF contient plus de parties périphériques et elle à un taux de cendres plus élevé (**Madani, 2009**).

Chapitre I : Données générales sur le blé dur et Levain de panification (Sourdough) .

II. Levain de panification (Sourdough) :

Selon **Montel et al. (2005)**, un levain naturel est une pâte formée de farine, d'eau et quelquefois de sel, qui subit une fermentation assurée par les micro-organismes présents dans la farine et par ceux qui proviennent de l'environnement du site de production. Il est entretenu par des rafraîchis successifs afin d'assurer le maintien du pouvoir fermentaire et le potentiel aromatique de levain (**Montel et al., 2005**). **Vogel et al. (1999)**

ont montré que le levain s'agit à la base, d'un mélange de farine de blé ou de seigle, du sel et de l'eau potable soumis à une fermentation lente (24 à 48 h) initiée par des levures et des bactéries lactiques contenues dans la farine (**Vogel et al., 1999**).

D'après **Fredot (2005)**, la fabrication de levain se fait à partir d'une petite quantité de pâte qu'est prélevée sur l'une des fournées du jour et laissée reposer plus de 12 heures en ajoutant régulièrement de la farine et de l'eau. Le gonflement de la pâte est assuré par la flore du levain constituée précisément d'un mélange de bactéries acidifiantes (lactiques et acétiques) et de levures (**Fredot., 2005**).

Donc, malgré que la fabrication de levain soit différente un peu d'un pays à l'autre mais il dépend du même principe (mélange des compositions qui subit une fermentation pendant spécifique temps) et de la même composition principale (farine, eau).

Utilisation de levain en technologie alimentaire :

L'utilisation de levains naturels confère au produit un goût acide (acide lactique) ou alors alcalin et/ou alcoolique¹, et dans La technologie panariaire, La technologie fromagère. La technologie de vinification, La technologie brassicole. (**Prakash Tamang J et al., 2010**)

Selon **Scott R. 2012** les levains naturels sont obtenus à la suite du développement d'une microflore complexe (bactéries lactiques, moisissures, levures) prolongé par repiquage successifs. Les moisissures seules sont davantage considérées comme une flore de couverture. Les microorganismes les plus utilisés dans les processus de fermentation sont *Lactobacillus* et *Saccharomyces*. De par leur facilité d'adaptation, ils sont présents sur tous les continents. L'usage des microorganismes va cependant dépendre du résultat attendu. Ainsi, exceptions gardées, les bactéries vont être employées pour produire de l'acide lactique alors que les levures (surtout *saccharomyces*) vont permettre la production d'éthanol

Chapitre I : Données générales sur le blé dur et Levain de panification (Sourdough) .

Parmi les microorganismes présents couramment dans les produits fermentés, certains vont se retrouver dans les levains naturels. Le tableau02 ci-dessous présente quelques microorganismes fermentaires présents dans les aliments :

Tableau02 : Liste non exhaustive de produits alimentaires fermentés par des levains naturels.

Nom du produit	Origine	Matière première	Flore(s) principale(s)
Pain	Multi origine	Farine de graines	Levure (99 %), LAB
Beurre	Multi origine	Lait	<i>Lactococcus, Ln spp.</i>
Fromage	Multi origine	Lait	<i>Lactobacillus spp, Lactococcus spp, Ln spp.</i>
Yaourt	Multi origine	Lait	<i>Lb bulgaricus, Streptococcus thermophilus</i>
Kéfir	Multi origine	Lait	LAB, levures
Chocolat	Amérique latine	Fève de cacao	LAB, levures
Vin	Multi origine	Raisin	<i>Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces bayanus</i>
Kimchi	Corée	Radis blanc, chou chinois	LAB (<i>Lb plantarum, Lb brevis</i>), <i>Streptococcus faecalis, Ln mesenteroides, Pediococcus pentosaceus</i>
Kivunde	Tanzanie	Manioc	LAB

Chapitre I : Données générales sur le blé dur et Levain de panification (Sourdough) .

Fufu et Lafun	Nigeria	Manioc	LAB, <i>Bacillus</i> , coliformes, <i>Enterococcus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Candida</i>
Attieke	Côte d'Ivoire	Manioc	LAB (<i>Ln mesenteroïdes subsp. mesenteroïdes</i> , <i>Ec faecalis</i>)
Gari	Afrique de l'Ouest	Manioc	LAB, <i>Alcaligenes</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Lb plantarum</i>
Agbelina	Côte d'Ivoire, Ghana	Manioc	<i>Lbs brevis</i> , <i>Lb plantarum</i> , <i>Ln mesenteroïdes</i> , <i>Candida krusei</i>
Tempeh	Indonésie	Soja jaune	<i>Rhizopus ssp.</i>
Olive	Italie, Grèce, Turquie	Olive	<i>Ln</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Lb plantarum</i>
Pickles	Turquie	Concombre	<i>Lb plantarum</i> , <i>Lb pentosaceus</i> , <i>Ln mesenteroides</i> , <i>Pc cerevisiae</i>
Miso	Japon	Soja	<i>Aspergillus oryzae</i>
Rabadi	Inde	Orge, Babeurre	Pas d'information
Selroti	Himalayas	Riz, maïs, millet...	LAB (<i>Ln mesenteroïdes</i> , <i>Ec faecium</i> , <i>Pc pentosaceus</i> , <i>Lb curvatus</i>), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S kluyveri</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Pichia</i>
Injear	Éthiopie	Sorgho, tef	LAB
Hussuwa	Afrique	Sorgho	Pas d'information

Chapitre I : Données générales sur le blé dur et Levain de panification (Sourdough) .

Soibum	Inde	Pousse de bambou	Pas d'information
Ekung, eup, herring	Inde	Pousse de bambou	<i>Lb plantarum, Lb brevis, Lb casei, Lb fermentum, Lactococcus, Tetragenococcus</i>
Gundruk, khalpi	Népal	Chou, moutarde, feuille de radis	LAB (<i>Lb plantarum, Lb brevis, Lb pentosaceus</i>)

LAB: bactéries lactiques, Ln: Leuconostoc, Lb: Lactobacillus, Pc: Pediococcus, Ec: Enterococcus, S: Saccharomyces .

Chapitre II : généralité sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire

I. Généralités sur les levures

1. Historique et généralité

Les levures sont des microorganismes faisant partie des champignons unicellulaires. Généralement, les cellules de levure sont isolées mais elles peuvent former, chez certaines espèces, des associations cellulaires, ou se présenter sous forme filamenteuse à certains stades de leur vie (**Bouix et Leveau, 1991**). Elles se reproduisent surtout par bourgeonnement ou par fission binaire (**Kreger-Van, 1984**). Leurs cellules sont généralement ovoïdes et leur taille varie de quelques microns à 30 microns (**Bouix et Leveau, 1991**). Les levures se différencient nettement des bactéries par leur structure cellulaire eucaryote. Le cytoplasme des cellules de levure, comme chez toute cellule eucaryote, contient les organites habituels des végétaux supérieurs non photosynthétiques (**Guiraud, 1998**). Elles sont également les premiers microorganismes à être observés au microscope par A. Van Leeuwenhoek, en 1680, qui les a dessinées. Ce n'est qu'avec les travaux de Pasteur (1822-1895) que le rôle des levures dans la fermentation alcoolique a été mis en évidence. A la même époque, la levure fut à l'origine du développement de la biochimie avec notamment les travaux de Büchner. A l'heure actuelle, les levures constituent un matériel expérimental de choix en raison de leur double état de microorganisme et d'eucaryote (**Pol, 1996**).

2. Définition

Le mot « levure » provient du mot latin « levare » qui se traduit par lever (**Phaff et al., 1968**). Ce mot a été appliqué aux levures en raison de leur aptitude à produire du CO₂ pendant la fermentation et à lever la surface mousseuse d'un milieu liquide de fermentation (**Oteng Gyang, 1984**). Les levures sont des eucaryotes microscopiques hétérotrophes faisant partie du groupe des champignons unicellulaires (**Guiraud, 1998**).

3. Caractères généraux des levures

3.1 Morphologiques

Les cellules de levures sont généralement ovoïdes ou sphériques, parfois cylindriques. Leur taille va de 2 à 3 microns et même jusqu'à 5 microns chez certaines espèces de levures. Les

Chapitre II : généralité sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire

cellules peuvent après bourgeonnement rester liées les unes aux autres et constituer aussi un pseudomycélium. Plus ou moins différencié suivant les genres ou les espèces. Dans certaines conditions, d'autres levures peuvent produire de mycéliums caractéristiques de champignons filamenteux, comportant des cloisons transversales ou septa et présentant une croissance apicale (BOURGEOIS et al, 1988)

3.2 Caractères physiologiques et biochimiques :

Les levures étant dépourvues de chlorophylle sont incapables de produire les composés organiques nécessaires à leur croissance à partir de substrats minéraux comme le font les végétaux supérieurs, les algues et quelques bactéries. Elles sont donc saprophytes et quelques fois parasites. Pour leur croissance, elles ont besoin d'oxygène, de sources organiques de carbone, d'azote minéral ou organique, de divers minéraux, d'une température et d'un pH adéquats. Certaines d'entre elles ont également besoin d'un ou plusieurs vitamines comme par exemple la thiamine (vitamine B1), biotine (vitamine B8), inositol (vitamine B7), acide pantothénique (vitamine B5) (Karlson, 1970) et d'autres facteurs de croissance. Toutes sont capables d'utiliser le D-glucose, le D-fructose et le D-mannose. Certaines levures produisent des lipides (*Lipomyces starkeyi*) d'autre ont une activité lipolytique. Elles utilisent de nombreux substrats carbonés soit uniquement par voie oxydative (*Cryptococcus*, *Rhodotorula*), soit pour la plupart, après une phase aérobie de démarrage de la croissance, par métabolisme fermentaire (anaérobie) conduisant à la production d'éthanol et de CO₂. Les levures ne provoquent pas d'intoxications alimentaires et seules *Condida albicans* et *Ccryptococcus neoformants* sont pathogènes (Bourgeois et al. 1988).

4. Habitats

Les levures sont des espèces ubiquitaires donc elles sont largement distribuées dans la nature. Elles se rencontrent surtout chez les végétaux riches en sucres directement assimilables (Leveau et Bouix, 1991). En effet, les milieux fortement concentrés en sucres représentent un de leur environnements préférés, comme les sirops, le miel, les fleurs et de nombreux fruits (les pommes, les raisins) (Leclerc, 1975 ; Oteng-Gyang, 1984). Des levures peuvent également vivre à la surface ou à l'intérieur d'autres êtres vivants et aussi dans les eaux, dans l'atmosphère et dans le sol (Leveau et Bouix, 1993 ; Pol, 1996). Par ailleurs, le sol constitue un large réservoir assurant leur survie dans des conditions défavorables (Leclerc, 1975).

Chapitre II : généralité sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire

5. Reproduction des levures

Généralement, dans des conditions favorables à leur croissance, les levures se multiplient par reproduction asexuée (bourgeoisement ou scissiparité) mais dans des conditions défavorables, la reproduction est sexuée (**Bonaly, 1991**).

5.1. Reproduction asexuée ou végétative

Généralement les levures se multiplient par bourgeoisement. (**Larpen Gourgaud, 1997**). C'est le processus asexué au cours duquel la cellule mère émet une petite excroissance ou bourgeon qui augmente de taille et s'organise à l'aide d'une partie du matériel nucléaire et cytoplasmique de la cellule parentale (**Leclerc et al., 1983**). Cette multiplication se traduit, lors de la séparation des cellules, par la formation d'une cicatrice de bourgeoisement sur la cellule mère et d'une cicatrice de naissance sur le bourgeon (**Belin, 1972**). Dans le mode de multiplication par bourgeoisement, il ne se forme pas deux bourgeons sur le même site (sauf cas de bourgeoisement bipolaire) et le nombre de bourgeons par cellule se trouve donc limité (**Miller, 1983**).

5.2 Reproduction sexuée

Les levures appartiennent aux eucaryotes et de ce fait, présentent les caractéristiques de la division méiotique: fusion de deux noyaux haploïdes, formation d'un noyau diploïde. La persistance de la membrane nucléaire pendant la division conduit à une structure en 4 lobes autour desquels se forme une paroi qui entraîne la rupture de la membrane nucléaire et l'individualisation des spores. La reproduction sexuée s'effectue par conjugaison de deux cellules qui donnent naissance à un zygote. Les levures ascomycètes présentent des phénomènes de reproduction sexuée par formation d'un asque renfermant des ascospores issues de la méiose. (**Bourgeois et Leveau, 1991**). Après différenciation et méiose un asque à 4 ascospores haploïdes se forme (**Oteng-Gyang, 1984**). Certaines levures sporogènes forment des spores sur n'importe quel milieu, en revanche, d'autres exigent des conditions de croissance ou de sporulation bien déterminées. En l'absence de ces conditions, une levure sporogène peut se multiplier indéfiniment par voie végétative (**Bourgeois et Larpen, 1989**).

Chapitre II : généralité sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire

6. Classification :

Selon leur mode de reproduction, les champignons se regroupent en trois grandes classes (KregerVan, 1984 ; Lodder, 1971 ; Bouix et Leveau, 1991) :

→ **Les ascomycètes** : se reproduisent par un processus sexué dans un asque résultant de la transformation d'une cellule après méiose.

→ **Les basidiomycètes** : réalisent une reproduction sexuée avec formation de basidiospores sur une baside.

→ **Les deutéromycètes** : regroupent l'ensemble des levures ne présentant pas de mode connu de reproduction sexuée, ne se multipliant que par reproduction végétative.

Tableau N°03 : Classification des levures (Kreger-Van, 1984 ; Spencer et Spencer, 1993)

Les levures ascomycètes	Les levures basidiomycètes	Les levures imparfaites
1.Schizosaccharomycetoidea <i>Schizosaccharomyces</i>	Levures formant des téliospores	Sporobolomycetaceae
2.Saccharomycetoidea <i>Ambrosiozyma</i> <i>Arthroascus</i> <i>Arxiozyma</i> <i>Citeromyces</i> <i>Clavispora</i> <i>Cyniclomyces</i> <i>Debaryomyces</i> <i>Dekkera</i> <i>Guilliermondella</i> <i>Hansenula</i> <i>Issatchenkia</i> <i>Kluyveromyces</i> <i>Lodderomyces</i> <i>Pachysolen</i> <i>Pachytichospora</i> <i>Pichia</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Saccharomycopsis</i>	<i>Leucosporidium</i> <i>Rhodospordium</i> <i>Sporidiobolus</i> Filobasidiaceae <i>Chionosphaera</i> <i>Filobasidiella</i> <i>Filobasidium</i> Sirobasidiaceae et Tremellaceae <i>Fibulobasidium</i> <i>Sirobasidium</i> <i>Holtermannia</i> <i>Tremella</i> Levures non classées	<i>Bullera</i> <i>Sporobolomyces</i> <i>Cryptococcaceae</i> <i>Aciculoconidium</i> <i>Brettanomyces</i> <i>Candida</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Eeniella</i> <i>Fellomyces</i> <i>Kloeckera</i> <i>Malassezia</i> <i>Oosporidium</i>

Chapitre II : généralité sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire

<i>Schwanniomyces</i>	<i>Sterigmatosporidium</i>	<i>Phaffia</i>
<i>Sporopachydermia</i>		<i>Rhodotorula</i>
<i>Stephanoascus</i>		<i>Schizoblastosporion</i>
<i>Torulasporea</i>		<i>Sterigmatomyces</i>
<i>Wickerhamiella</i>		<i>Sympodiomyces</i>
<i>Wingea, Yarrowia</i>		<i>Trichosporon</i>
<i>Zygosaccharomyces</i>		<i>Trigonopsis</i>
3. Lipomycetoideae		
<i>Lipomyces</i>		
4. Nadsonioideae		
<i>Hanseniaspora</i>		
<i>Saccharomyces</i>		
<i>Wickerhamia</i>		
5. Spermophthoraceae		
<i>Coccidiascus Metschnikowia</i>		
<i>Nematospora</i>		

7. Les besoins nutritifs

Les nutriments sont apportés au milieu de culture de façon graduelle pour maintenir une faible concentration de glucose afin d'encourager la respiration et la reproduction cellulaire des levures. Les éléments chimiques nécessaires à la croissance des levures sont :

7.1. Sources de carbone

Il est maintenant bien établi que la plupart des levures utilisent des sucres comme source principale de carbone et par conséquent d'énergie. D'autres levures particulières utilisent des sources de carbone non conventionnelles (éthanol, glycérol) (**Barnett, 1976 et Tamaki et Hama, 1982**). Cependant, leur croissance sur des substrats non- glucidiques les oblige à

Chapitre II : généralité sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire

synthétiser des sucres exigés pour la biosynthèse macromoléculaire, en particulier celle des polysaccharides complexes (**Walker et al., 1997**).

7.2. Source d'azote

Comme les levures ne peuvent pas fixer l'azote libre, elles dépendent de ses formes oxydées ou réduites pour la synthèse des composés azotés structuraux et fonctionnels de la cellule (**Babjeva et al., 1977**). La plupart des levures sont capables d'assimiler différentes sources d'azote organiques et inorganiques dans la biosynthèse des acides aminés, des protéines, des acides nucléiques et des vitamines (**Guiraud, 1998**). L'assimilation des ions d'ammonium (fournis dans le milieu ou dérivés du catabolisme d'autres composés azotés) est largement répandue chez les levures. Cependant, d'autres espèces levuriennes se caractérisent par une capacité à utiliser les nitrates et d'autres composés, comme source d'azote (**Walker et al., 1997**).

7.3. Oligoéléments et facteurs de croissance

Les levures ont besoin d'éléments nutritifs pour assurer un développement adéquat. Il s'agit de sels minéraux et d'oligoéléments nécessaires à de très faibles concentrations (**Suaritet al., 1988**). Les oligo-éléments sont essentiels pour la cellule, puisqu'ils réagissent comme cofacteurs de divers enzymes impliquées dans le métabolisme microbien. Ils sont nécessaires en très petites quantités mais un excès provoquera la dénaturation d'enzymes et une perturbation de la morphologie et de la physiologie cellulaire et de la vitesse de croissance (**Blom et al., 2000**). Les oligo-éléments augmentent la production de l'éthanol de 20% par *Saccharomyces cerevisiae* (**Guiraud, 1996**). De plus, d'autres facteurs sont essentiels comme les vitamines (la biotine, la thiamine et l'acide pantothénique), qui interviennent lors des réactions enzymatiques, comme des coenzymes (**Aguilar Uscanga, 2003**).

I. L'utilisation des levures :

Grace à leur métabolisme très diversifié, les levures occupent une place majeure dans l'industrie agro-alimentaire et sont utilisées pour produire une gamme de produits alimentaires : la panification, la fromagerie, ... (**Simon et Meunier, 1970**).

Chapitre II : généralité sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire

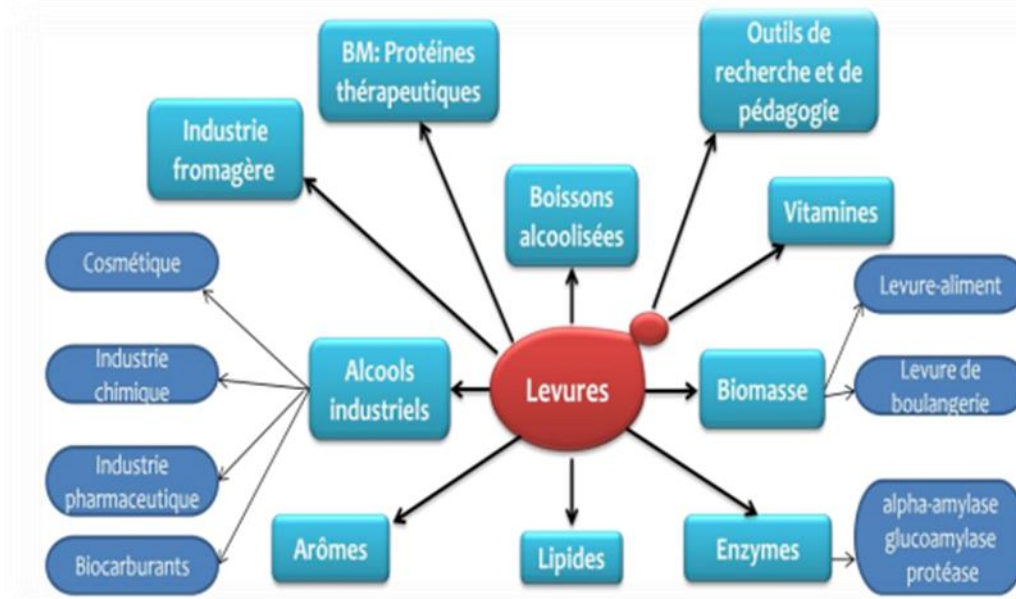


Figure 3: représentation schématique des différents domaines d'utilisation de la levure. (Rezki-Bekki, 2014)

1. L'utilisation de levures dans les industries agro-alimentaires

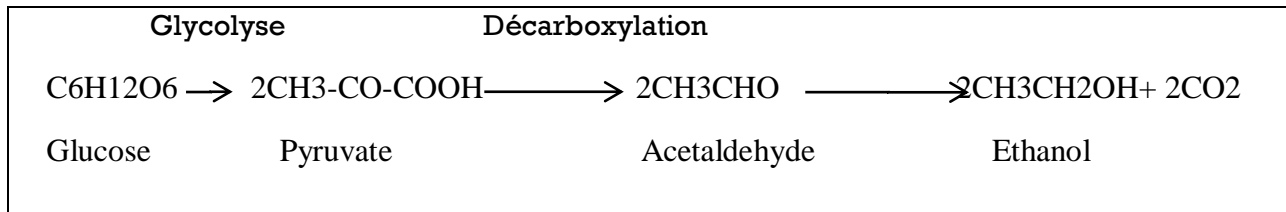
De nombreux produits de consommation quotidienne sont élaborés grâce à l'activité précieuse et importante des micro-organismes. Les levures, par leur activité de fermentation assurent des caractéristiques bien particulières de texture et d'arôme, mais aussi une bonne sécurité alimentaire grâce aux acides organiques produits. Les Levures qui en sont responsables sont toutes regroupées sous la même appellation de bactéries lactiques. Depuis des siècles jusqu'à l'avènement des biotechnologies, où la biologie moléculaire et le génie génétique permettent de transformer facilement les micro-organismes pour les rendre plus performants, la fermentation concernent tous les types de produits alimentaires comme le lait (fromages, crèmes, yaourt et autres laits fermentés), la viande (saucisse fermentée et produit saumuré sec), les végétaux (vins, bières, cidres) et les pains (Abdelguerfi. A, Ramdane, 2003).

1.1 Utilisation des levures dans la production des boissons alcoolisées

La fermentation alcoolique se déroule en milieu anaérobie. Elle est assurée par des levures de genre *Saccharomyces* qui sont présentes naturellement sur les fruits comme les dattes. Elles sont principalement basées sur transformation des sucres, essentiellement glucose et fructose, qui pénètrent dans la cellule de la levure par diffusion facilitée et subissent une

Chapitre II : généralité sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire

phosphorylation aboutissant à la fin de la fermentation à l'alcool éthylique, mais aussi de la production de différents composés qui accompagnent cette production d'alcool et jouant un rôle organoleptique majeur sur la qualité du produit (**Bourgeois et al, 1989; LARPENT, 1991**). La réaction de fermentation alcoolique se déroule selon l'équation suivante :



1.2 Utilisation des levures dans la panification

La levure de boulangerie est caractérisée par le fait qu'elle est composée de cellules vivantes de l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*: 19 de levure fraîche contient environ 10¹⁰ cellules. Le pain traditionnel correspond au produit résultant de la cuisson dans un four d'une pâte pétrie et composée uniquement de farines panifiables, en mélange ou non d'eau potable et de sel de cuisine. Cette pâte est fermentée par des agents de fermentation autorisés, employés simultanément ou non: levure de panification, levain. On ajoute éventuellement des additifs ou adjuvants dont l'emploi est limité et autorisé (**Larpen, 1992**).

1.3 Utilisation des levures dans les industries des produits laitiers

Les levures font partie de la flore normale du lait cru (environ 10⁴ UFC/ml) et sont presque entièrement détruits par pasteurisation (**Hermier et al., 1992**). Elles sont présentes à tous les stades de la fabrication du fromage à raison de 10⁶ et 10⁸ cellules/g (**Larpen, 1991**), elles peuvent participer à la maturation des fromages par la fermentation du lactose, la consommation de l'acide lactique, la production de substances stimulantes et par leurs activités protéolytique, lipolytique et de production de composés d'arôme (**Nunez et al., 1981**). Différent travaux a montrent que les levures présentent dans tous les stades de la maturation des fromages telle que la fromage Bleu et le fromage de Roquefort, Camembert, Gorgonzola et d'autres types de fromage (**Nunez et al., 1981**).

1.4 Les levures dans les industries des produits carnés

Chapitre II : généralité sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire

A la surface des boyaux de viande fermentée (saucisses) se développent de petits points blancs, la fleur, composée de cristaux de sel, de microcoques et de levures dont les plus représentatives sont *Candida deformans*, *Candida zeylanoïdes*, *Debaryomyces hansenii*, *Rhodotorula rubra*... (**Bourgeois et Larpent, 1996**). Plusieurs auteurs ont montré que le genre *Debaryomyces* prédominait (**Larpent, 1991**). Ces produits sont habituellement obtenus à partir de maigre et de gras de viande additionnés de sels, glucides et épices. Les viandes ne sont pas pasteurisées comme le lait et apportent donc une quantité considérable de micro-organismes, sauf si des techniques de décontamination sont appliquées (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

2 Autre utilisation de la levure

2.1 Les levures et la production de médicaments

L'utilisation de micro-organismes pour la production de protéines à haute valeur ajoutée (hormones , vaccins ...) a été l'une des premières applications envisagées pour le génie génétique .Elle permet de s'affranchir des problèmes liés à la difficulté de purifier ces protéines à partir de leurs producteurs naturels (l'homme par exemple), de s'assurer l'absence de contaminants redoutés (virus , prions) et , pour un industriel , de maîtriser totalement la chaîne de production (**Larpent, 1991**).

En 1977, la première hormone peptidique, la somatostatine, était produite dans la bactérie *Escherichia coli* .Mais des problèmes de purification ont amené les chercheurs vers d'autres organismes comme les levures. Les levures offrent les mêmes facilités expérimentales ou industrielles que les bactéries, en particulier culture aisée en fermenteurs à haute densité cellulaire, tout en possédant une machinerie cellulaire proche de cellule humaine (**Larpent, 1991**). Les levures utilisant afin de bio transformer grâce à son action métabolique des matières premières en molécules plus intéressantes, notamment en médicaments. Un grand nombre de réactions chimiques (hydroxylation, phosphorylation, oxydation, réduction...) est ainsi réalisé par des micromycètes (*Curvularia*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Fusarium*). Citons par exemple, la conversion des stéroïdes, dans laquelle la 11 α -hydroxylation du noya stéroïdien conduit à l'hydrocortisone et à la prednisolone (**Larpent, 1991**).

2.2. L'utilisation de levure dans la production d'enzymes

Chapitre II : généralité sur les levures et leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire

Les nouvelles biotechnologies les exploitent aussi pour la production d'enzymes, de glycérol ainsi que de vitamines, de protéines,... et pour la revalorisation des déchets agricoles et industriels. Le domaine médical les exploite aussi largement pour la production de molécules biologiques d'intérêt: cas du vaccin de l'hépatite B par exemple (**Mercier, 1997; Blin, 2002**). Le tableau N° 04 présente quelques enzymes d'origine levuriennes ainsi que leurs domaines d'utilisation

Tableaux N°4 : Production et utilisations de certaines enzymes levuriennes. (**Simon et Meunier, 1970; Sicard, 1982**)

Levures utilisées	Types d'enzymes	Utilisations
<i>Lipomyces starkey</i> <i>Schwanniomyces castellii</i>	Amylases	Saccharification de l'amidon, Boulangerie, Textile, Papeterie
<i>Saccharomyces carlbergensis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Invertases	Confiserie
<i>Candida lipolytica</i>	Lipases	Fromagerie, laiterie.
<i>Candida pseudotropicalis</i> <i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Kluyveromyces lactis</i>	Lactases	Crèmes glacées

Parties II:

Parties experimental

1. Echantillonnage

Deux variété de blé dur ont été utilisés dans cette étude, les variétés Simeto et Vitreux. Ces variétés ont été sélectionnées en fonction de leur disponibilité sur le marché de la commune d'El-Beida, région d'Aflou, wilaya de Laghouat. Le prélèvement a été effectué dans deux exploitations privées situées dans la commune d'El-Beidha durant les mois d'Octobre et de Novembre 2021. Toutes les informations concernant l'échantillonnage ont été récapitulées dans le Tableau N°05.

Tableau N°05 : Informations concernant l'échantillonnage de semoule de blé utilisé dans cette étude

Variétés	Date	Origine	Quantité	stockage
variété vitreux	12 octobre 2021	Commune El-Beidha (Fadeg)	500 g	dans des bocaux en verre, endroit sec
Variété simeto	2 novembre 2021	Commune El-Beidha (Toumiat)	500 g	

2. Préparation du levain naturel (Sourdough)

Pour préparer le levain naturel (sourdough), les ingrédients ci-dessous ont été utilisés selon la méthode de **Bourgeois et Larpent (1996)**:

- Semoule (simeto ou vitreux).
- Eau physiologie stérile chauffée à 45 °C.

La préparation de levain naturel consiste à mélanger la semoule et l'eau physiologique stérile chauffée à 45 °C puis passer on richesse de la flore naturelle de la semoule selon le protocole indiqué dans le (tableau N° 06):

Tableau N°06: les étapes de préparation du levain naturel (sourdough) fermenté traditionnellement (**Bourgeois et Larpent (1996)**).

Levain	Variété	Ingrédients	Incubation (repos)
Levain 1	vitreux	Semoule +eau	24h
	simeto	Semoule +eau	24h
Levain 2	vitreux	Levain 1+Semoule +eau	24h
	simeto	Levain 1+Semoule +eau	24h
Levain 3	vitreux	Levain 2+Semoule +eau	24h
	simeto	Levain 2+Semoule +eau	24h

3. Isolement des levures de levain

Pour l'isolement des levures, 10 g de chaque levain fermenté traditionnellement ont été homogénéisés avec 90 ml d'eau physiologique stérile pour obtenir une solution mère de 10^{-1} . A partir de cette solution mère, une série de dilutions décimales est réalisée jusqu'à 10^{-4} . Ensuite, 0.1 ml de chaque dilution est étalé en surface sur du milieu de culture sélectif YPD agar (Yeast extract Peptone Dexstrose) additionné de chloramphénicol (0.1 g/l) comme antibactérien. Les colonies caractéristiques des levures se développent à la surface du milieu d'isolement après l'incubation des boîtes à 35°C pendant 72 h (**Tsegaye et al., 2018**).

4. Purification et conservation des levures

Après 72 h d'incubation à 35°C, les colonies bien distinctes et bien développées ont subi un nouveau ensemencement par une anse de platine en stries sur le milieu YPD agar, et les boîtes ont été ensuite conservées dans les mêmes conditions d'incubation à fin d'obtenir des colonies pures (**Larpent, 1991**). Pour la conservation des isolats, les colonies pures sont prélevées et transférées à des tubes contenant de bouillon YPD stérile, puis incubées pendant 3 jours à 35°C jusqu'à l'obtention de trouble et dégagement de gaz. Les isolats sont ensuite stockés à 4°C pour une période d'un mois maximum. Chaque isolat passe par des examens

macroscopiques et microscopiques afin de confirmer leur appartenance au groupe de *Saccharomyces* spp.

5. caractéristique morphologique

5.1.Observation macroscopique

Cette étude est effectuée à partir d'ensemencement sur le milieu YPD liquide et solide. Le but de ce test est d'examiner l'aspect, la forme, la couleur et la consistance des cultures en milieu solide ainsi que le dégagement de gaz et la présence de dépôt en milieu liquide (**Guiraud, 1998**). Après 24h d'incubation à 35°C, les caractéristiques de cultures sont visible à l'œil nu.

5.2.Observation microscopique à l'état frais

Cette étude consiste en un examen à l'état frais sous microscope optique d'un prélèvement issu de chaque isolat de levure pure afin de déterminer la forme des cellules végétatives (**Bouix et Leveau, 1991**). Une colonie de chaque isolat pur mise en suspension dans une goutte d'eau distillée stérile à l'aide d'une anse de platine, est montée entre lame et lamelle puis observée au microscope optique au grossissement (x40), en comparant avec les caractères microscopiques de la levure commercial (*Saccharomyces cerevisiae*) (**Singleton., 2005**).

5.3.Observation microscopique après la coloration

Deux colorants ont été utilisés dans cette étude pour l'observation des frottis, le Lugol et le bleu de méthylène. Une colonie de chaque isolat pur est déposée sur une lame, fixée à la chaleur et colorée par le Lugol ou le bleu de méthylène. Après un bref rinçage, la lame est séchée puis observée au microscope à l'objectif (X40) puis à immersion (X100) pour déterminer la forme (sphérique, ovoïde, allongée), la taille et le mode de reproduction des levures (bourgeoisement latérale ou polaire) en comparant avec les caractères microscopiques de la levure commercial (*Saccharomyces cerevisiae*) (**Guiraud., 1998**).

6. caractéristique physiologique :

6.1 Fermentation des sucres

Pour étudier la fermentation des sucres par les levures, 7 sucres ont été testés dans cette étude: le glucose, le maltose, le fructose, le sucrose, le lactose, le D-galactose, et arabinose. Le milieu de base utilisé pour la fermentation des sucres est le bouillon YP additionné de 2% des sucres en ajoutant un indicateur de couleur (Bromocresol purple). Une série de tubes de 15 ml aux cloches de Durham ont été préparés. Les tubes ont été ensemencés avec des isolats de *Saccharomyces* spp. Sélectionnés pour cette étude. Une souche commerciale de *Saccharomyces cerevisiae* a été utilisée comme témoin pour comparer le profil de fermentation des sucres des différents isolats. Les tubes sont incubés à 35°C pendant 24 heures. Le sucre est fermenté lorsqu'il y a virage de couleur et production de gaz dans la cloche de Durham. Notons que, tous les essais sont répétés deux fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

6.2 Tolérance à l'éthanol

Le critère de choix de la sélection des souches de levures performantes se résume dans leur capacité à résister à des concentrations élevées en éthanol (**Da Silva et al, 2013**). Pour l'étude de capacité de tolérance des isolats de levure à l'éthanol, le bouillant YPD additionné de 20 % (v/v) d'éthanol a été utilisé. Une série de tubes de 15 ml ont été préparés et inoculés de 1ml de chaque culture afin d'obtenir une densité optique (DO_{600}) de 0.1. Chaque 4 heures, la croissance des levures a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre de type Jenway, 6405 UV/VIS (Essex, UK) à une longueur d'onde 600 nm pendant 24 heures d'incubation à 35°C.

6.3. Résistance aux sels biliaires

Les sels biliaires capables d'affecter l'intégrité cellulaire des bactéries et des levures en agissant sur leur membrane plasmique (**Begley et al. 2005**). La capacité de survie peut être modifiée par la présence de la bile qui peut provoquer un stress chez les cellules sensibles. Contrairement, l'action de la bile persiste plus longtemps (**Singhal et al, 2010**) dont la concentration moyenne de bile intestinale est de 0.3 % (p/v) (**Prasad et al. 1998**). Pour déterminer la résistance des isolats de levure aux sels biliaires, le bouillant YPD additionné aux 0.3 % (w/v) de sels biliaires d'origine bovine a été utilisé. Une série de tubes de 15 ml ont été préparés et inoculés de 1ml de chaque culture afin d'obtenir une densité optique (DO_{600}) de 0.1. La croissance des levures a été mesurée chaque 4 h à l'aide d'un

Matériel et méthodes

spectrophotomètre de type Jenway, 6405 UV/VIS (Essex, UK) à une longueur d'onde 600 nm pendant 24 heures d'incubation à 35°C.

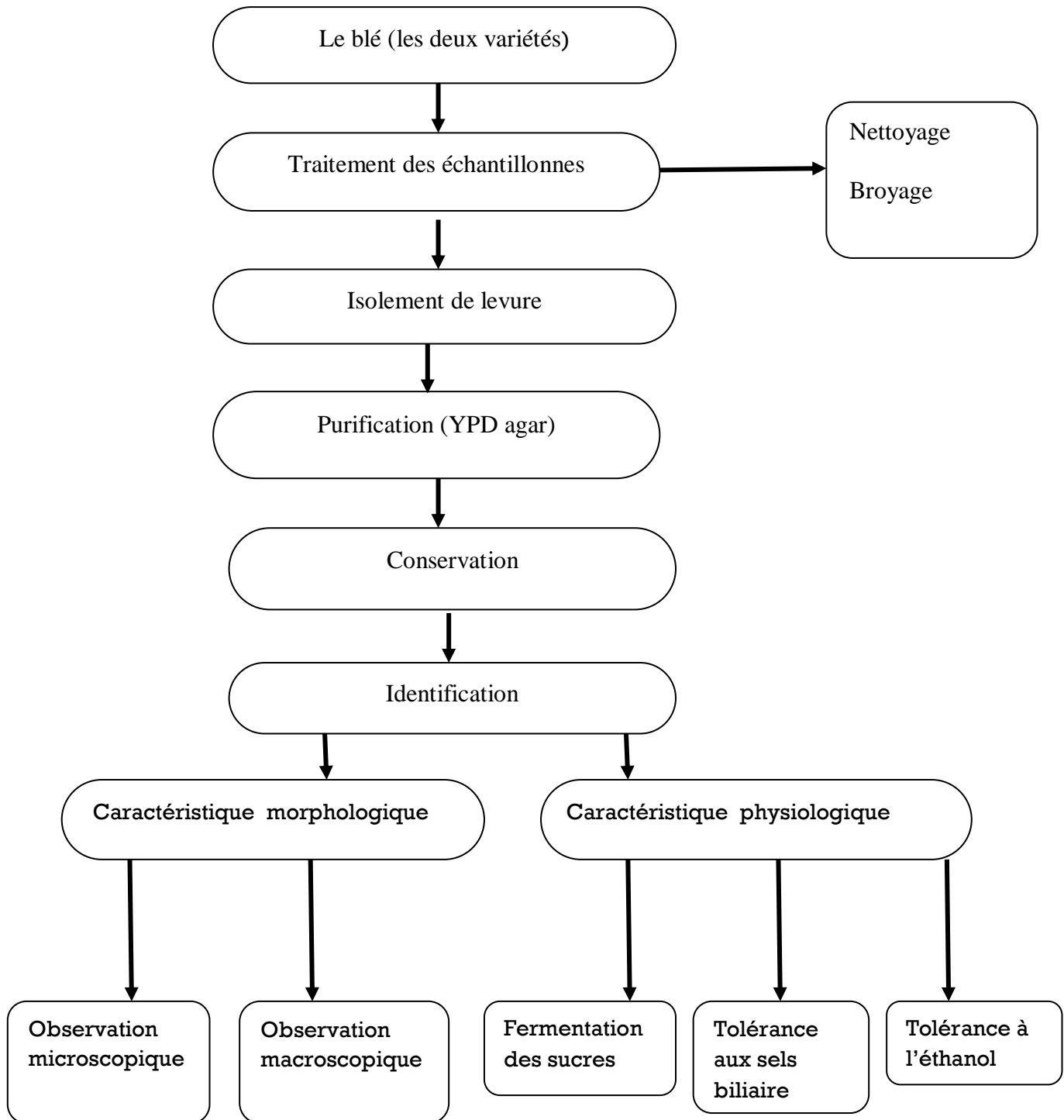


Figure 04 : Logigramme du protocole expérimental d'étude.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Levain (sourdough)

Après la fermentation de levain de deux variétés de semoule pendant 72 h à la température 35°C, on remarque un doublement de volume de pâte, un dégagement de gaz, et un changement d'odeur (Figure04), ce qui permet de dire que l'opération de fermentation est bien déroulée.



Figure05: Résultats de fermentation de levain (Photographie originale, 2022).

2. Isolement des levures

L'isolement des levures à partir des deux échantillons de levain a permis d'obtenir 26 isolats codés pour l'échantillon Simeto : SY1, SY2, SY3, SY4, SY5, SY6, SY8, SY9, SY10, SY11, SY12, SY13, SY14, et pour l'échantillon Vitreux: VY3, VY4, VY5, VY6, VY7, VY8, VY9, VY10, VY11, VY12, VY13, VY14.

3. Caractéristique morphologique

3.1. Observation macroscopiques :

Après l'incubation de 24 h à 35°C sur le milieu sélective YPD agar, les colonies présentent une forme ronde à une couleur blanche ou opaque avec une consistance crémeuse, un contour

Résultats et discussion

régulier et des reliefs bombés (Figure05). En milieu liquide (bouillon YPD), on note le caractère gazogène (CO₂) et formation d'un dépôt épais qui représente la levure.

Les propriétés morphologiques des colonies varient avec les espèces de levures, mais aussi peuvent intervenir les conditions de culture (température, pH, milieu de culture...etc.) (Guiraud et Galzi, 1980).

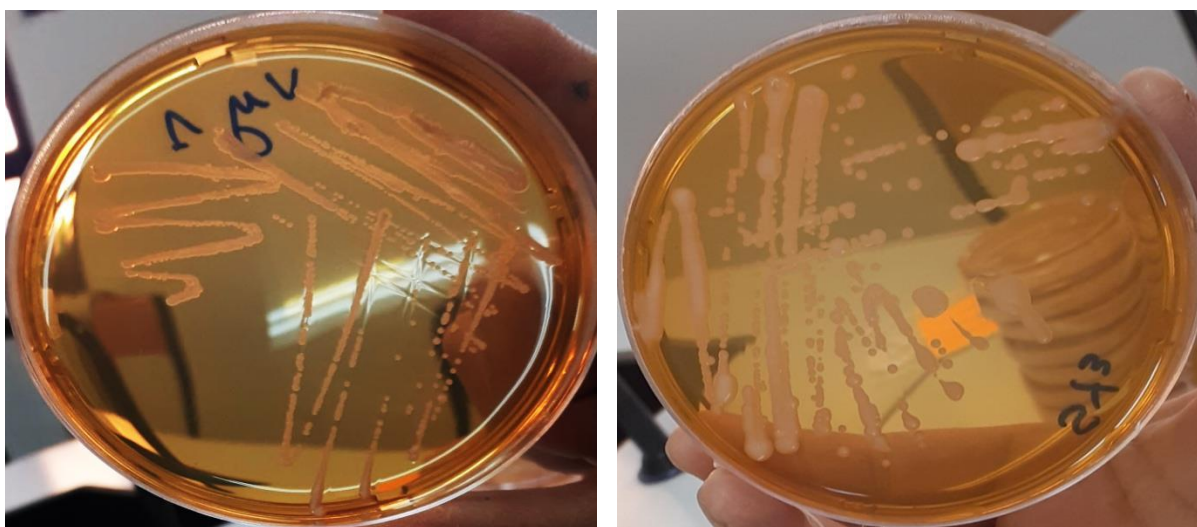
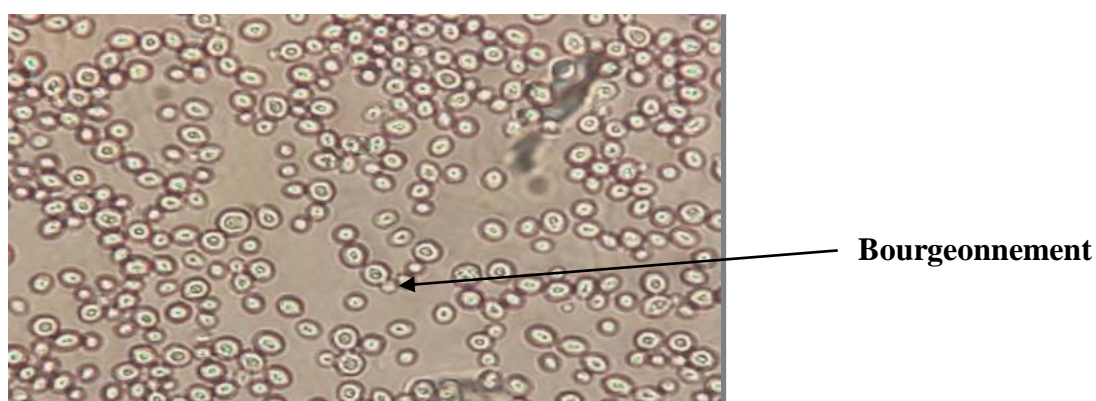


Figure06 : observation macroscopique de colonie d'isolat SY3 et VY1 (Photographie originale, 2022)

3.2. Observation microscopiques

L'identification des levures, repose sur la détermination de divers caractères morphologiques et physiologiques (Lodder, 1971 ; Schmidt, 1984). La levure est un organisme eucaryote unicellulaire, elle est constituée par une cellule qui présente une structure plus complexe que celle de la bactérie (procaryote) notamment par la présence d'un noyau, de mitochondrie, d'un appareil de Golgi et de plus d'un chromosome (*Saccharomyces cerevisiae* à 16 chromosomes) (Labrecque, 2003).



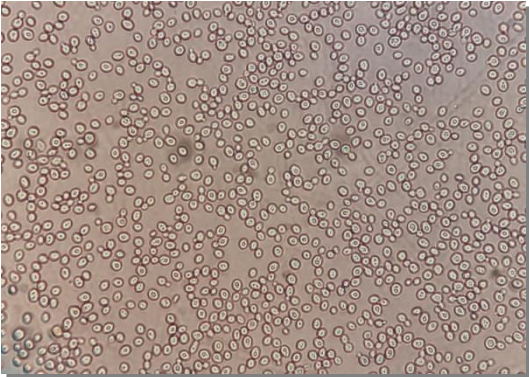
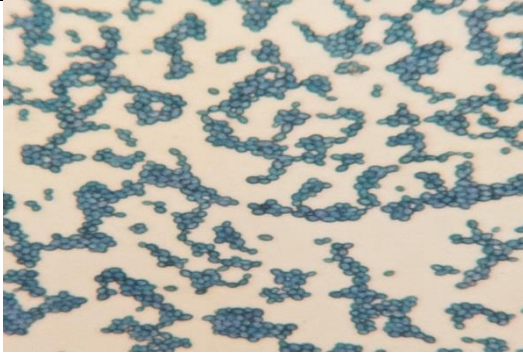
Résultats et discussion

Figure 07 : Observation microscopique de l'isolat SY8 à l'état frais (G \times 40) (**Photographie originale, 2022**).

Les résultats de l'observation microscopique des isolats sont les suivants (Tableau N°07) :

- La forme des cellules : arrondie.
- Mobilité : immobile.
- Mode de division : bourgeonnement unipolaire.
- Modes de groupement : isolée.

Tableau N°7: Caractéristique microscopique des isolats à l'état frais et après la coloration par lugol et le bleu de méthylène à l'objectif 40.

Coloration	Observation microscopique
Observation à l'état frais	
Observation après la coloration de bleu de méthylène	

Résultats et discussion



4. caractéristique physiologique :

4.1. Fermentation de sucre

Les résultats de fermentation des 7 sucres (le glucose, le maltose, le fructose, le sucrose, arabinose et lactose, D-galactose) sont présentés dans le tableau (N°08). Les isolats sont capable de fermenter l'ensemble des sucres (le glucose, le maltose, le fructose, le sucrose, D-galactose) et incapable d'assimiler l'arabinose et le lactose. Cette fermentation est décelée par un dégagement de gaz dans les cloches de Durham et un virage de couleur. *Saccharomyces* peut être identifié par sa capacité à fermenter le saccharose, le maltose, le fructose, le glucose, galactose mais pas lactose (Twhais et al. 2006).

TableauN°08 : Résultats de fermentation des sucres (le glucose, le maltose, le fructose, le sucrose, arabinose et lactose, D-galactose) par les isolats de *Saccharomyces* spp .

Isolat/sucres	Maltose	Sucrose	Galactose	Glucose	Fructose	Arabinose	lactose
Témoin	+	+	+	+	+	-	-
Sy1	+	++	+	+	+	-	-
Sy2	+	+	+	+	+	-	-
Sy3	-	+	+	+	+	-	-
Sy4	+	+	+	+	+	-	-
Sy5	+	+	+	+	+	-	-
Sy6	+	+	+	+	+	-	-
Sy7	+	+	+	+	+	-	-
Sy8	-	+	+	+	+	-	-
Vy3	+	+	+	+	+	-	-
Vy4	+	+	+	+	+	-	-
Vy5	+	+	+	+	+	-	-

Résultats et discussion

Vy6	+	+	+	+	+	-	-
Vy7	+	+	-	+	+	-	-
Vy8	+	+	+	+	+	-	-
Vy9	+	+	+	+	+	-	-
Vy10	+	+	-	+	+	-	-

– Absence de fermentation, + fermentation faible, ++ fermentation moyenne, +++ fermentation forte

4.2 La résistance à l'éthanol

Les résultats de la résistance des isolats sélectionnés à l'éthanol sont présentés dans le tableau (N°09).

Après 24 h d'incubation, tous les isolats ont résisté aux fortes concentrations d'éthanol 20%, indiquant que certains isolats comme VY4, VY8, VY9 ont montré une croissance rapide et une tolérance claire à l'éthanol par rapport aux autres isolats testés (de 2.3×10^6 à 4×10^6 UFC/ml). Néanmoins, certains isolats (SY2, SY6, SY7, VY3, VY3, VY10) ont développé très lentement en présence de 20% d'éthanol par rapport au témoin (3×10^6), montrant que les isolats de levures ne présentent pas la même sensibilité à l'éthanol. Les plus résistantes sont les *Saccharomyces* que l'on utilise dans les procédés de fermentation alcoolique pour l'élaboration des boissons ou la fabrication d'éthanol industriel et cette tolérance dépend de la composition des membranes cytoplasmiques des cellules et en particulier des lipides. Cette composition dépendant elle-même du milieu de culture et de la température d'incubation (Leveau et Bouix., 1986).

Tableau N°09 : Résultats de la résistance des isolats de *Saccharomyces* spp. à l'éthanol 20% (v/v).

Isolat/h	4h/DO ₆₀₀	8h/DO ₆₀₀	12h/DO ₆₀₀	16h/DO ₆₀₀	20h/DO ₆₀₀	24h/DO ₆₀₀
Témoin	0.036	0.010	0.094	0.145	0.179	0.202
Sy1	0.035	0.020	0.046	0.072	0.099	0.128
Sy2	0.060	0.035	0.023	0.012	0.011	0.022
Sy3	0.096	0.059	0.072	0.085	0.109	0.135
Sy4	0.036	0.020	0.037	0.047	0.054	0.180
Sy5	0.076	0.056	0.041	0.026	0.049	0.125

Résultats et discussion

Sy6	0.005	0.042	0.029	0.016	0.026	0.081
Sy7	0.058	0.032	0.034	0.036	0.071	0.093
Sy8	0.009	0.034	0.072	0.111	0.140	0.156
Vy3	0.016	0.002	0.012	0.022	0.042	0.045
Vy4	0.093	0.025	0.074	0.123	0.169	0.198
Vy5	0.045	0.024	0.021	0.018	0.080	0.120
Vy6	0.034	0.018	0.037	0.042	0.057	0.094
Vy7	0.114	0.045	0.067	0.090	0.148	0.168
Vy8	0.052	0.029	0.043	0.058	0.145	0.266
Vy9	0.054	0.054	0.057	0.060	0.123	0.294
Vy10	0.030	0.030	0.0375	0.026	0.045	0.050

Saccharomyces cerevisiae, producteur traditionnel d'éthanol, a toujours été considérée comme une souche résistants aux fortes concentrations en éthanol (**Bai et al., 2004, pina et al. 2004**), Bien que l'éthanol soit le produit final de la fermentation, il devient un facteur de stress important en s'accumulant dans le milieu. Il est connu comme un inhibiteur de la croissance des microorganismes. Une fois produit par les levures, il diffuse à travers la membrane plasmique, inhibe la croissance (**Piper, 1995**) diminue la viabilité des cellules (**Bai et al., 2004**),

4.3. La résistance aux sels biliaries

Résultats de la capacité des isolats de levures sélectionnés à croître dans un milieu YPD additionné aux sels biliaries d'origine bovine 0.3 (m/v) sont présentés dans le tableau (N°10). Après 24 heures d'incubation, les résultats montrent que les isolats *Saccharomyces* spp. ont une capacité assez importante à croître dans des concentrations élevées en sels biliaries. Tous les isolats commencent se développer rapidement à partir de 8 h d'incubation, particulièrement SY2, SY5, VY 8, VY10, qui sont les plus résistantes aux sels biliaries avec des valeurs entre $3,5 \times 10^7$, $3,8 \times 10^7$ UFC/ml, par contre quelques isolats comme SY8, SY1, VY9 et VY9 montrent une résistance faible aux sels biliaries par rapport aux autres isolats et au témoin.

Résultats et discussion

Tableau N°10 : Résultats de la résistance des isolats de *Saccharomyces* spp. Aux sels biliaires

Isolat/heurs	4h DO ₆₀₀	8h DO ₆₀₀	12h DO ₆₀₀	16h DO ₆₀₀	20h DO ₆₀₀	24h DO ₆₀₀
Témoin	0.238	0.330	0.785	1.240	1.568	1.793
Sy1	0.284	0.400	0.762	1.125	1.256	1.368
Sy2	0.316	0.651	1.211	1.680	1.690	1.725
Sy3	0.351	0.742	1.125	1.508	1.643	1.536
Sy4	0.166	0.306	0.698	1.090	1.358	1.667
Sy5	0.221	0.414	0.769	1.124	1.582	1.835
Sy6	0.215	0.280	0.642	1.004	1.540	1.572
Sy7	0.254	0.445	0.9015	1.358	1.440	1.514
Sy8	0.104	0.322	0.899	1.477	1.100	1.115
Vy3	0.110	0.304	0.732	1.160	1.302	1.749
Vy4	0.275	0.467	0.873	1.280	1.119	1.584
Vy5	0.196	0.288	0.746	1.204	1.158	1.584
Vy6	0.268	0.460	0.804	1.149	1.082	1.096
Vy7	0.085	0.147	0.380	0.614	0.652	1.575
Vy8	0.162	0.258	0.814	1.370	1.288	1.730
Vy9	0.141	0.238	0.809	1.381	0.912	1.389
Vy10	0.245	0.350	0.775	1.201	1.870	1.870

Selon **Gowri et Ghost, (2010)**, le taux normal de sels biliaires dans l'intestin est d'environ 0.3%, et à cette concentration, tous les isolats testés se sont révélés tolérants aux sels biliaires. Selon **Usmann (1999)**, la survie des souches probiotiques à pH 3,0 et à une concentration de 0,1% de sels biliaires après 2 h d'incubation est considérée comme une tolérance optimale.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'objectif principal de notre travail est d'isoler et identifier partiellement des levures appartenant au genre *Saccharomyces* spp. à partir de semoul. L'isolement a permis d'identifier partiellement 26 isolats de levures présentant une forme ronde à une couleur blanche ou opaque avec une consistance crémeuse, un contour régulier et des reliefs bombés. L'étude de la fermentation des sucres a déterminé que les isolats sont capables de fermenter le glucose, le maltose, le fructose, le sucrose, et D-galactose, et incapables d'assimiler l'arabinose et le lactose, indiquant une similarité aux caractéristiques morphologiques et au profil fermentaire du genre *Saccharomyces* spp.

L'étude de la résistance de *Saccharomyces* spp. à la forte concentration d'éthanol 20% (v/v) montre que tous les isolats ont résisté aux fortes concentrations d'éthanol, à l'exception de 6 isolats, indiquant que les levures isolées ne présentent pas la même sensibilité à l'éthanol. De plus, les résultats de la capacité des isolats de levures sélectionnés à croître dans un milieu YPD additionné aux sels biliaires d'origine bovine 0.3 (m/v) montrent que les isolats *Saccharomyces* spp. ont une capacité assez importante à croître dans des concentrations élevées en sels biliaires.

Cette étude est un point de départ pour approfondir la recherche des nouvelles souches de levures appartenant au genre *Saccharomyces* isolées du levain fermenté traditionnellement. De plus, ces informations préliminaires pourraient être utiles dans l'élaboration d'un programme de recherche, afin d'identifier et sélectionner des isolats purs pour pouvoir être utilisés dans certaines industries agroalimentaires ou en biotechnologie.

À la lumière de ce travail, plusieurs points peuvent se constituer en perspectives :

- Mener des études complémentaires (biochimiques et génotypiques) sur ces isolats de levures, afin de confirmer leur appartenance au genre *Saccharomyces*,
- Déterminer l'aptitude technologique des souches sélectionnées,
- Étudier le pouvoir biotechnologique des isolats de levures, comme la production de bioéthanol et des enzymes.

Références bibliographique

Références bibliographiques

Abdelguerfi. A., Ramdane. S.A.(2003). Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture, Bilans des Expertises sur «La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie » MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31 (TOME XI).

AFNOR. (1985). Microbiologie alimentaire. Directives générales pour les examens microbiologiques. NFV 08-002, ISO 7218: 9-23.

Apfelbau M., Apertmuler L., Forat G., Begon M et Nillus P.(1981) .Dictionnaire pratique de diététique et de nutrition, Ed : Masson, Paris, P 615.

Bai F.W., Chen L. J., Zhang Z., Anderson W. A. & Moo-Young M.(2004). Continuous ethanol production and evaluation of yeast cell lysis and viability loss under very high gravitymedium conditions. Journal of Biotechnology, 110: 287-293

Bajji, M.(1999). Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés in vitro. PhD Thesis, Université catholique de Louvain, Louvainla-Neuve.

Bannerot H. (Ed), Amélioration des espèces végétales cultivées. Ed. INRA, Paris, pp.13-21.

Bonjean., (2001) Boulal .(2007). Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blé et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Ed. TIGC, INRA, ICARDA, Algérie, p 176Lery., 1982. L'agriculture au Maghreb ou pour une agronomie méditerranéenne. Ed.

Bourgeois C. M & Leveau J. Y.(1992). Technique d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires. Volume III, Ed. Technique et Documentation Lavoisier, Apria, Paris. 206-219.

Bourgeois. C-M, Mescle. J-F., et Zucca. J.(1988). Microbiologie alimentaire, Tome 1. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires, Technique et Documentation Lavoisier, Paris. 8, p : 161-171.

Bouix M., et Leveau J.Y. (1991). Les levures Ds : Bourgeois C.M., Leveau J.Y., Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, édition 2 Lavoisier-Tec &Doc, Paris. 3, p : 206-229

Références bibliographiques

Bonaly B.(1991). La physiologie des levures Ds : Larpent J.P., Biotechnologie des levures. Masson, Milan Barcelone Bonn. Paris. p : 4-18.

Bourgeois C. M., LARPENT J. P.(1996). Microbiologie alimentaire. Tome II aliment fermenté et fermentations alimentaires. Ed. Technique et Documentation Lavoisier, APRIA, Paris: 100-450.

Codex Alimentarius CODEX STAN (Rév. 1-1995), Norme codex pour la semoule et la farine de blé dur, Céréales, légumes secs, légumineuses et matières protéiques végétales, 1991, P 3 .

Da Silva R.O., Batistote M., Cereda M.P .(2013). Alcoholic fermentation by the wild yeasts under thermal, osmotic and ethanol stress. Brazilian Archives of Biology and Technology, 56:161–169.

Doussinault et Auriou.(1992). Les céréales à paille : présentation générale. In : Gallais A. et Bannerot H. (Ed), *Amélioration des espèces végétales cultivées*. Ed. INRA, Paris, pp.13-21.

Henry et De Buyser .(2001). L'origine des blés. In : Belin. Pour la science (Ed). De la graine à la plante. Ed. Belin, Paris, pp, 69-72.

Doumandji A., Doumandji S., et Doumandji M.B.(2003).Technologie de transformation des blés et problème dus aux insectes en stock , Ed :Office des publication universitaire, P.129.

FAO, (2000). Influence de l'agriculture biologique sur l'innocuité et la qualité des aliments. 22ème conférence régionale de la FAO pour l'Europe. Porto (Portugal). H. J. Pha'i, M. W. Miller, and E. M. Mark, "Industrial uses of yeast," in *The Life of Yeast*, pp. 238–266, Harvard University Press, Cambridge, Mass, USA, 2nd edition, 1978

Feillet P.(2000). Le grain de blé composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 308p

Fortin F.(1996).L'encyclopédie visuelle des aliments. Les éditions Québec Amérique inc, P 689

Feillet P.(2000) b . Le grain de blé, composition et utilisation, Ed : INRA, Paris, P303 .

Gowri, S., Ghost, A.R.(2010). *Pediococcus* ssp. - a potential probiotic isolated from Khadi (an Indian fermented food) and identified by 16 S rDNA sequences analysis. Afr J Food Sci.4:597-602.

Guiraud J. P.(1998).Microbiologie alimentaire, Dunod, Paris.

Références bibliographiques

Giraud J., Galzy.(1980). L'analyse microbiologique dans les industries agro-alimentaires. Les éditions de l'usine nouvelle. Paris :70-73.

Hermier J., Lenoir J.,et Weber F. (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Edition CEPIL-Paris.

Kreger-Van Rij N. J. (1984). The Yeast, a Taxonomic Study, Elsevier Biomedical. Preuss, Amsterdam.

Larpent .J-P, .(1992). La microbiologie de la fermentation panaière. Ed. APRIAJCDIUPA. PP : 65.

Lodder J. (1971). The Yeasts: a taxonomic study. North Holland Publishing Company. Amsterdam. London

Labrecque M.H. (2003). Etude de la capacité de deux souches de levures à dégrader le xylène. Mémoire, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université LAVAL. p : 19-24

LEVEAU J.Y. et BOUIX M. « Les micro-organismes d'intérêt industriel ». édition Paris, 1999, p : 2-92.

Larpent .J-P. (1991). Biotechnologie des levures. Ed. Masson. Paris. PP : 97-426.

Larpent J-P.(1991).Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires - produits laitiers et carnés. Ed. APRIA. PP : 242-260.

LARPENT J.P.(1997).Microbiologie Alimentaire .Techniques de laboratoire. Ed. Technique et Documentation; LAVOISIER, Paris: 468-470.

Leclerc, H. (1975). Microbiologie générale, doin éditeurs. Paris. p, 28.

Larpent, J.P. (1996). Aliments fermentés et fermentation alimentaire, Microbiologie alimentaires. Tome 2. Ed © Technique Documentation Lavoisier, Paris.

Leslie Jacquemin.,(2012). Production d'hémicellulose de pailles et de son de blé à une échelle pilote, étude de performance technique et évaluation environnementale d'un agro-procédé.

Références bibliographiques

Larpent-Gourgaud M. (1997). Mémento technique d microbiologie. 3 e édition, Lavoisier-Tec & Doc, Paris. 8, p: 214-240.

Meunier R.(1970). Microbiologie industrielle et génie biochimique. Masson ET Cie, Editeurs. Paris VIe . p : 31-47, 385-411.3.

Matveef M.(1969). Etude granulométrique et physicochimique des semoules industrielles, Burl, ENSMIC, P 230.

Madani M.(2009). Qualité technologique de quelques céréales (blé tendre, blé dur, orge et triticale) C/S du laboratoire de technologie de l'ITGC, P 20.

Oteng-Gyang K. (1984). Introduction à la microbiologie dans les pays chauds. Ed. Lavoisier. Paris. PP: 43-51

Piper P.W. (1995). The heat shock and ethanol stress responses of yeast exhibit extensive similarity and functional overlap. FEMS Microbiol Lett, 134: 121-127.

Pina C., Santos C., Couto J. A. & Hogg T. (2004). Ethanol tolerance of five non Saccharomyces wine yeasts in comparison with a strain of Saccharomyces cerevisiae influence of different culture conditions. Food Microbiology, 21: 439-447.

Pol, D. (1996). Travaux pratiques de biologie des levures: guide de laboratoire: des informations pratiques et les protocoles pour realiser des manipulations et des experiences a tous les niveaux d/enseignement. Ellipses.

Phaff .H., Miller M.W., and Mrak E.K.(1968). The life of yeasts. In: Oteng-Gyang K. Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Technique & Documentation Lavoisier, Paris. 8, PP : 43.

Prakash Tamang J., Kailasapathy K.(2010). Fermented foods and beverages of the world. CRC Press. United States of America: Taylor & Francis Group, 2010, 445 p. (ISBN 978-1-4200-9495-4)

Rezki-Bekki M. A. (2014). Production des métabolites par les levures: caractérisation et identification des arômes et des alcools. Thèse de doctorat en biotechnologie. Université d'Algérie. Page 20-36.

Références bibliographiques

Schmidt J.L.(1984). La flore levure des fromages in «Lavoisier Diffusion edit, Le fromage, Paris, 265 p. 388p. ISBN 978-3-642-08160-6.

Spencer, J.F.T. and Spencer D.M. (1997). Yeasts in Natural and Artificial Habitats. Springer. New York. 388p. ISBN 978-3-642-08160-6ringer. New York. 388p. ISBN 978-3-642-08160-6

Simon P.,et Meunier R. (1970). Microbiologie industrielle et genie biochimique. Masson ET
Scott R.(2012)Fermentation ecosystems. In: Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology. Second Edition. CRC Press, 2012, 153-162 p. (ISBN 978-1-4398-5022-0)Cie, Editeurs. Paris VIe . p : 31-47, 385-411.3

Tsegaye, Z., Tefera, G., Gizaw, B., & Abatenh, E. (2018). Characterization of Yeast Species Isolated from Local Fruits used for Bakery Industrial Application. J Appl Microb Res, 1, 21- 26.

Usman, B. et Hosono, A. (1999). Bile tolerance taurocholate deconjugaison and binding of cholesterol by Lactobacillus gasseri strains. J.Dairy Sci.82:243-248

Walker G.M., Wiley J.,and Chihster S. (1997).Yeast physiology and biotechnology.
1ère Edition,

