



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



**Université Amar Telidji- Laghouat**

**FACULTE : SCIENCES**

**DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES**

## **MEMOIRE DE MASTER**

**Présenté par : Behlouli Rim**

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

**FILIERE : SCIENCES ALIMENTAIRES**

**OPTION : AGROALIMENTAIRE ET CONTROLE DE QUALITE**

### **Thème**

# **Identification phénotypique des levures isolées d'aliments traditionnels**

### **Jury de soutenance :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>qualité</b>
Mme. Allali Khedidja	MCA	Présidente
M. Mokhtar Rahmani Mohamed	MCB	Examineur
M. Houicher Abderrahmane	Pr.	Rapporteur
M. Ararem Ahmed	Doctorant	Co-promoteur

**Promotion : Juin – 2024**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة عمار ثليجي- الاغواط

كلية: العلوم

قسم العلوم الفلاحية

## مذكرة ماستر

تقديم الطالبة: بهلولي ريم

ميدان: علوم الطبيعية و الحياة

شعبة: علوم غذائية

تخصص: صناعات غذائية و مراقبة النوعية

موضوع البحث



# تحديد النمط الظاهري للخمائر المعزولة من الأطعمة التقليدية

أعضاء لجنة المناقشة :

الاسم و اللقب	الدرجة العلمية :	الصفة
السيدة علالي خديجة	أستاذة محاضرة أ	رئيسة
السيد مختار رحمانى محمد	أستاذ محاضر ب	ممتحن
السيد هويشر عبد الرحمن	أستاذ تعليم عالي	مقرا
السيد عرارم أحمد	طالب دكتوراه	مساعد مؤطر

الدفعة: جوان – 2024

اللَّهُمَّ صَلِّ وَسَلِّمْ وَبَارِكْ وَسَلِّمْ عَلَى سَيِّدِنَا مُحَمَّدٍ وَعَلَى آلِهِ وَصَحْبِهِ أَجْمَعِينَ

# Dédicace

Je souhaite avant tout dédier ce mémoire au **DIEU TOUT-PUISSANT** qui m'a permis d'avoir la vie et la santé.

À mes chers **parents**, aucune parole ne suffira à exprimer mon amour profond, ma grande gratitude et mon plus grand respect pour vous deux. Je n'oublierai jamais la tendresse et l'amour qui m'ont entouré depuis mon enfance.

À ma chère sœur **Maram**, mes chères frères **Abderrahim** et **Ahmed**.

À toutes les personnes de ma grande famille.

Àux personnes qui m'ont constamment soutenu, encouragé et accompagné tout au long de mes études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude **Djihad**, **Asmaa** et **Khedidja**.

À tous mes enseignants qui m'ont instruit.

Àux martyrs de la Palestine.. . Àux Palestiniens où qu'ils soient et à travers le temps tout entier.. . De la première famille déplacée au dernier martyr qui montera avant la victoire.. . À tous les martyrs, à tous les prisonniers, à toutes leurs familles.. . À tous les hommes libres qui portent le souci de la Palestine dans leurs yeux et ne l'abandonnent jamais.

# Remerciement

Je voudrais tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

Je tiens à remercier très profondément mon encadrant **Pr. Houicher Abderrahmane** Pour m'avoir proposé ce sujet, pour son aide, sa confiance, sa disponibilité, et de m'avoir permis de travailler dans un cadre très agréable, je vous suis infiniment reconnaissante.

Je tiens exprimer mes sincères remerciements aux membres du jury **Mme. Allali Khedidja** la présidente et **M. Mokhtar Rahmani Mohamed** l'examineur pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche en acceptant d'examiner mon travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude et remerciements à mon co-encadrant **M. Ararem Ahmed** pour tous ses conseils, aides et pour sa disponibilité.

Je tiens à remercier sincèrement ma mère, mon père, ma sœur, mes frères et mon ami-sœur **Asmaa Bougerra** pour son soutien.

Je remercie également tous les membres des laboratoires pédagogiques et de la bibliothèque de l'université **Amar Thelidji-Laghout**, qui j'ai bien aidés pour réaliser mon étude.

**Nom et Prénom :** Behloul Rim.

**Thème :** Identification phénotypique des levures isolées d'aliments traditionnels.

**Résumé :**

Le but de la présente étude est d'identifier partiellement des levures isolées d'aliments traditionnels, afin d'évaluer leurs propriétés probiotiques. L'isolement a permis d'identifier partiellement 25 isolats appartenant à quatre différents genres qui sont : *Cryptococcus* spp., *Hanseniaspora* spp., *Saitoella* spp., et *Saccharomyces* spp. L'étude physiologique des levures a permis de déterminer que les isolats du genres *Cryptococcus* spp., *Hanseniaspora* spp. et *Saitoella* spp. généralement incapables de fermenter les sucres testés. Cependant, les isolats du genre *Saccharomyces* spp. sont capables de fermenter le fructose, le maltose, le saccharose et le galactose et incapables de fermenter le lactose, la xylose et l'arabinose, indiquant une similarité au profil fermentaire et aux caractéristiques morphologiques du cet genre. Tous les isolats testés sont  $\gamma$  hémolytiques (absence d'hémolyse), tandis que 3 isolats ont une gélatinase positive. De plus, tous les isolats possèdent une activité lipolytique et protéolytique remarquables, ce qui indique la présence des enzymes « phospholipase » et « protéase », respectivement. Le présent travail constitue une investigation préliminaire réalisée sur la microflore levurienne des aliments traditionnels afin de sélectionner des isolats purs pour pouvoir être utilisé dans le domaine agroalimentaire et/ou biotechnologique.

**Mots clés :** Levure, identification phénotypique, hémolyse, gélatinase, phospholipase, protéase, aliment traditionnel.

**Name and surname:** Behlouli Reem.

**Theme:** Phenotypic identification of yeasts isolated from traditional foods.

**Abstract :**

The aim of the present study is to identify partially yeasts isolated from traditional foods, in order to evaluate their probiotic properties. The isolation resulted in the partial identification of 25 isolates belonging to four different genera: *Cryptococcus* spp., *Hanseniaspora* spp., *Saitoella* spp., and *Saccharomyces* spp. Physiological study of yeasts determined that the isolates of the genera *Cryptococcus* spp., *Hanseniaspora* spp. and *Saitoella* spp. were generally unable to ferment the tested sugars. However, the isolates of the genus *Saccharomyces* spp. are capable of fermenting fructose, maltose, sucrose and galactose and unable to ferment lactose, xylose and arabinose, indicating a similarity to the fermentation profile and morphological characteristics of this genus. All tested isolates are  $\gamma$  hemolytic (absence of hemolysis), while 3 isolates have a positive gelatinase. In addition, all isolates possess remarkable lipolytic and proteolytic activities, indicating the presence of the enzymes "phospholipase" and "protease", respectively. The present work is a preliminary investigation carried out on the yeast microflora of traditional foods in order to select pure isolates for use in the agri-food and/or biotechnological field.

**Keywords:** Yeast, phenotypic identification, hemolysis, gelatinase, phospholipase, protease, traditional food.

الاسم واللقب: ريم بهلولي.

الموضوع: تحديد النمط الظاهري للخمائر المعزولة من الأطعمة التقليدية.

ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو التحديد الجزئي للخمائر المعزولة من الأطعمة التقليدية، من أجل تقييم خصائصهم الحيوية. نتج عن العزل تحديد جزئي ل 25 عزلة تنتمي لاربعة أجناس مختلفة: *Cryptococcus spp.*، *Hanseniaspora spp.*، *Saitoella spp.* و *Saccharomyces spp.* حددت الدراسة الفسيولوجية للخمائر أن عزلات الاجناس *Cryptococcus spp.*، *Hanseniaspora spp.* و *Saitoella spp.* لم تكن قادرة على تخمير السكريات التي تم اختبارها. لكن عزلات جنس *Saccharomyces spp.* كانت قادرة على تخمير الفركتوز والمالتوز والسكرورز والجالاكتوز وغير قادرة على تخمير اللاكتوز والزيلوز والأرابينوز، مما يشير إلى التشابه مع النمط التخميري والخصائص المورفولوجية لهذا الجنس. جميع العزلات التي تم اختبارها هي  $\gamma$  انحلالية (غياب انحلال الدم) ، في حين أن 3 عزلات لها جيلاتيناز إيجابي. بالإضافة إلى ذلك ، تمتلك جميع العزلات نشاطا ملحوظا في تحلل الدهون والبروتينات ، مما يشير إلى وجود إنزيمات "الفوسفوليبياز" و "البروتياز" ، على التوالي. هذا العمل هو عبارة عن بحث أولي أجري على ميكروفلورا الخميرة للأغذية التقليدية من أجل اختيار عزلات نقية لاستخدامها في مجال الصناعات الغذائية و / أو التكنولوجيا الحيوية.

الكلمات المفتاحية: خميرة ، تحديد النمط الظاهري ، انحلال الدم ، جيلاتيناز ، فوسفوليبياز ، بروتياز ، طعام التقليدي.

## Liste des abréviations

**°C** : Degré Celsius

**FAO** : Food and Agriculture Organization

**OMS** : Organisation Mondiale de la santé

**ssp** : Sous espèce

**YPD** : Yeast Peptone Dextrose

---

**Liste des tableaux**

N°	Titre du tableau	Page
<b>Tableau 01</b>	Principaux produits laitiers traditionnels d'Afrique du Nord	<b>6</b>
<b>Tableau 02</b>	Classification des principaux genres des levures	<b>14</b>
<b>Tableau 03</b>	Habitats naturels des levures	<b>15</b>
<b>Tableau 04</b>	Produits industriels fabriqués par les levures	<b>18</b>
<b>Tableau 05</b>	Utilisations des levures non- <i>Saccharomyces</i> en biotechnologie	<b>18</b>
<b>Tableau 06</b>	Certaines levures importantes dans la production alimentaire et la détérioration des aliments	<b>19</b>
<b>Tableau 07</b>	Des informations concernant l'échantillonnage utilisés dans cette étude	<b>23</b>
<b>Tableau 08</b>	Caractères microscopiques des levures sélectionnées	<b>34</b>
<b>Tableau 09</b>	Résultats de la fermentation de différents sucres par les isolats de levures	<b>36</b>
<b>Tableau 10</b>	Résultats de l'activité hémolytique et de la production de gélatinase des levures sélectionnées pour cette étude	<b>40</b>
<b>Tableau 11</b>	Résultats de l'activité lipolytique et protéolytique des levures sélectionnées pour cette étude	<b>43</b>

**Liste des figures**

N°	Titre du figures	Page
<b>Figure 01</b>	Illustration montrant le diagramme de la saumure traditionnelle d'olive des pays d'Afrique du Nord	<b>8</b>
<b>Figure 02</b>	Schéma d'une cellule de levure	<b>11</b>
<b>Figure 03</b>	L'échantillonnage utilisés dans cette étude	<b>22</b>
<b>Figure 04</b>	Illustration montrant le diagramme de la saumure traditionnelle d'olive des pays d'Afrique du Nord	<b>25</b>
<b>Figure 05</b>	Logigramme du protocole des étapes de revivification de la flore levurienne des échantillons testés	<b>26</b>
<b>Figure 06</b>	Logigramme du protocole expérimental de la présente étude	<b>30</b>
<b>Figure 07</b>	Résultats de la fermentation des échantillons	<b>32</b>
<b>Figure 08</b>	Aspect macroscopique des colonies des levures sur gélose YPD	<b>33</b>
<b>Figure 09</b>	Répartition de levures isolées identifier à partir des aliments traditionnels	<b>37</b>
<b>Figure 10</b>	Résultats de test de l'activité hémolytique d'isolats de levures	<b>38</b>
<b>Figure 11</b>	Résultats de test de la production de la gélatinase d'isolats O2, J5 et J6	<b>39</b>
<b>Figure 12</b>	Image montrant l'action d'enzyme lytique extracellulaire d'isolat de levure	<b>41</b>
<b>Figure 13</b>	Image montrant l'action d'enzyme lytique extracellulaire d'isolat de levure	<b>42</b>

---

## Table des matières

Dédicace	
Remerciement	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Table des matières	
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Partie I : Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Les aliments traditionnels</b>	
<b>1. Les aliments fermentés traditionnels</b>	<b>5</b>
<b>2. Aliments traditionnels populaires dans les pays d’Afrique du Nord</b>	<b>5</b>
2.1. Produits laitiers	5
2.2. Produits végétaux :	6
➤ Les olives de table	7
➤ Les fruits	9
➤ Les céréales	9
<b>Chapitre II : Généralités sur les levures</b>	
<b>1. Définition des levures</b>	<b>11</b>
<b>2. Morphologie et croissance</b>	<b>11</b>
<b>3. Multiplication végétative et reproduction</b>	<b>13</b>
3.1. Multiplication végétative	13
3.2. Reproduction sexuée	13
<b>4. Taxonomie</b>	<b>13</b>
<b>5. Habitats</b>	<b>15</b>
<b>6. Nutrition et métabolisme</b>	<b>16</b>
6.1. Hydrates de carbone	16
6.2. Sources d’azote	17
<b>7. Importance industrielle des levures</b>	<b>17</b>
<b>Partie II : Etude expérimentale</b>	
<b>Matériel et méthodes</b>	
<b>I.1. Objectif</b>	<b>22</b>
<b>I.2. Echantillonnage</b>	<b>22</b>
<b>I.3. Préparation des échantillons</b>	<b>24</b>
➤ L’orge	24
➤ jben	24
➤ Zebda	24
➤ Raisin sec	24
➤ L’olive vert	24

---

---

<b>I.4. Revivification de la flore levurienne</b>	<b>26</b>
<b>I.5. Isolement des levures</b>	<b>27</b>
<b>I.6. Purification et conservation des levures</b>	<b>27</b>
<b>I.7. Caractères morphologiques</b>	<b>27</b>
1. Observation macroscopique	27
2. Observation microscopique	28
<b>I.8. Caractères physiologiques</b>	<b>28</b>
1. Fermentation des sucres	28
2. Activité de phospholipase	28
3. Activité hémolytique	29
4. Activité protéolytique	29
5. La production de gélatinase	29
<b>I.9. Protocole expérimentale</b>	<b>30</b>
<b>Résultats et discussion</b>	
<b>II.1. Revivification de la flore levurienne</b>	<b>32</b>
<b>II.2. Isolement et purification des levures</b>	<b>32</b>
<b>II.3. Caractères morphologiques</b>	<b>33</b>
1. Observation macroscopique	33
2. Observation microscopique	33
<b>II.4. Caractères physiologiques</b>	<b>35</b>
1. Fermentation des sucres	35
2. Activité hémolytique	38
3. La production de gélatinase	39
4. Activité de phospholipase	41
5. Activité protéolytique	42
<b>Conclusion et perspectives</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

# Introduction

Les aliments traditionnels qui sont ancrés dans la culture et l'histoire des différentes régions du monde sont devenus un sujet de recherche très intéressant ces dernières années en raison de leur valeur nutritionnelle, de leur contribution à la préservation de l'identité culturelle et de leur potentiel de développement économique (**Kroon & D'Antuono, 2013; Loveday & Chiba, 1985**). Les aliments traditionnels sont généralement élaborés à partir d'ingrédients naturels, frais, locaux et de saison, riches en nutriments. Ils sont transformés dans de petites unités de transformation en utilisant des méthodes de production artisanales. Les processus traditionnels sont longs comme la fermentation, l'affinage, le séchage ou la cuisson lente contribuent aux caractéristiques uniques et reconnaissables de ces aliments.

L'importance des microorganismes et notamment des levures dans la transformation et la conservation des aliments traditionnels est largement reconnue, notamment lorsqu'il s'agit de produits laitiers fermentés, de produits de boulangerie et de boissons fermentés. La composition particulière des aliments traditionnels riches en flore microbienne, notamment levurienne, leur confère de nombreux atouts d'un point de vue nutritionnel et organoleptique (**Kroon & D'Antuono, 2013; Peulić et al., 2023; Rocillo-Aquino et al., 2021**). Les processus de fermentation traditionnels permettent de produire une grande variété de métabolites microbiens bénéfiques à la santé, tels que les vitamines, les acides organiques, les antioxydants et les composés antimicrobiens (**Devi & Shetty, 2020**). La richesse et la diversité de la flore microbienne, dont les levures, sont également responsables des caractéristiques sensorielles uniques des aliments traditionnels, telles que les arômes, les saveurs et les textures. Les microorganismes présents dans ces aliments peuvent avoir un impact positif sur la santé humaine, en favorisant notamment l'équilibre du microbiote intestinal.

Dans ce contexte, notre étude constitue une investigation préliminaire réalisée sur la microflore des aliments traditionnels, notamment des levures.

Pour cela, les objectifs suivants ont été définis :

- Isoler et identifier partiellement des levures d'origine alimentaires,
- Étudier la capacité de fermenter les différents sucres principalement, le fructose, le maltose, le lactose, le saccharose, le galactose, la xylose et l'arabinose,
- Et enfin, évaluer l'aspect sécuritaire des levures isolées par l'étude de l'activité hémolytique et la production de gélatinase ainsi que leur pouvoir protéolytique et lipolytique.

Cette étude comporte deux parties :

La première partie propose une synthèse bibliographique divisée en deux chapitres. Le premier chapitre aborde les aliments traditionnels, tandis que le deuxième chapitre traite des levures. La seconde partie est dédiée au matériel et méthodes utilisés pour la réalisation pratique de cette étude, ainsi qu'à la discussion des différents résultats obtenus. Enfin, nous achèverons ce travail par une conclusion générale et des perspectives.

Partie I:  
Synthèse bibliographique

## Chapitre I

### Les aliments traditionnels

﴿يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا كُلُوا مِن طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ وَاشْكُرُوا لِلَّهِ إِن كُنتُمْ إِيَّاهُ تَعْبُدُونَ﴾

(سورة البقرة الآية: ١٧٢)

## Chapitre I : Les aliments traditionnels

### I.1. Les aliments fermentés traditionnels

Les aliments fermentés traditionnels sont des produits qui ont subi un processus de fermentation, souvent par l'action de microorganismes, pour en modifier les propriétés organoleptiques et nutritionnelles (Ayed *et al.*, 2020; Verardo *et al.*, 2020). Les aliments fermentés jouent un rôle important et diversifié. Sans beaucoup se tromper, on peut dire que toutes ou presque les utilisent de façon assez semblable. Outre le lait, ce sont aussi les céréales, les légumes et les fruits, les poissons et la viande car la fermentation joue un quadruple rôle :

- elle conserve à long terme les légumes ou les fruits d'une saison et, à court terme, le lait qui, dans les pays chauds, ne reste « frais » que quelques heures ;
- elle aide à bien digérer les couscous que l'on assaisonne de beurre fermenté, les légumes tels les choux, betteraves, navets, etc. ;
- elle est un mode de préparation culinaire des céréales, mais aussi des poissons, dont on obtient des sauces, et de certaines viandes qui sont non seulement conservées, mais acquièrent ainsi des saveurs spéciales ;
- c'est ainsi que la fermentation apporte une saveur aigrelette, acide, bien particulière, et très appréciée (Germain, 2005).

Les principaux microorganismes bénéfiques responsables de la fermentation des aliments et des boissons fermentés traditionnellement sont les bactéries lactiques et les levures, qui peuvent être présents naturellement dans les substrats ou ajoutés comme cultures starter (Adesulu-Dahunsi *et al.*, 2020; Adesulu & Awojobi, 2014; Verardo *et al.*, 2020).

### I.2. Aliments traditionnels populaires dans les pays d'Afrique du Nord

#### 2.1. Produits laitiers

Bien que le régime alimentaire nord-africain soit généralement faible en aliments d'origine animale par rapport aux aliments d'origine végétale, principalement les céréales et les olives, une variété de produits laitiers vieux de plusieurs siècles sont connus et toujours très appréciés par les consommateurs dans ces pays. Les plus populaires d'entre eux sont le jben, le lben et le smen. Le tableau n°1 présente une sélection de quelque produits laitiers traditionnels nord-africains avec une brève description de leurs technologies (Benkerroum, 2013).

**Tableau N°1** : Principaux produits laitiers traditionnels d'Afrique du Nord ; une brève description de leurs technologies (Benkerroum, 2013).

Nom vernaculaire	Description
Zebda beldia/zebda baladi/zebda beldi	Beurre cru, avec une forte saveur de diacétyle, séparé du lben après le barattage du lait spontanément coagulé. La zebda beldi est un produit laitier commun à tous les pays d'Afrique du Nord.
Jben	C'est un fromage frais obtenu par fermentation spontanée du lait suivie par l'égouttage du lactosérum. Parfois, il est salé dans une solution saturée de sel (25 à 30 g de sel pour 100 mL d'eau) à température ambiante pendant 2 à 15 jours. Il est largement consommé dans les pays du Maghreb (Maroc, Tunisie et Algérie)
"Leben" ou "Iben" (Maghreb), ou "Laban khad" / "laban kherbah" (en Égypte)	Lait fermenté (babeurre) obtenu par barattage du lait aigri spontanément pour en retirer le beurre. Un produit laitier courant dans tous les pays d'Afrique du Nord, bien que portant différents noms.
Raib	Lait cru caillé spontanément. Il peut être un produit fini (consommé tel quel) ou un ingrédient intermédiaire pour la production de fromages traditionnels ou d'autres laits fermentés. Produit laitier courant dans tous les pays d'Afrique du Nord, bien que portant différents noms.
Klila	Fromage frais obtenu à partir d'un lben âgé de 3 à 4 jours en le chauffant et en le filtrant à travers un tissu mousseline ou un panier en paille pour éliminer le lactosérum. Habituellement consommé en Algérie et au Maroc pour utiliser le petit-lait et éviter le gaspillage d'un lben trop acide.

## 2.2. Produits végétaux

Les produits d'origine végétale (fruits et légumes) représentent un composant important de l'alimentation des pays d'Afrique du Nord, bien que les fruits et légumes soient généralement consommés frais, une part importante de la récolte est transformée pour la conservation, soit au niveau des ménages en utilisant des technologies traditionnelles à faible coût, soit dans des usines modernes. Les technologies traditionnelles de conservation des produits végétaux sont largement pratiquées dans les régions d'Afrique du Nord pour rendre ces aliments sains disponibles tout au long de l'année. La fermentation, la saumure, la cuisson et/ou le séchage sont les principales techniques traditionnelles utilisées pour conserver de nombreux produits

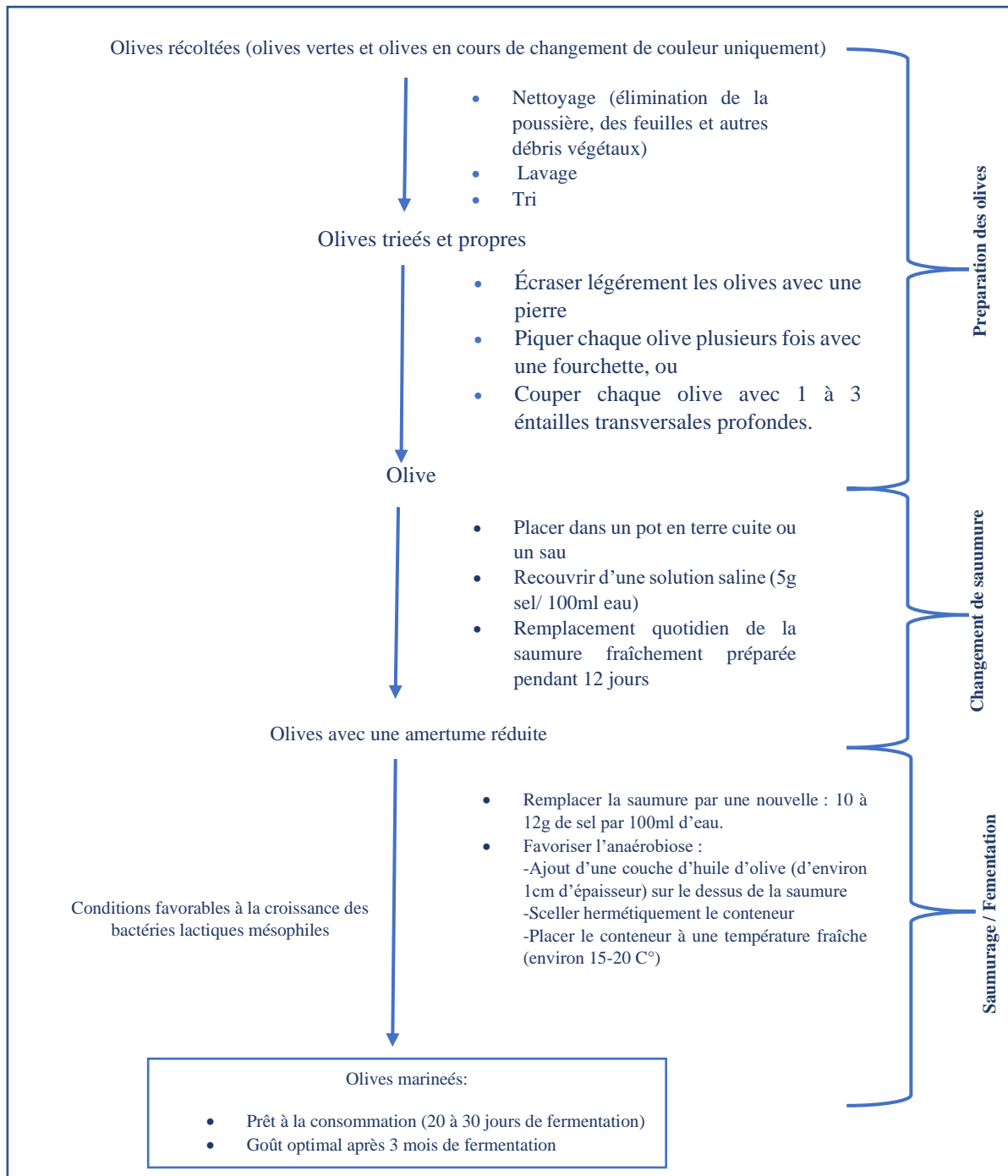
mûrs disponibles uniquement à certaines périodes de l'année, tels que les olives, les citrons, les oignons, les poivrons verts, les carottes, les figues, les raisins, les figues de Barbarie, etc (**Benkerroum, 2013**).

➤ **Les olives de table**

L'olivier (*Olea europaea* L.) est typiquement un arbre méditerranéen cultivé dans la région depuis des millénaires, et son fruit a été utilisé de diverses manières dans l'alimentation, soit comme olive de table, soit comme matière première pour la production d'huile d'olive. Un certain nombre de technologies traditionnelles sont utilisées depuis longtemps dans les pays d'Afrique du Nord pour produire des olives de table savoureuses qui peuvent être conservées pendant une période relativement longue à température ambiante (**Benkerroum, 2013**).

Cependant, malgré la diversité de ces méthodes, elles reposent principalement sur deux procédures principales : (i) la saumure et (ii) le salage à sec. Les deux procédures s'appuient d'abord sur le sel pour éliminer le glycoside euloropéine qui rend les olives non comestibles même lorsqu'elles sont complètement mûres (olives noires), et ensuite sur la fermentation microbienne pour développer l'acidité et un arôme spécifique tout en contribuant à la sécurité microbiologique du produit final (**Benkerroum, 2013**).

Une procédure traditionnelle typique de saumurage des olives en Afrique du Nord est présentée dans la Figure n°1. Les olives saumurées peuvent être assaisonnées avant consommation en ajoutant différentes épices et ingrédients aromatiques tels que le romarin, les feuilles de coriandre, l'ail râpé, l'oignon haché, le piment rouge fort, et/ou du jus de citron, des morceaux de citron (**Benkerroum, 2013**).



**Figure N°(1) : Illustration montrant le diagramme de la saumure traditionnelle d'olive des pays d'Afrique du nord (Benkerroum, 2013).**

➤ **Les fruits**

Les techniques traditionnelles, en particulier le séchage au soleil, sont depuis longtemps utilisées dans les pays d'Afrique du Nord pour conserver certains fruits très périssables tels que les figues, les raisins et les figues de Barbarie. Ces fruits sont produits pendant quelques semaines pendant les saisons d'été ou d'automne et doivent être consommés le plus rapidement possible après la récolte, comme c'est le cas pour les figues qui doivent être consommées le jour même. Pendant cette période de l'année, les conditions météorologiques sont optimales pour l'opération de séchage ; la température moyenne est de 25 à 30 °C et l'air est généralement sec (**Benkerroum, 2013**).

De telles conditions sont en effet réputées pour donner des fruits séchés au soleil de meilleure qualité. Lorsqu'ils sont parfaitement mûrs, les fruits sont disposés de manière uniforme sur le sol d'un espace ouvert (aire de battage) ou sur le toit d'une maison recouvert d'un tapis en plastique ou en paille, parfois avec de grandes feuilles telles que celles des figuiers, des vignes ou des caroubiers. Lorsqu'ils sont étalés sur le sol, le toit ou toute autre surface, les fruits doivent être espacés d'environ 2 cm les uns des autres pour permettre une bonne aération et évaporation de l'eau. De même, les raisins secs les plus couramment disponibles sur les marchés d'Afrique du Nord sont ceux obtenus dans les usines modernes utilisant des séchoirs industriels et des additifs chimiques tels que le dioxyde de soufre (**Benkerroum, 2013**).

➤ **Les céréales**

Elles permettent plusieurs types de préparations. Le pain résulte de la cuisson d'une pâte levée grâce à une fermentation naturelle ou un ferment ajouté (**Germain, 2005**). Les fermentations panaires traditionnelles étaient donc réalisées par les microorganismes présents dans la farine. Ce système fermentaire se compose essentiellement de levures et d'un ensemble de bactéries, principalement des bactéries lactiques, comme dans la plupart des produits alimentaires fermentés (**Bourgeois, Larpent, et al., 1996**).

## Chapitre II

### Généralités sur les levures

﴿وَرَبُّكَ يَخْلُقُ مَا يَشَاءُ وَيَخْتَارُ ۗ مَا كَانَ لَهُمُ الْخِيَرَةُ ۗ سُبْحَانَ اللَّهِ وَتَعَالَىٰ عَمَّا يُشْرِكُونَ﴾

(سورة القصص الآية: ٦٨)

## Chapitre II : Généralités sur les levures

### II.1. Définition des levures

Les levures sont des champignons chez lesquels la forme unicellulaire est prédominante. Les cellules sont hyalines. Ces micro-organismes synthétisent parfois des pigments rouges ou jaunes et se reproduisent soit par bourgeonnement, soit par un processus intermédiaire entre bourgeonnement et scissiparité (**Larpen, 1997**).

### II.2. Morphologie et croissance

Les cellules végétatives des levures peuvent être sphériques, ovoïdes, allongées, cylindrique, apiculées, ogivales ou en forme de citron. Les levures du genre *Pityrosporum* sont en forme de bouteille, celles de *Trigonopsis* sont triangulaires. La taille cellulaire varie de 20-50/μm de long. La largeur est moins variable et se situe entre 1 et 10 μm (**Larpen, 1997**). Sur une coupe observée en microscopie électronique, on pourra distinguer, de l'extérieur vers l'intérieur, la paroi cellulaire, la membrane cytoplasmique, le noyau, des vacuoles, des ribosomes et des mitochondries (figure n°02) (**LOÏEZ, 2003**).

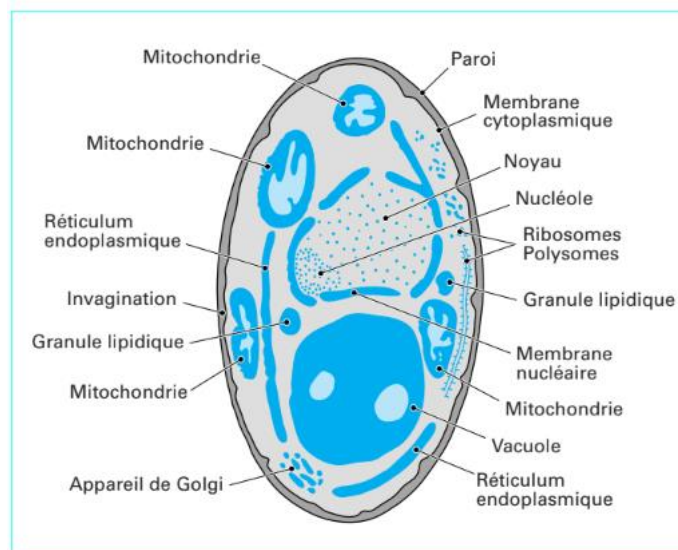


Figure N°(02) : Schéma d'une cellule de levure (**LOÏEZ, 2003**).

La **paroi cellulaire**, d'une épaisseur de  $70 \pm 10$  nm, représente 15 à 18 % des matières sèches cellulaires ; elle est composée presque exclusivement de polysaccharides : des glucanes, polymères de glucose, reliés par des liaisons  $\beta$  1-3 et  $\beta$  1-6 et des mannanes, polymères de

mannose, dont le squelette est formé de liaisons  $\beta$  1-6 et dont les ramifications comprennent des liaisons  $\beta$  1-2 et  $\beta$  1-3.

Le rôle de la paroi est principalement de protéger et de maintenir la forme de la cellule de levure, grâce à sa structure semi-rigide : les glucanes forment un réseau de fibrilles maintenu par liaisons covalentes et liaisons hydrogène ; les mannanes et les complexes mannanes-protéines, de masses moléculaires élevées et insolubles, forment la couche la plus externe, portant les déterminants antigéniques.

Cependant, la paroi a une certaine élasticité qui lui permet de réagir, par des variations de volume cellulaire, aux conditions de pression osmotique du milieu (LOÏEZ, 2003).

La **membrane cytoplasmique**, composée principalement de lipides (triglycérides, phospholipides et stérols), de protéines et de lipoprotéines, a une structure en bicouche, caractérisée par un arrangement des molécules phospholipidiques côte à côte et dos à dos, avec les groupements polaires vers l'extérieur. Dans cette structure s'intercalent les protéines.

Le rôle de la membrane est capital pour le métabolisme de la levure. Ses trois fonctions principales sont :

- \_ de former une barrière extensible qui permet à la cellule de gonfler ou de rétrécir selon la pression externe ;
- \_ de contrôler l'entrée ou la sortie de solutés, soit par diffusion simple, soit par transport actif grâce à de nombreuses enzymes appelées perméases ;
- \_ de servir de base sur laquelle les composants de la paroi sont attachés (LOÏEZ, 2003).

Le **cytoplasme** est une substance colloïdale dans laquelle se déroule toute une série de réactions biochimiques. Il contient de nombreux **organites** dont les principaux sont :

- \_le **réticulum endoplasmique** et l'**appareil de Golgi**, réseau de membranes, intervenant dans la sécrétion de protéines ;
- \_le **noyau** qui contient les chromosomes au nombre de 16 pour la forme haploïde ;
- \_les **vacuoles**, lieux de stockage de nombreuses substances de réserve. Elles jouent pour la levure le rôle de lysosomes, c'est-à-dire qu'elles contiennent à l'état inactif des enzymes (protéases, nucléases, estérases...) capables d'hydrolyser certaines macromolécules. Ces enzymes deviennent actives, en particulier au cours de la lyse cellulaire ;

\_les **mitochondries**, structures sphériques ou en bâtonnets, de 0,3 à 1  $\mu\text{m}$  de large et jusqu'à 3  $\mu\text{m}$  de long, entourées d'une double membrane. Elles sont le siège de la respiration. Elles sont équipées d'enzymes capables d'oxyder divers substrats, avec des systèmes de transport d'électrons et d'enzymes qui convertissent l'énergie libre des réactions oxydatives en ATP ;

\_les **ribosomes**, sites de synthèse des protéines sont des particules composées de deux sous-unités (40 S et 60 S) et ressemblent aux ribosomes des autres organismes (**LOÏEZ, 2003**).

### **II.3. Multiplication végétative et reproduction**

#### **1. Multiplication végétative**

Le bourgeonnement représente le mode de reproduction végétative le plus courant chez les levures. A l'exception de quelques genres, les bourgeons apparaissent dans les zones situées aux extrémités des grands axes de cellules végétatives lorsque celles-ci ont une forme ovoïde ou allongée. Le bourgeonnement multilatéral caractérise les cellules sphériques telles que *Saccharomyces* ou *Debaryomyces* (**Larpent, 1997**).

#### **2. Reproduction sexuée**

Lorsque le milieu sur lequel elles se sont développées devient défavorable, les levures sporogènes cessent de se multiplier par bourgeonnement et sporulent. Si les spores peuvent se former à partir de cellules haploïdes ou de cellules provenant d'une même spore, la levure est dite homothallique. Si la sporulation ne peut avoir lieu qu'à partir d'un mélange de cellules de type sexuel opposé, la levure est hétérothallique (**Larpent, 1997**).

### **II.4. Taxonomie**

La capacité des levures à former des spores d'origine sexuée dans un asque ou à les produire à l'extérieur sur des basides permet de les placer respectivement dans la classe des Ascomycètes et dans celle des Basidiomycètes. Les espèces pour lesquelles le stade sexué (= stade parfait) n'est pas connu sont regroupées dans la classe des Champignons Imparfaites ou Deutéromycètes. Le tableau n°(02) donne un aperçu de la classification des levures et des principaux genres constituant ce groupe de microorganismes (**Bourgeois, Mescle, et al., 1996**).

Tableau N°(02) : Classification des principaux genres de levures (Bourgeois, Mescle, *et al.*, 1996).

**Levures appartenant aux Ascomycètes**

<u>Famille :</u>	<u>Genre :</u>	
Ascomycotina		
Hémiascomycètes		
Endomycétales		
Spermophthoraceae	<i>Coccidiascus</i>	
	<i>Metschnikowia</i>	
	<i>Nematospora</i>	
Saccharomycetaceae		
Lipomycetoideae		
Nadsonioideae	<i>Hanseniaspora</i>	
	<i>Nadsonia</i>	
	<i>Saccharomycodes</i>	
	<i>Wickerhamia</i>	
Saccharomycetoideae	<i>Ambrosiozyma</i>	<i>Pachysolen</i>
	<i>Arthroascus</i>	<i>Pachytichospora</i>
	<i>Citeromyces</i>	<i>Pichia</i>
	<i>Clavispora</i>	<i>Saccharomyces</i>
	<i>Cyniclomyces</i>	<i>Saccharomyscopsis</i>
	<i>Debaryomyces</i>	<i>Schwanniomyces</i>
	<i>Dekkera</i>	<i>Sporopachydermia</i>
	<i>Guilliermondella</i>	<i>Stephanoascus</i>
	<i>Hansenula</i>	<i>Torulaspora</i>
	<i>Issatchenkia</i>	<i>Wickerhamiella</i>
	<i>Kluyveromyces</i>	<i>wingea</i>
	<i>Lodderomyces</i>	<i>Zygosaccharomyces</i>

**Levures appartenant aux Basidiomycètes**

<u>Famille :</u>	<u>Genre :</u>
Basidiomycotina	
Filobasidiaceae	<i>Filobasidium</i>
	<i>Filobasidiella</i>
Levures formant des téliospores	<i>Leucosporidium</i>
	<i>Rhodosporeidium</i>
	<i>Sporidiobolus</i>

**Levures appartenant aux Fungi Imperfecti**

<u>Famille :</u>	<u>Genre :</u>	
Deuteromycotina		
Blastomycètes		
Sporobolomycetaceae	<i>Bullera</i>	
	<i>Sporobolomyces</i>	
Cryptococcaceae	<i>Aciculoconidium</i>	<i>Rhodotorula</i>
	<i>Brettanomyces</i>	<i>Sarcinosporon</i>
	<i>Candida</i>	<i>Schizoblastosporion</i>
	<i>Cryptococcus</i>	<i>Sterigmatomyces</i>
	<i>Kloeckera</i>	<i>Sympodiomyces</i>
	<i>Malassezia</i>	<i>Trichosporon</i>
	<i>Oosporidium</i>	<i>Trigonopsis</i>
	<i>Phaffia</i>	

## II.5. Habitats

Les levures ne sont pas aussi omniprésentes que les bactéries dans l'environnement naturel, mais elles peuvent néanmoins être isolées du sol, de l'eau, des plantes, des animaux et des insectes. Les habitats préférés des levures sont les tissus végétaux (feuilles, fleurs et fruits), mais quelques espèces se trouvent dans des relations commensales ou parasitaires avec les animaux. Certaines levures, notamment *Candida albicans*, sont des agents pathogènes opportunistes pour les humains. Plusieurs espèces de levures peuvent être isolées d'environnements spécialisés ou extrêmes, tels que ceux à faible potentiel hydrique (c'est-à-dire des concentrations élevées de sucre ou de sel), à basse température (par exemple, certaines levures psychrophiles ont été isolées des régions polaires), et à faible disponibilité en oxygène (par exemple, les tracts intestinaux des animaux). Le tableau n°(03) résume les principaux habitats des levures (Walker, 2009).

**Tableau N°(03) : Habitats naturels des levures (Walker, 2009).**

Habitat	Communautés
<b>sol</b>	Le sol peut servir de réservoir pour la survie à long terme de nombreuses levures, plutôt que d'être un habitat pour leur croissance. Cependant, les levures sont omniprésentes dans les sols cultivés (environ 10 000 cellules de levure par gramme de sol) et se trouvent uniquement dans les couches superficielles et aérobiques du sol (10-15 cm). Certains genres sont exclusivement isolés du sol (par exemple, <i>Lipomyces</i> et <i>Schwanniomyces</i> ).
<b>Eau</b>	Les levures prédominent dans les couches superficielles des eaux douces et salées, mais ne sont pas présentes en grand nombre (environ 1000 cellules par litre). De nombreuses isolats de levures aquatiques appartiennent à des genres pigmentés en rouge ( <i>Rhodotorula</i> ). <i>Debaryomyces hansenii</i> est une levure halotolérante qui peut croître dans des solutions de saumure presque saturées.
<b>Atmosphère</b>	Quelques cellules viables de levure peuvent être attendues par mètre cube d'air. Des couches au-dessus des surfaces du sol, les espèces de <i>Cryptococcus</i> , <i>Rhodotorula</i> , <i>Sporobolomyces</i> , et <i>Debaryomyces</i> sont dispersées par les courants d'air.
<b>Plantes</b>	L'interface entre les nutriments solubles des plantes (sucres) et le monde septique est un habitat commun pour les levures (par exemple, la surface des raisins) ; la propagation des levures sur la phyllosphère est facilitée par les insectes (par exemple, les espèces de <i>Drosophila</i> ) ; quelques levures sont des pathogènes des plantes. La présence de nombreux composés organiques sur les surfaces et les

Habitat	Communautés
	zones en décomposition (exsudats, fleurs, fruits, phyllosphère, rhizosphère, et zones nécrotiques) crée des conditions favorables à la croissance de nombreuses levures.
Animaux	Plusieurs levures non pathogènes sont associées au tractus intestinal et à la peau des animaux à sang chaud ; plusieurs levures (par exemple, <i>Candida albicans</i> ) sont pathogènes de manière opportuniste pour les humains et les animaux ; de nombreuses levures sont associées de manière commensale aux insectes, qui agissent comme des vecteurs importants dans la distribution naturelle des levures.
Environnement construit	Les levures sont assez omniprésentes dans les bâtiments, par exemple, <i>Aureobasidium pullulans</i> (levure noire) est courante sur le papier peint humide des maisons et <i>Saccharomyces cerevisiae</i> est facilement isolée des surfaces (tuyauterie et réservoirs) dans les caves vinicoles.

## II.6. Nutrition et métabolisme

Plusieurs caractéristiques physiologiques des levures contribuent à leur succès en tant que microorganismes industriels. Parmi elles, celles concernant la nutrition carbonée sont peut-être les mieux connues (**Bourgeois, Mescle, et al., 1996**).

### II.6.1. Hydrates de carbone

Toutes les levures sont capables d'utiliser le glucose et le fructose. Si l'on se réfère au catabolisme du glucose il est possible de distinguer deux groupes de levures :

- Celles à métabolisme uniquement respiratoire chez lesquelles le pyruvate formé, à partir du glucose, est oxydé par le cycle de Krebs : elles sont donc incapables de fermenter. Ce sont par exemple les levures appartenant aux genres *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Saccharomycopsis*, *Sporobolomyces*.
- Celles à métabolisme aérobie ou anaérobie chez lesquelles le glucose est catabolisé par respiration et fermentation et qui sont donc capables de produire de l'éthanol par fermentation. Elles peuvent être subdivisées en deux sous-groupes :

\_les levures à métabolisme respiratoire dominant qui ne fermentent qu'un tiers du glucose et ont de fortes intensités respiratoires. Elles appartiennent par exemple aux genres *Candida*, *Hansenula* et *Pichia*.

\_les levures à métabolisme fermentaire dominant qui ont de très faibles intensités respiratoires et appartiennent aux genres *Saccharomyces* et *Schizosaccharomyces* (**Bourgeois, Mescle, et al., 1996**).

### II.6.2. Sources d'azote

Toutes les levures ne sont pas aptes à utiliser des sources d'azote minéral. En effet, *candida utilis* assimile les nitrates alors que *Saccharomyces cerevisiae* en est incapable. Les levures qui assimilent les nitrates utilisent également les nitrites mais la réciproque n'est pas vraie. Parmi les sources d'azote minéral, les sels d'ammonium donnent les meilleurs résultats (**Bourgeois, Mescle, et al., 1996**).

Parmi les sources d'azote organique, les acides aminés sont essentiellement utilisés en fonction des capacités de désamination des levures. Les acides glutamique et aspartique et leurs amines constituent ainsi de bonnes sources d'azote. La croissance des levures est plus importante en présence d'acides aminés ou de sels d'ammonium qu'avec des peptides (**Bourgeois, Mescle, et al., 1996**).

L'urée est utilisée par beaucoup de levures et donne des croissances identiques à celles obtenues avec des sels d'ammonium (**Bourgeois, Mescle, et al., 1996**).

### II.7. Importance industrielle des levures

Les levures sont utilisées depuis des milliers d'années dans les processus de fermentation traditionnelle pour produire de la bière, du vin et du pain. Les produits des biotechnologies modernes à base de levures impactent de nombreux secteurs commercialement importants, notamment l'alimentation, les boissons, les produits chimiques, les enzymes industrielles, les produits pharmaceutiques, l'agriculture et l'environnement (tableau n°04). *Saccharomyces cerevisiae* représente la principale « usine cellulaire » de levure en biotechnologie et est le microorganisme le plus exploité, étant responsable de la production d'éthanol potable et industriel, qui est la principale commodité biotechnologique mondiale. Cependant, d'autres espèces non-*Saccharomyces* sont de plus en plus utilisées dans la production de produits industriels (tableau n°05) (**Walker, 2009**).

**Tableau N°(04) : Produits industriels fabriqués par les levures (Walker, 2009).**

Produit	Exemples
Boissons	Boissons alcoolisées potables : bière, vin, cidre, saké et spiritueux distillés (whisky, vodka et cognac)
Aliments et alimentation animale	Levure de boulangerie, extraits de levure, levure fourragère, facteur de croissance pour le bétail et pigments pour l'alimentation animale
Produits chimiques	Éthanol carburant (bioéthanol), dioxyde de carbone, glycérol et acide citrique ; les levures sont également utilisées comme catalyseurs bioréducteurs en chimie organique
Enzymes	Invertase, inulinase, pectinase, lactase et lipase
Protéines recombinantes	Hormones (par exemple, insuline), vaccins viraux (par exemple, vaccin contre l'hépatite B), anticorps (par exemple, récepteur IgE), facteurs de croissance (par exemple, facteur de nécrose tumorale), interférons (par exemple, interféron leucocytaire), protéines sanguines (par exemple, albumine sérique humaine) et enzymes (par exemple, lipase gastrique et chymosine)

**Tableau N°(05) : Utilisations des levures non-*Saccharomyces* en biotechnologie (Walker, 2009).**

Levure	Utilisations
<i>Candida</i> spp.	De nombreuses utilisations dans les aliments, les produits chimiques, les produits pharmaceutiques et la fermentation du xylose ( <i>C. shehatae</i> )
<i>Kluyveromyces</i> spp.	Fermentation du lactose et de l'inuline, sources riches en enzymes (lactase, lipase, pectinase et chymosine recombinante)
<i>Hansenula</i> spp. et <i>Pichia</i> spp.	Technologie de clonage. Levures méthylotrophes ( <i>H. polymorpha</i> et <i>P.pastoris</i> )
<i>Saccharomycopsis</i> spp. et <i>Schwanniomyces</i> spp.	Levures amylolytiques (dégradant l'amidon)
<i>Schizosaccharomyces</i> spp.	Technologie de clonage, alcool carburant, certaines boissons (rhum) et protéines de biomasse
<i>Starmerella</i> spp.	Arôme du vin pendant la fermentation
<i>Yarrowia</i> spp.	Protéines issues des hydrocarbures ( <i>Y. lipolytica</i> )
<i>Zygosaccharomyces</i> spp.	Fermentations à haute teneur en sel/sucre (sauce soja)

Certaines levures jouent des rôles néfastes dans l'industrie, en particulier comme levures de détérioration dans la production alimentaire et des boissons (tableau n°06). Les levures de détérioration des aliments ne causent pas d'infections ou d'intoxications chez l'homme, mais

affectent négativement la qualité nutritive des aliments et ont une importance économique pour les producteurs alimentaires (Walker, 2009).

En plus de leurs rôles traditionnels dans les industries alimentaires et de fermentation, les levures jouent des rôles de plus en plus importants dans l'environnement et le secteur des soins de santé en biotechnologie. Les levures sont également inestimables en tant que cellules eucaryotes modèles dans la recherche biologique et biomédicale fondamentale (Walker, 2009).

**Tableau N°(06) :** Certaines levures importantes dans la production alimentaire et la détérioration des aliments (Walker, 2009).

Genre de levure	Importance dans les aliments
<i>Candida</i> spp.	Certaines espèces (ex, <i>C. utilis</i> , <i>C. guilliermondii</i> ) sont utilisées dans la production de protéines de biomasse microbienne, de vitamines et d'acide citrique. D'autres espèces (ex, <i>C. zeylanoides</i> ) sont des agents de détérioration des aliments dans la volaille congelée.
<i>Cryptococcus</i> spp.	Certaines souches sont utilisées comme agents de lutte biologique pour combattre la détérioration fongique des fruits après la récolte. <i>C. laurentii</i> est une levure de détérioration des aliments (volaille).
<i>Debaryomyces</i> spp.	<i>D. hansenii</i> est une levure tolérante au sel qui cause la détérioration des aliments (par exemple, viandes et poissons). Elle est également utilisée dans la lutte biologique contre les maladies fongiques des fruits.
<i>Kluyveromyces</i> spp.	Les levures fermentant le lactose sont utilisées pour produire de l'alcool potable à partir de lactosérum de fromage ( <i>K. marxianus</i> ). Elles sont une source d'enzymes alimentaires (pectinase, présure microbienne et lipase) et se trouvent dans les fermentations de cacao. Levure de détérioration dans les produits laitiers (laits fermentés et yaourt).
<i>Saccharomyces</i> spp.	<i>S. cerevisiae</i> est utilisée dans les fermentations alimentaires et de boissons traditionnelles (boulangerie, brasserie, vinification, etc.), comme source d'extraits alimentaires savoureux et d'enzymes alimentaires (ex, l'invertase). Elle est également utilisée comme levure fourragère (facteur de croissance pour le bétail). <i>S. bayanus</i> est utilisée dans les fermentations de vins mousseux, <i>S. diastaticus</i> est une levure sauvage qui cause la détérioration de la bière, et <i>S. boulardii</i> est utilisée comme levure probiotique.

**Partie II :**  
**Etude expérimentale**

# **Matériel et méthodes**

## Partie II : Etude expérimentale

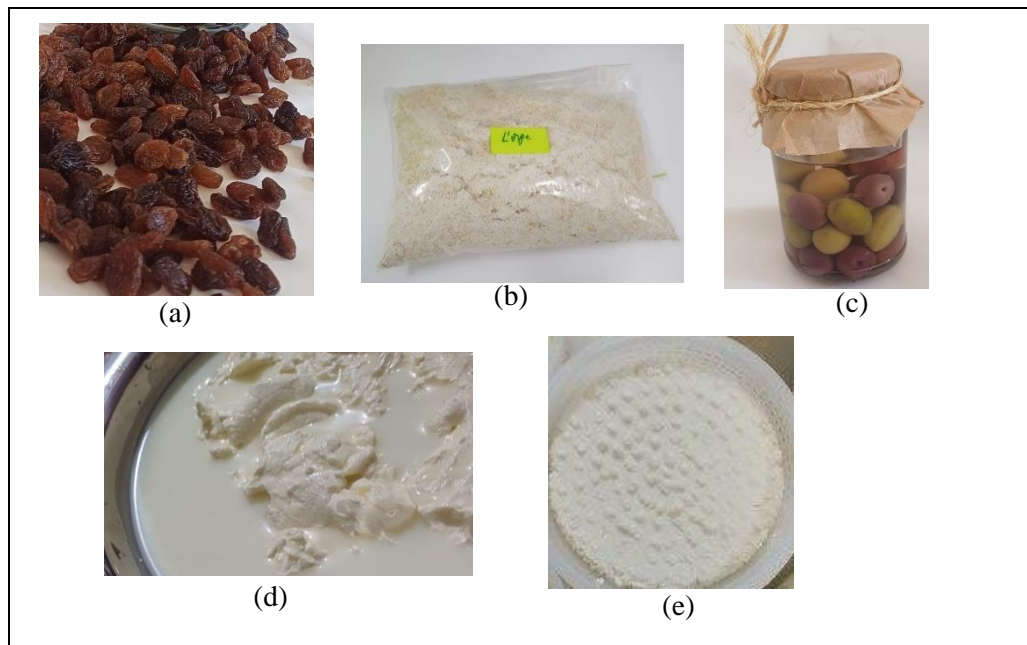
### I. Matériel et méthodes

#### I.1. Objectif

L'objectif de ce modeste travail consiste à isoler, purifier et identifier partiellement des levures d'origine alimentaire afin d'étudier leurs propriétés probiotiques en évaluant des divers facteurs tels que la fermentation des sucres, l'activité hémolytique, l'activité protéolytique, et l'activité de phospholipase ainsi que la production de gélatinase. Notre travail expérimental a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de microbiologie n°06 du département des sciences agronomiques, faculté des Sciences, Université Amar Thelidji -Laghouat.

#### I.2. Echantillonnage

Cinq échantillon on été utilisés pour la réalisation de cette étude et qui sont l'orge, olives vertes, raisin sec, jben et zebda (Figure n°03). Chaque échantillon a été préparé de manière traditionnelle dans la maison. Toutes les informations concernant l'échantillonnage ont été présentées dans le Tableau N°(07).



**Figure N°(03) :** L'échantillonnage utilisés dans cette étude [ (a) : resain sec ; (b) : orge ; (c) :olive ;(d) :zebda ; (e) :jben] **(Photo originale, 2024).**

**Tableau N°(07) :** Des informations concernant l'échantillonnage utilisé dans cette étude.

Echantillon		Région	Lieu	Date	Quantité	Stockage
Céréale	Orge	Laghouat (El-Hadjeb)	Exploitation privée	16/11/2023	1 Kg	Sachet
Dérivé laitier	Lait de vache entier pasteurisé	Laghouat	Laiterie Gueddouar	10/02/2024	2 L	Sachet
Fruit sec	Raisin	Boumerdès	Préparation traditionnelle	09/11/2023	1 Kg à l'état humide	Bocaux en verre
Fruit mariné	Olives vertes	Laghouat (El-Hadjeb)	Préparation traditionnelle	16/11/2023	2 kg	Bocaux en verre

### **I.3. Préparation des échantillons**

#### **➤ L'orge**

L'orge a été moulu de manière traditionnelle dans la maison jusqu'à l'obtention d'une farine qui a été conditionnée dans un sachet alimentaire.

#### **➤ Jben**

Le jben utilisé dans cette étude a été fabriqué traditionnellement à partir de lait de vache entier pasteurisé qui provenant de la Laiterie Gueddouar de Laghouat. Tout d'abord le lait est chauffé pendant 4 minutes jusqu'à devenir tiède (45°C). Ensuite, la présure a été ajoutée au lait, puis on laisse le lait se reposer pendant 10 à 15 minutes. Le lait caillé est mis ensuite dans un moule à faisselle en plastique pour l'égouttage. Le lactosérum a été retiré et le jben est conservé à 4°C dans un pot en verre.

#### **➤ Zebda**

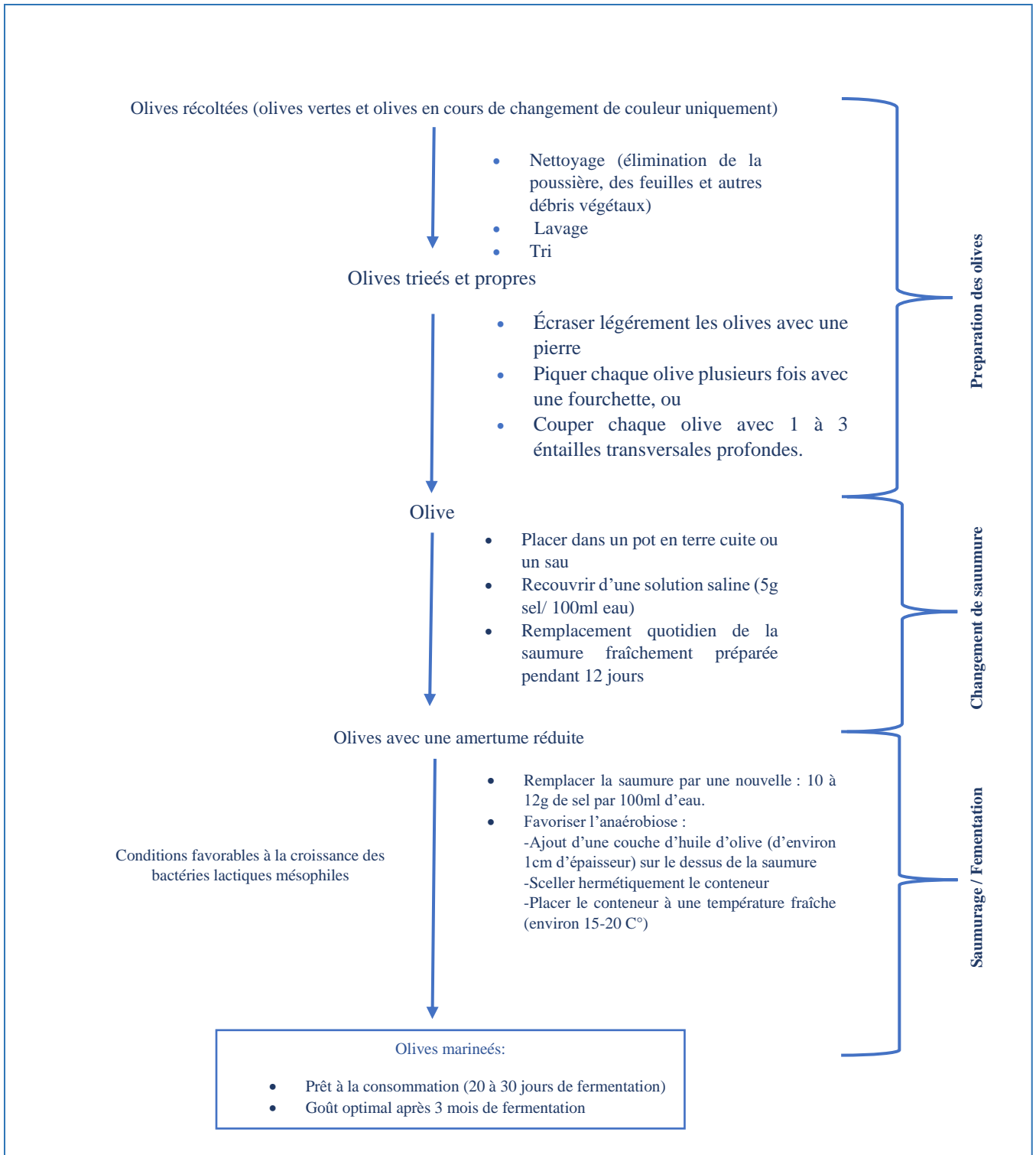
Le processus de fabrication traditionnelle du zebda commence par la préparation du rayeb, qui consiste en une fermentation spontanée à température ambiante pendant 12 à 48 heures. On verse 2 L de lait dans une bouteille en verre. Une fois la fermentation terminée, le lait coagulé est placé dans une chekoua pour être baratté, permettant ainsi la séparation du zebda. La matière grasse obtenue est ensuite lavée à l'eau avant d'être placée dans un récipient en verre.

#### **➤ Raisin sec**

Le raisin utilisé dans cette étude, est un raisin de table, acheté à l'état frais d'une marche locale de Laghouat. Après un nettoyage rapide du raisin avec de l'eau fraîche, le séchage se fait traditionnellement sur le toit de maison à l'air libre pendant 3 mois. Le raisin sec a été conditionné dans un bocal en verre.

#### **➤ L'olive vert**

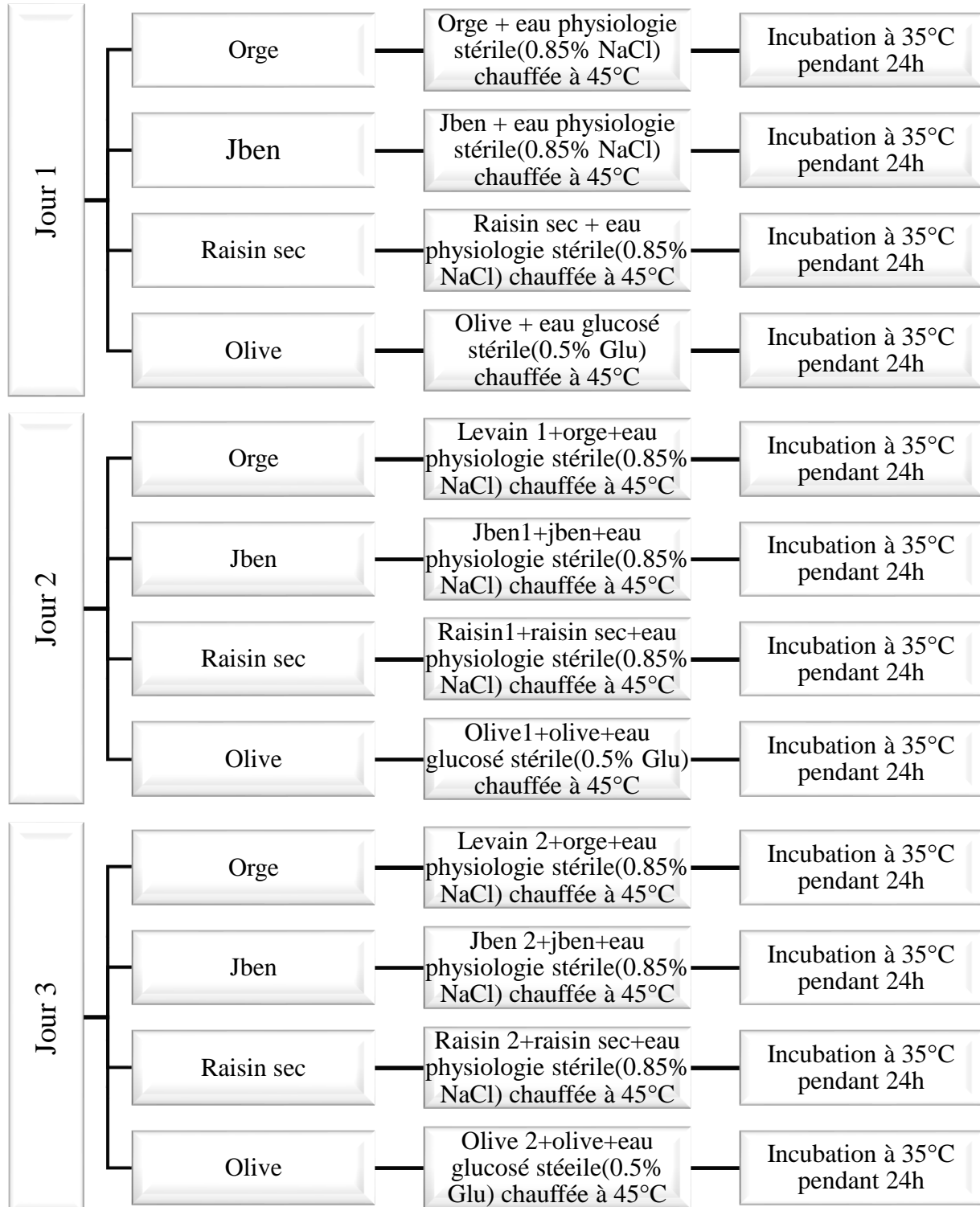
L'olive vert utilisé dans ce travail est collecté au niveau d'une exploitation agricole privée située dans la région d'El-Hadjeb, Wilaya de Laghouat durant le mois de novembre 2023. La figure n°04 illustre la saumure traditionnelle de l'olive selon (Benkerroum, 2013).



**Figure N°(04) :** Illustration montrant le diagramme de la saumure traditionnelle d'olive des pays d'Afrique du nord (Benkerroum, 2013).

#### I.4. Revivification de la flore levurienne

La figure ci-dessous représente la procédure de fermentation et/ou de revivification de la flore levurienne des échantillons testés, sauf pour le zebda qui ne nécessite pas cette procédure, car il est issu de la fermentation spontanée du lait.



**Figure N°(05) :** Logigramme du Protocole de l'étape de revivification de la flore levurienne des échantillons testés (Bourgeois, Larpent, *et al.*, 1996).

## I.5. Isolement des levures

Avant de commencer le travail expérimental, il est important de préparer une zone stérile, par la flamme des deux becs bunsen, sur un paillasse soigneusement désinfecté. Pour l'isolement sélectif des levures, le milieu solide YPD agar (2% peptone, 1% extrait de levure, 2% dextrose, 1,7% agar), additionné de chloramphénicol (0.1 g/l) a été utilisé (**Bourgeois, Larpent, et al., 1996**). A partir des 5 échantillons testés, 10 g de chaque échantillon sont déposés dans des flacons stériles contenant 90 ml d'eau physiologie stérile, puis homogénéisés soigneusement. Cette suspension est alors la dilution mère qui correspond à la dilution  $10^{-1}$ . Ensuite, 1 ml est prélevé aseptiquement et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologie stérile, on obtient ainsi la dilution  $10^{-2}$  et on continue de la même procédure jusqu'à la dilution  $10^{-4}$  (**Guiraud, 1998**). Tous les tubes sont agités soigneusement par des mouvements de rotation ou au moyen d'un Vortex. L'ensemencement est se fait en surface par étalement de 0.1 ml de chaque dilution sur le milieu sélectif YPD agar additionné de chloramphénicol (0.1 g/l), et les boîtes pétries sont ensuite incubées à 35°C pendant 72 h.

## I.6. Purification et conservation des levures

La purification des levures est réalisée par ensemencement en stries à l'aide des pipettes pasteur stériles sur la surface du milieu sélectif YPD agar, et les boîtes pétries sont ensuite mises en incubation à 35°C pendant 24 h. Après l'incubation, les colonies pures obtenues sont prélevées dans des tubes à essais contenant 15 ml du milieu YPD bouillon puis incubés à 35°C pendant 24 h. Les isolats sont conservés pour une période de court durée (max 4 semaines).

## I.7. Caractères morphologiques

### I.7.1. Observation macroscopique

Cette étude est effectuée sur des cultures levuriennes en milieu YPD liquide et solide. Le but de ce test est d'examiner l'aspect, la forme, la couleur et la consistance des colonies pures de levures en milieu solide ainsi que le dégagement de gaz et la présence de dépôt en milieu liquide (**Guiraud, 1998**).

## **I.7.2. Observation microscopique**

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 (Multon *et al.*, 1991). Une colonie pure est prélevée à l'aide d'une öse et déposée sur une lame contenant une goutte d'eau distillée stérile, bien homogénéisée et recouverte la goutte étalée par une lamelle. L'observation est réalisée immédiatement au microscope optique à un grossissement 400X (objectif 40) (Pol, 1996).

## **I.8. Caractères physiologiques**

### **I.8.1. Fermentation des sucres**

Pour étudier la fermentation des sucres par les levures, sept sucres ont été utilisés : Galactose, Lactose, Saccharose, Maltose, Fructose, Xylose, Arabinose. Le milieu liquide YPD bouillon (0.7% peptone, 0.5% extrait de levure) additionné de 2% de chaque sucre est répartie en tubes de 15 ml renfermant chacun une cloche de Durham. L'ensemencement est réalisé à partir d'une culture jeune à l'aide d'une micropipette, les tubes sont incubés à 35°C pendant 24 h. La fermentation se traduit par l'observation d'un dégagement gazeux dans la cloche de Durham (Bourgeois, Larpent, *et al.*, 1996).

### **I.8.2. Activité de phospholipase**

Pour déterminer l'activité de phospholipase des levures, une pré-culture de chaque isolat a été initialement cultivée dans YPD bouillon à 35°C pendant 24 h. Après l'incubation, 0.1 ml de chaque culture est ensemencé en surface sur la gélose Sabouraud Dextrose Agar additionnée de 5,85% le chlorure de sodium (NaCl), 0,06% le chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub>) et 10% (v/v) de jaune d'œuf stérile, utilisé comme source unique de lipides. Après 48 h d'incubation à 35°C, l'activité lipolytique est interprétée par l'apparition d'une zone de précipitation formée autour des colonies (Fernández-Pacheco *et al.*, 2021).

### **I.8.3. Activité hémolytique**

Pour déterminer l'activité hémolytique des levures isolées, la surface du milieu YPD additionnée du sang humain à 5% (v/v) est ensemencée avec 0,1 ml de chaque isolat. Après l'incubation à 35°C pendant 24 h, les résultats de l'hémolyse sont interprétés comme suit : un halo verdâtre autour des colonies (alpha-hémolytique ou hémolyse partiel), ou bien présence d'une zone d'hémolyse claire (beta-hémolytique

ou hémolyse complète), ou pas d'halo signifiant l'absence d'hémolyse (gamma-hémolytique) (Angmo *et al.*, 2016).

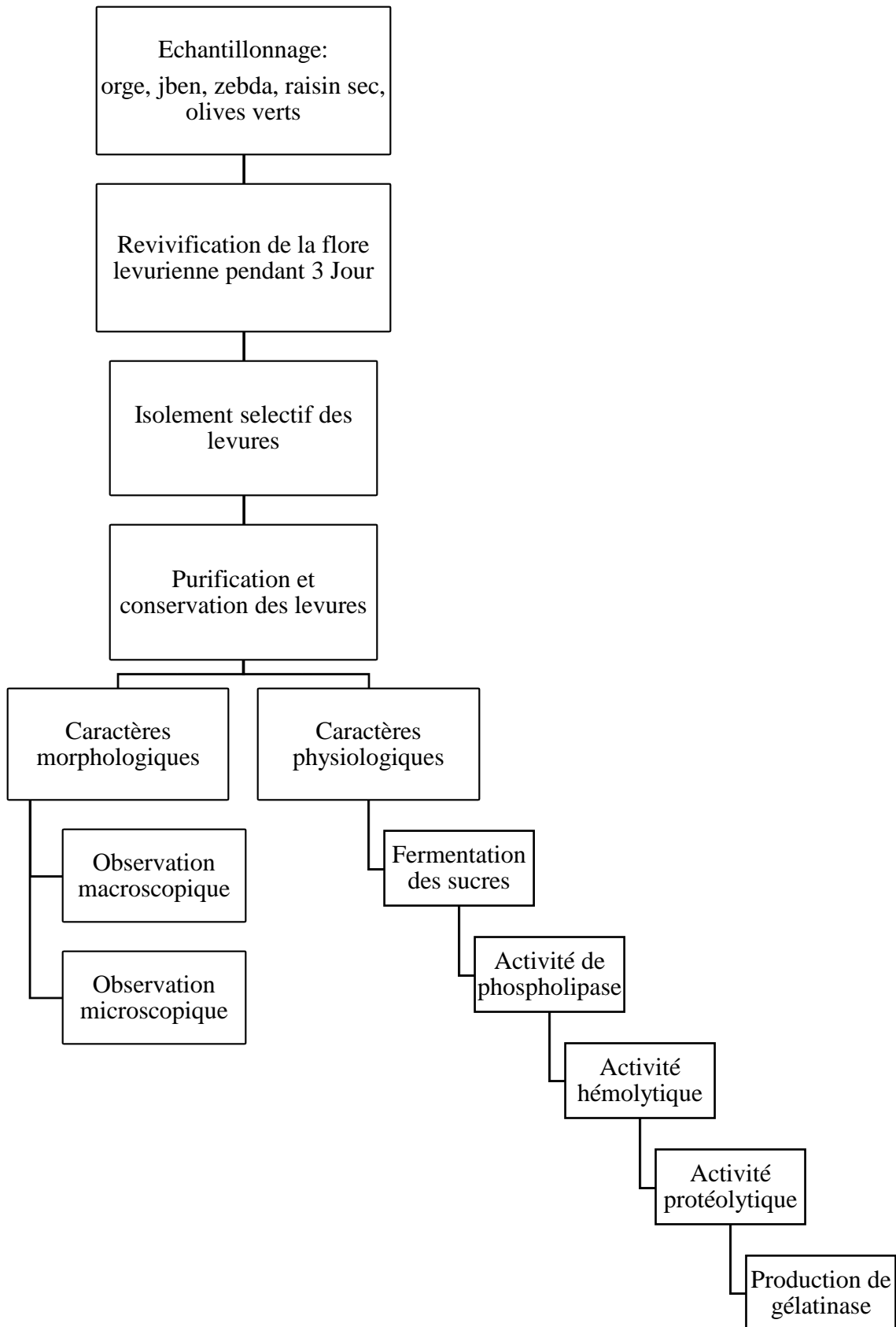
#### **I.8.4. Activité protéolytique**

L'activité protéolytique est un critère très important dans la caractérisation des isolats d'intérêt technologique, principalement dans la fabrication des produits laitiers. Pour cela l'activité protéolytique a été déterminée sur le milieu Skim Milk Agar (**Annexes**), en ensemençant 0,1 ml de chaque isolat de levures sur la surface du milieu. La capacité protéolytique des isolats a été évaluées après l'incubation des boîtes de pétris à 35°C pendant 48 h, en observant une zone claire entoure des colonies levuriennes (**Pailin *et al.*, 2001**).

#### **I.8.5. La production de gélatinase**

La production de gélatinase par les isolats de levures a été déterminée par l'ensemencement en surface de 0,1 ml de chaque isolat initialement cultivée sur le milieu gélosé YPD additionné 30 g/l de gélatine (**Dela Cruz & Torres, 2012**). Après 24 h d'incubation à 35°C, les boîtes de pétrie ont été déposé dans le réfrigérateur à 4°C pendant 15 min, puis analysée, en observant les zones liquéfiées autour les colonies qui indiquent l'hydrolyse de la gélatine.

### I.9. Protocole expérimentale



**Figure N°(06) :** Logigramme du protocole expérimental de la présente étude.

## Résultats et discussion

## II. Résultats et discussion

### II.1. Revivification de la flore levurienne

Après la fermentation des 4 échantillons testés (raisin, orge, jben et olive) pendant 72 h à 35°C, on observe un dégagement de gaze (CO<sub>2</sub>), et un changement d'odeur, ce qui permet de dire que la procédure de fermentation est bien déroulée.



**Figure N°(07) :** Résultats de la fermentation des échantillons

### II.2. Isolement et purification des levures

L'isolement des levures à partir des cinq échantillons a permis de sélectionner vingt-cinq isolats, qui ont été purifiés par repiquage sur le milieu YPD agar et incubés à 35°C pendant 24 h.

## II.3. Caractères morphologiques

### II.3.1. Observation macroscopique

L'observation macroscopique permet de décrire l'aspect et les critères relatifs aux colonies de levures sélectionnées, cultivées en milieu solide YPD agar et en milieu liquide. Les colonies de levures apparaissent sous forme arrondie, à une couleur blanche avec des reliefs plus au moins bombés, un contour souvent régulier et avec surface lisse (Figure n°08). Sur le milieu liquide YPD bouillon, on observe la présence de dépôt au fond des tubes et un dégagement de gaze ( $\text{CO}_2$ ) qui caractérise les levures (Kurtzman & Fell, 1998; Kurtzman *et al.*, 2011; Larpent, 1997).


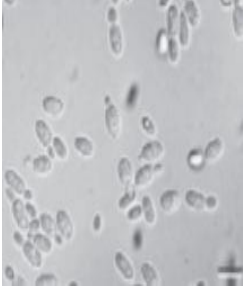
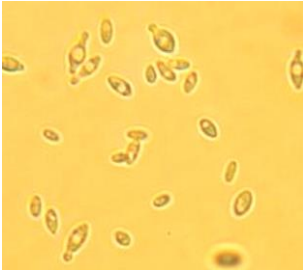

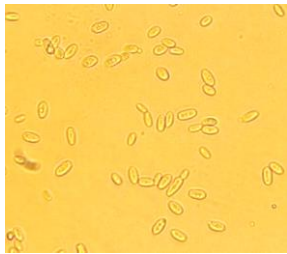
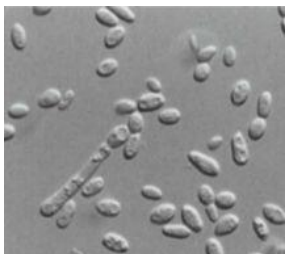
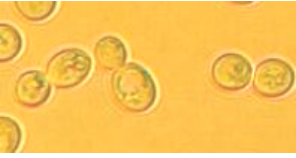
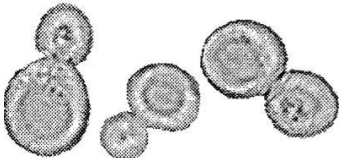


**Figure N° (08) :** Aspect macroscopique des colonies des levures sur gélose YPD (Photo originale, 2024).

### II.3.2. Observation microscopique

L'observation microscopique permet de déterminer la forme et la taille des cellules des levures. La morphologie des cellules est variable d'un genre à l'autre. Elle est sphérique, ovoïde, cylindrique, apiculé, bouteille et triangulaire ou pyramidal. Le mode de reproduction végétative se fait par bourgeonnement pour la majorité des levures. Il est soit monopolaire, bipolaire ou multilatérale. Ces caractères des levures a été réalisé en se référent aux clés d'identification citées dans deux livres sur les levures publiées au fil des années (Kurtzman & Fell, 1998; Kurtzman *et al.*, 2011).

**Tableau N°(08) : Caractères microscopiques des levures sélectionnées.**

Genre	Origine	Isolat	Identification	Aspect microscopique (G×40)	Référence (Kurtzman & Fell, 1998; Kurtzman <i>et al.</i> , 2011)
<i>Cryptococcus</i> spp.	Olive	V3 V5	Les cellules sont ovoïdes allongés où le bourgeonnement est monopolaire, absence de pseudo mycélium.		
	Zebda	Z1 Z7 Z18 Z19 Z20			
<i>Hanseniaspora</i> spp.	Olive	V7 V9 V10	Les cellules sont sphériques où le bourgeonnement est bipolaire, absence de pseudo mycélium.		
	Raisin	R3 R5 R8 R9 R10			
<i>Saitoella</i> spp.	Jben	J1 J5 J6 J7 J10	Les cellules sont ovoïdes allongé où le bourgeonnement est monopolaire, absence de pseudo mycélium.		
<i>Saccharomyces</i> spp.	Orge	O2 O3 O7 O12 O13	Les cellules sont sphériques où le bourgeonnement est multipolaire, absence de pseudo mycélium.		

## II.4. Caractères physiologiques

Les caractéristiques physiologiques ont été obtenus à partir des divers testes tels que la fermentation des sucres, l'activité hémolytique, l'activité de phospholipase, et l'activité protéolytique ainsi que la production de gélatinase.

### II.4.1. Fermentation des sucres

Les résultats de la fermentation des sept sucres par les levures isolées sont présentés dans le tableau n°09. La fermentation se traduit par l'observation d'un dégagement gazeux dans les cloches de Durham, donc la cloche flotte, les bulles d'air se forment dans le tube et un virage de couleur. Rappelant que ce caractère concorde avec (**Kurtzman & Fell, 1998**).

Dans ce tableau, il ressort que les isolats V3 et V5 du genre *Cryptococcus* spp. sont incapable de fermenter tous les sucres, est capable de fermentent uniquement le fructose. Ces résultats sont en accordance avec (**Kurtzman & Fell, 1998**) à par le fructose qui n'ont pas utilisé et nous n'avons pas pu trouver d'études antérieures ayant étudié cette genre pour la fermentation du fructose. Notant aussi que le même genre isolé de zebda est incapable d'assimiler tous les sucres. Ces résultats sont en accordance avec la littérature, à l'exception de Z7 qui fermenter le fructose, le lactose, le saccharose, et le galactose.

*Hanseniopsis* spp. V7 est incapable de fermenter tous les sucres mais les isolats V9, V10 et les isolats de raisin peuvent fermenter uniquement le fructose et incapable de fermenter les autres sucres, ce qui est en accordance avec (**Kurtzman & Fell, 1998**). De plus, tous les isolats de *Saitoella* spp. ne peuvent pas fermenter tous les sucres testés, ce qui est similaires aux résultats de (**Kurtzman & Fell, 1998**).

**Tableau N°(09) : Résultats de la fermentation de différents sucres par les isolats de levures.**

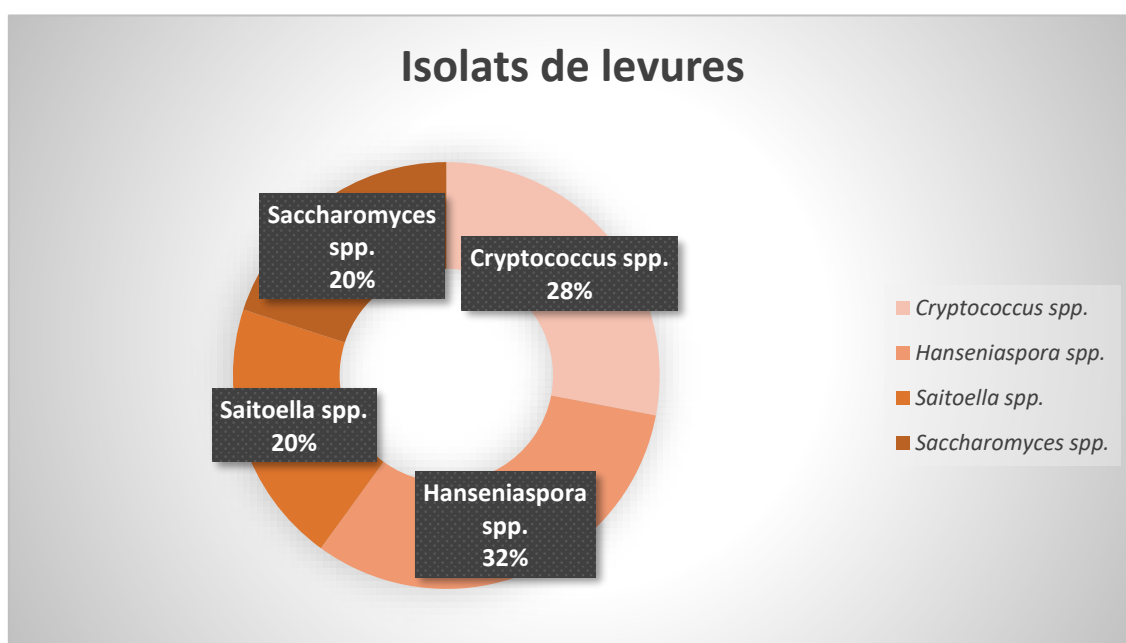
Genre	Origine	Isolat	Fructose	Maltose	Lactose	Saccharose	Galactose	Xylose	Arabinose
<i>Cryptococcus</i> spp.	Olive	V3	+	-	-	-	-	-	-
		V5	+	-	-	-	-	-	-
	Zebda	Z1	-	-	-	-	-	-	-
		Z7	+	-	+	+	+	-	-
		Z18	-	-	-	-	-	-	-
		Z19	-	-	-	-	-	-	-
		Z20	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hanseniaspora</i> spp.	Olive	V7	-	-	-	-	-	-	-
		V9	+	-	-	-	-	-	-
		V10	+	-	-	-	-	-	-
	Raisin	R3	+	-	-	-	-	-	-
		R5	+	-	-	-	-	-	-
		R8	+	-	-	-	-	-	-
		R9	+	-	-	-	-	-	-
		R10	+	-	-	-	-	-	
<i>Saitoella</i> spp.	Jben	J1	-	-	-	-	-	-	-
		J5	-	-	-	-	-	-	-
		J6	-	-	-	-	-	-	-
		J7	-	-	-	-	-	-	-
		J10	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces</i> spp.	Orge	O2	-	-	-	-	++	-	-
		O3	+	+	-	+	+	-	-
		O7	+	+	-	++	-	-	-
		O12	-	++	-	+	++	-	-
		O13	+	+	-	+	+	-	-

( -: test négatif ; + : test positif ; ++ : fort fermentation )

Tous les isolats *Saccharomyces* spp. sont incapable de fermenter le lactose, la xylose et l'arabinose et capable d'assimiler le saccharose, à l'exception de l'isolat *Saccharomyces* spp. O2. Notons également que le profil de fermentation du fructose, du maltose et du galactose varie considérablement entre les isolats de *Saccharomyces* spp. Ces résultats sont conformes aux travaux de (Fakruddin *et al.*, 2013) qui ont étudié la fermentation des différents sucres par les levures, ils ont constaté que *Saccharomyces* spp. a fermenté le fructose, le maltose, le saccharose et le galactose et incapable de fermenter le lactose, la xylose et l'arabinose. Il est important de noter que le désaccord des résultats avec la littérature est due soit d'identification erronée, une mutation génétique ou d'une erreur expérimentale.

#### ▪ Répartition des isolats identifier

L'étude des caractères cultureux morphologique et physiologique des 25 isolats levuriens est basée sur des critères d'identification citées dans deux livres sur les levures publiées au fil des années (Kurtzman & Fell, 1998; Kurtzman *et al.*, 2011). Nous avons pu obtenu 4 genres identifier et la répartition montrant par la figure n°09.

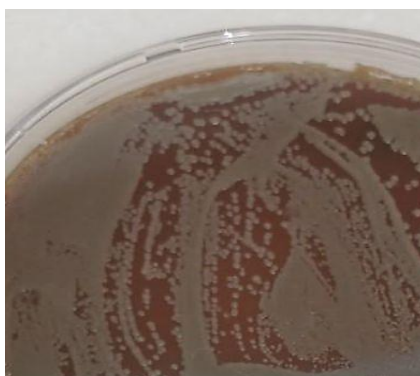


**Figure N°(09) :** Répartition des levures isolées identifier à partir des aliments traditionnels.

#### II.4.2. Activité hémolytique

L'activité hémolytique des isolats de levures a été testée sur le milieu gélosé au YPD additionné du sang humain à 5% (v/v), et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau n°10. Nos résultats montrent que tous les isolats de levures sont gamma hémolytiques (c'est-à-dire absence d'hémolyse), ce qui indique l'aspect sécuritaire de nos isolats.

La détermination de l'activité hémolytique est considérée comme un aspect de sécurité pour la sélection des levures probiotiques FAO/OMS (**Joint, 2002**), et cette activité a également été étudiée dans cette étude. Nos résultats sont conformes à ceux rapportés par (**Fernández-Pacheco et al., 2021**) qui ont également signalé l'absence de l'activité hémolytique chez les levures. Ainsi, (**Fadda et al., 2017**) ont détecté aucune activité hémolytique chez *Kluyveromyces* spp. isolées du fromage artisanal. L'absence d'activité hémolytique chez les isolats de levures étudiées peut être considérée comme critère positive, notamment en termes de sécurité pour des applications industrielles et biotechnologiques.

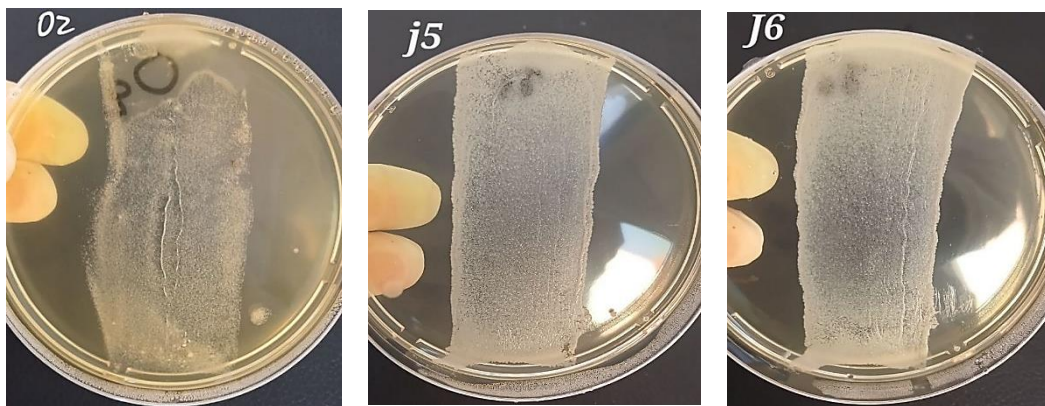


**Figure N°(10) : Résultats de test de l'activité hémolytique d'isolats de levures (Photo originale, 2024).**

### II.4.3. La production de gélatinase

Les isolats de levures sélectionnés pour cette étude ont été testés sur l'activité de gélatinase en milieu YPD agar additionnée à 30 g/l de gélatine. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau n°10.

D'après l'analyse des résultats obtenus, 22 isolats ont une gélatinase négative, ce qui constitue une indication préliminaire de leur sécurité et 3 isolats ont une gélatinase positive, donc ils sont capables de dégrader la gélatine (voir figures n°11). Ces figures montrent les zones de dégradation de la gélatine. La production de gélatinase pour la sélection des souches probiotiques est généralement analysée car elle est liée à la sécurité de leur utilisation, car les micro-organismes pathogènes produisent généralement cette enzyme dans le cadre de leur pathogénèse (**Piraine *et al.*, 2023**). (**Syal & Vohra, 2013**) ont rapporté que la gélatinase n'a pas été produites par aucune des isolats de *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Aureobasidium* spp. et *Pichia manschuria*, assurant ainsi leur utilisation en toute sécurité.



O2 : Isolat de l'orge ; J5 : Isolat du jben ; J6 : Isolat du jben

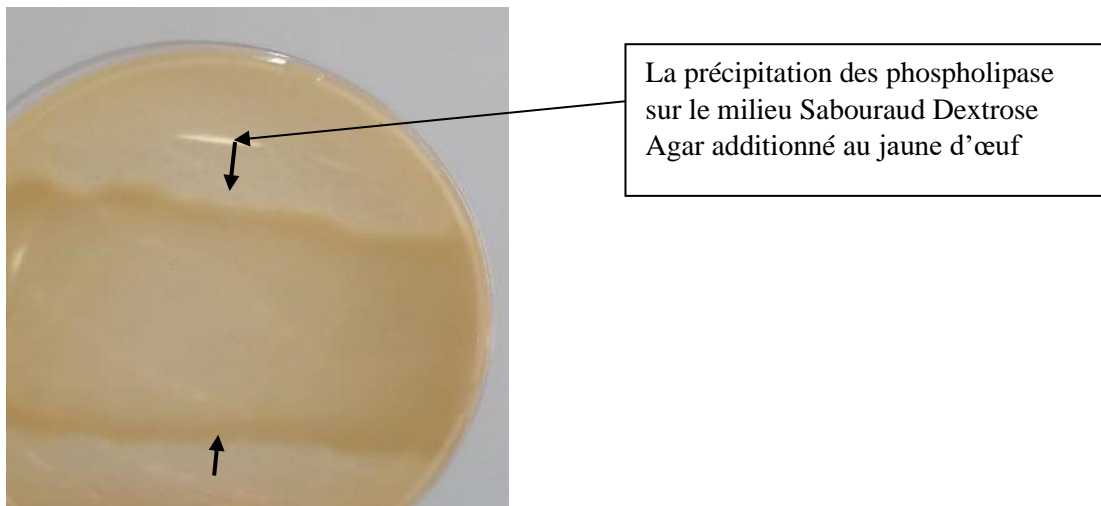
**Figure N°(11) : Résultats de test de la production de la gélatinase d'isolats O2, J5 et J6 (Photo originale, 2024).**

**Tableau N°(10) :** Résultats de l'activité hémolytique et de la production de gélatinase des levures sélectionnées pour cette étude.

<b>Isolats</b>	<b>Activité hémolytique</b>	<b>Gélatinase</b>
<i>Hanseniaspora</i> spp. V7	γ	–
<i>Hanseniaspora</i> spp. V9	γ	–
<i>Hanseniaspora</i> spp. V10	γ	–
<i>Hanseniaspora</i> spp. R3	γ	–
<i>Hanseniaspora</i> spp. R5	γ	–
<i>Hanseniaspora</i> spp. R8	γ	–
<i>Hanseniaspora</i> spp. R9	γ	–
<i>Hanseniaspora</i> spp. R10	γ	–
<i>Saccharomyces</i> spp. O2	γ	+
<i>Saccharomyces</i> spp. O3	γ	–
<i>Saccharomyces</i> spp. O7	γ	–
<i>Saccharomyces</i> spp. O12	γ	–
<i>Saccharomyces</i> spp. O13	γ	–
<i>Cryptococcus</i> spp. V3	γ	–
<i>Cryptococcus</i> spp. V5	γ	–
<i>Cryptococcus</i> spp. Z1	γ	–
<i>Cryptococcus</i> spp. Z7	γ	–
<i>Cryptococcus</i> spp. Z18	γ	–
<i>Cryptococcus</i> spp. Z19	γ	–
<i>Cryptococcus</i> spp. Z20	γ	–
<i>Saitoella</i> spp. J1	γ	–
<i>Saitoella</i> spp. J5	γ	+
<i>Saitoella</i> spp. J6	γ	+
<i>Saitoella</i> spp. J7	γ	–
<i>Saitoella</i> spp. J10	γ	–

#### II.4.4. Activité de phospholipase

L'activité de phospholipase des isolats de levures a été testée sur une gélose Sabouraud Dextrose Agar additionnée du jaune d'œufs. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau n°11. D'après l'analyse des résultats obtenus, 8 isolats (Z7, Z18, Z19, Z20, J5, J6, J7, et J10) n'étaient pas phospholipolytiques, tandis que 17 isolats (R3, R5, R8, R9, R10, O2, O3, O7, O12, O13, V3, V5, V7, V9, V10, Z1, et J1) étaient phospholipolytiques, ce qui indique la présence des enzymes lipolytiques sous forme d'une précipitation des phospholipases sur la gélose Sabouraud Dextrose Agar additionnée du jaune d'œufs (figure n°12). (**Fernández-Pacheco et al., 2021**) également trouvé l'activité de phospholipase chez *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora osmophila*, *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia ziziphicola*, et *Pichia kudriavzevii* isolées des différents écosystèmes alimentaires. Les activités enzymatiques de certaines levures de qualité alimentaire sont liées à la production de composés complexes dans les produits fermentés entraînant le développement de l'arôme, du goût et de la couleur (**Zeng et al., 2019**). Par exemple, l'action de phospholipase peut améliorer efficacement le goût des produits fermentés en produisant des acides gras libres.

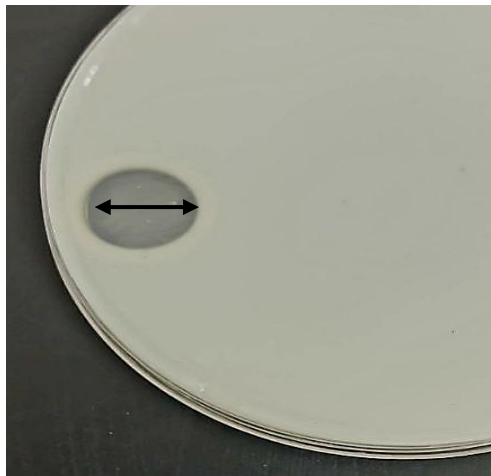


La précipitation des phospholipase sur le milieu Sabouraud Dextrose Agar additionné au jaune d'œuf

**Figure N°(12) :** Image montrant l'action d'enzyme lytique extracellulaire d'isolat de levure (**Photo originale, 2024**).

#### II.4.5. Activité protéolytique

Les isolats de levures sélectionnés pour cette étude ont été testés sur l'activité protéolytique en milieu Skim Milk Agar. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau n°11. Nos résultats montrant que 21 isolats (Z1, Z18, Z19, Z20, O2, O3, O7, O12, O13, V3, V5, V7, V9, V10, J5, J7, J10, R3, R5, R8, et R9) ont présenté un halo clair entourant les colonies (voir figure n°13), ce qui indique une dégradation de la caséine présentée dans le milieu Skim Milk Agar par l'enzyme la protéase. Tandis que, 4 isolats (J1, J6, R10, et Z7) ne possèdent pas de protéase, donc ils sont incapables de dégrader la caséine. L'activité protéolytique des isolats de levures est contribué au développement de l'arôme en augmentant la teneur en acides aminés libres (Zeng *et al.*, 2019). Selon (Moradi *et al.*, 2018) la présence d'une activité protéolytique au sein des levures est considérée comme une réaction biochimique principale qui se produit pendant l'affinage du fromage.



**Figure N°(13) :** Image montrant l'action d'enzyme lytique extracellulaire d'isolat de levure ;  
↔ : montre le halo clair des protéases sur le milieu Skim Milk Agar (Photo originale, 2024).

**Tableau N°(11) : Résultats de l'activité lipolytique et protéolytique des levures sélectionnées pour cette étude.**

<b>Isolats</b>	<b>Activité de phospholipase</b>	<b>Activité protéolytique</b>
<i>Hanseniaspora</i> spp. V7	+	+
<i>Hanseniaspora</i> spp. V9	+	+
<i>Hanseniaspora</i> spp. V10	+	+
<i>Hanseniaspora</i> spp. R3	+	+
<i>Hanseniaspora</i> spp. R5	+	+
<i>Hanseniaspora</i> spp. R8	+	+
<i>Hanseniaspora</i> spp. R9	+	+
<i>Hanseniaspora</i> spp. R10	+	–
<i>Saccharomyces</i> spp. O2	+	+
<i>Saccharomyces</i> spp. O3	+	+
<i>Saccharomyces</i> spp. O7	+	+
<i>Saccharomyces</i> spp. O12	+	+
<i>Saccharomyces</i> spp. O13	+	+
<i>Cryptococcus</i> spp. V3	+	+
<i>Cryptococcus</i> spp. V5	+	+
<i>Cryptococcus</i> spp. Z1	+	+
<i>Cryptococcus</i> spp. Z7	–	–
<i>Cryptococcus</i> spp. Z18	–	+
<i>Cryptococcus</i> spp. Z19	–	+
<i>Cryptococcus</i> spp. Z20	–	+
<i>Saitoella</i> spp. J1	+	–
<i>Saitoella</i> spp. J5	–	+
<i>Saitoella</i> spp. J6	–	–
<i>Saitoella</i> spp. J7	–	+
<i>Saitoella</i> spp. J10	–	+

## Conclusion et perspectives

Ce modeste travail port sur un sujet intéressant dans le domaine agroalimentaire, car cette étude a permis d'isoler et identifier partiellement des levures d'origine alimentaire, afin d'évaluer leurs propriétés probiotiques. L'isolement a permis d'identifier partiellement 25 isolats appartenant à quatre différents genres qui sont : *Cryptococcus* spp. (28 %), *Hanseniaspora* spp. (32 %), *Saitoella* spp. (20 %) et *Saccharomyces* spp. (20 %).

L'étude physiologique des levures a permis de déterminer que les isolats du genres *Cryptococcus* spp., *Hanseniaspora* spp. et *Saitoella* spp. généralement incapables de fermenter les sucres testé. Cependant, les isolats du genre *Saccharomyces* spp. sont capables de fermenter le fructose, le maltose, le saccharose et le galactose et incapable de fermenter le lactose, la xylose et l'arabinose, indiquant une similarité au profil fermentaire et aux caractéristiques morphologiques du cet genre. Tous les isolats testés sont gamma hémolytiques (absence d'hémolyse), tandis que 3 isolats ont une gélatinase positive. De plus, les isolats de notre étude possèdent une activité lipolytique et protéolytique remarquables, ce qui indique la présence des enzymes « phospholipase » et « protéase », respectivement.

Cette étude présente des connaissances sur la diversité de la microflore levurienne d'aliments traditionnels, et leurs propriétés probiotiques, néanmoins, cette recherche nécessite d'être approfondie par d'autres travaux, qui peuvent être envisagées comme des perspectives :

- Caractérisation moléculaire des différents isolats de levures testés,
- Etude de l'activité antimicrobienne et de l'antifongogramme des levures isolées,
- Détermination des propriétés technologiques et biotechnologique telles que la production d'enzyme ( $\alpha$ -amylase, maltase et pectinase...) et production de bioalcool.

# **Références bibliographiques**

**Références bibliographiques**

- Adesulu-Dahunsi, A. T., Dahunsi, S. O., & Olayanju, A. (2020). Synergistic microbial interactions between lactic acid bacteria and yeasts during production of Nigerian indigenous fermented foods and beverages. *Food Control*, *110*, 106963.
- Adesulu, A., & Awojobi, K. (2014). Enhancing sustainable development through indigenous fermented food products in Nigeria. *African Journal of Microbiology Research*, *8*(12), 1338-1343.
- Angmo, K., Kumari, A., Savitri, & Bhalla, T. C. (2016). Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LWT - Food Science and Technology*, *66*, 428-435.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.057>
- Ayed, L., M'hir, S., & Hamdi, M. (2020). Microbiological, biochemical, and functional aspects of fermented vegetable and fruit beverages. *Journal of Chemistry*, *2020*(1), 5790432.
- Benkerroum, N. (2013). Traditional fermented foods of North African countries: technology and food safety challenges with regard to microbiological risks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *12*(1), 54-89.
- Bourgeois, C., Larpent, J., & Accolas, J. (1996). Microbiologie alimentaire. Tome 2—Aliments fermentés et fermentations alimentaires. *Collection Sciences et techniques agroalimentaires, Edition Lavoisier, Technique et Documentation, France*.
- Bourgeois, C., Mescle, J., & Zucca, J. (1996). Microbiologie alimentaire. Tome I: Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. *Edition Technique et Documentation Lavoisier*, 393-414.
- Dela Cruz, T. E. E., & Torres, J. M. O. (2012). Gelatin hydrolysis test protocol. *Am Soc Microbiol*.
- Devi, P. B., & Shetty, P. H. (2020). Traditional preserved and fermented foods and their nutritional aspects. In *Nutritional and Health Aspects of Food in South Asian Countries* (pp. 61-73). Elsevier.
- Fadda, M. E., Mossa, V., Deplano, M., Pisano, M. B., & Cosentino, S. (2017). In vitro screening of Kluyveromyces strains isolated from Fiore Sardo cheese for potential use as probiotics. *LWT*, *75*, 100-106.
- Fakruddin, M., Islam, M. A., Quayum, M. A., Ahmed, M. M., & Chowdhury, N. (2013). Characterization of stress tolerant high potential ethanol producing yeast from agro-industrial waste. *Am J Biosci*, *1*(2), 24-34.

- Fernández-Pacheco, P., Ramos Monge, I. M., Fernández-González, M., Poveda Colado, J. M., & Arévalo-Villena, M. (2021). Safety evaluation of yeasts with probiotic potential. *Frontiers in Nutrition*, 8, 659328.
- Germain, P. (2005). Maintien et sauvegarde des anciens procédés dans le secteur brassicole. *Les fermentations au service des produits de terroir*, 34.
- Guiraud, J.-P. (1998). *Microbiologie alimentaire: Rappels de microbiologie générale. 2, Microbiologie alimentaire. 3, Techniques d'analyse microbiologique. 4, Analyse microbiologique des aliments*. Dunod.
- Joint, F. (2002). WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. *London, Ontario, Canada*, 30(1), 16-22.
- Kroon, P. A., & D'Antuono, L. F. (2013). Traditional foods: from culture, ecology and diversity, to human health and potential for exploitation. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 93(14).
- Kurtzman, C., & Fell, J. W. (1998). *The Yeasts - A Taxonomic Study*. Elsevier Science. <https://books.google.dz/books?id=bnWQsv2eTcEC>
- Kurtzman, C., Fell, J. W., & Boekhout, T. (2011). *The Yeasts: A Taxonomic Study*. Elsevier Science. <https://books.google.dz/books?id=yfg79rIIFIkC>
- Larpent, J.-P. (1997). *Microbiologie alimentaire: techniques de laboratoire*. Technique et Documentation.
- LOÏEZ, A. (2003). Production de la levure de panification par biotechnologie. *Techniques de l'ingénieur. Bioprocédés*(J6013).
- Loveday, L., & Chiba, S. (1985). Partaking with the divine and symbolizing the societal: The semiotics of Japanese food and drink.
- Moradi, R., Nosrati, R., Zare, H., Tahmasebi, T., Sadari, H., & Owlia, P. (2018). Screening and characterization of in-vitro probiotic criteria of *Saccharomyces* and *Kluyveromyces* strains. *Iranian journal of microbiology*, 10(2), 123.
- Multon, J.-L., Linden, G., Bourgeois, C., & Leveau, J. (1991). Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires.
- Pailin, T., Kang, D., Schmidt, K., & Fung, D. (2001). Detection of extracellular bound proteinase in EPS-producing lactic acid bacteria cultures on skim milk agar. *Letters in Applied Microbiology*, 33(1), 45-49.
- Peulić, T., Marić, A., Maravić, N., Novaković, A., Kalenjuk Pivarski, B., Čabarkapa, I., Lazarević, J., Šmugović, S., & Ikonić, P. (2023). Consumer Attitudes and Preferences towards Traditional Food Products in Vojvodina. *Sustainability*, 15(16), 12420.

- Piraine, R. E. A., Retzlaf, G. M., Gonçalves, V. S., Cunha, R. C., Conrad, N. L., Bochman, M. L., & Leite, F. P. L. (2023). Brewing and probiotic potential activity of wild yeasts *Hanseniaspora uvarum* PIT001, *Pichia kluyveri* LAR001 and *Candida intermedia* ORQ001. *European Food Research and Technology*, 249(1), 133-148.
- Pol, D. (1996). *Travaux pratiques de biologie des levures: guide de laboratoire: des informations pratiques et les protocoles pour réaliser des manipulations et des expériences a tous les niveaux d'enseignement*. Ellipses.
- Rocillo-Aquino, Z., Cervantes-Escoto, F., Leos-Rodríguez, J. A., Cruz-Delgado, D., & Espinoza-Ortega, A. (2021). What is a traditional food? Conceptual evolution from four dimensions. *Journal of Ethnic Foods*, 8, 1-10.
- Syal, P., & Vohra, A. (2013). Probiotic potential of yeasts isolated from traditional Indian fermented foods. *International Journal of Microbiology Research*, 5(2), 390.
- Verardo, V., Gómez-Caravaca, A. M., & Tabanelli, G. (2020). Bioactive components in fermented foods and food by-products. In (Vol. 9, pp. 153): MDPI.
- Walker, G. M. (2009). Yeasts. In *Desk encyclopedia of microbiology* (pp. 1174-1187). Academic Press/Elsevier.
- Zeng, X., Fan, J., He, L., Duan, Z., & Xia, W. (2019). Technological properties and probiotic potential of yeasts isolated from traditional low-salt fermented Chinese fish Suan yu. *Journal of food biochemistry*, 43(8), e12865.

## Annexes

- **Milieu YPD bouillon (Yeast-Peptone-Dextrose) :**

- ✓ 0.5% Extrait de levure
- ✓ 0.7% Peptone
- ✓ 2% Dextrose

- **Milieu YPD agar :**

- ✓ 1% Extrait de levure
- ✓ 2% Peptone
- ✓ 2% Dextrose
- ✓ 1.7% Agar-Agar

- **Milieu Skim Milk agar :**

- ✓ 50% de 2.5% solution d'agar stérile
- ✓ 50% Lait écrémé