



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 : Bouguerra Asmaa

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

FILIERE : SCIENCES ALIMENTAIRES

OPTION : AGROALIMENTAIRE ET CONTROLE DE QUALITE

Thème

**Etude de la microflore levurienne
de quelques aliments traditionnels**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Mr. Becheur Mourad	MAA.	Président
Mm. Lounici Safia	MAA.	Examinatrice
Mr. Houicher Abderrahmane	Pr.	Rapporteur
Mr. 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 : بوقرة أسماء

ميدان: علوم الطبيعية و الحياة

شعبة: علوم غذائية

تخصص: صناعات غذائية و مراقبة النوعية

موضوع البحث

دراسة الخمائر الدقيقة في بعض الأطعمة التقليدية

أعضاء لجنة المناقشة :

الاسم و اللقب	الدرجة العلمية :	الصفة
السيد بشور مراد	أستاذ مساعد أ	رئيسا
السيدة لونيسي صافية	أستاذة مساعدة أ	ممتحنة
السيد هويشر عبد الرحمن	أستاذ تعليم عالي	مقرا
السيد عرارم أحمد	طالب دكتوراه	مساعد مؤطر

الدفعة: جوان – 2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ وَ لَا تَحْسِبَنَّ اللَّهُ غَافِلًا عَمَّا يَعْمَلُ الظَّالِمُونَ ﴾

﴿ إِنَّمَا يُؤَخِّرُهُمْ لِيَوْمٍ تَشْخَصُ فِيهِ الْأَبْصَارُ ﴾

﴿ مُهْطِعِينَ مُقْنِعِي رُؤُوسِهِمْ لَا يَرْتَدُّ إِلَيْهِمْ طَرْفُهُمْ

﴿ وَ أَفَعَدَّتَهُمْ هَوَاءً ﴾



Dédicace

Louange à **Dieu** seul,

Je dédie ce modeste travail avec une grande affection et un profond amour :

*À chaque musulman qui lutte, essaie, résiste et trébuche, c'est un peu de ce que j'ai fait pour vous, et je l'ai remis entre vos mains. Qu'**Allah** vous bénisse, me pardonne et me garde, moi, mes parents et tous ceux qui nous ont soutenus, de près ou de loin.*

À vous, mes parents, je dis merci d'avoir fait de moi celui que je suis aujourd'hui. Aucune dédicace ne pourra exprimer mes respects, mes considérations et ma grande admiration pour vous. Puisse ce travail vous témoigne mon affection et mon profond amour. Que Dieu vous protège

*A ma chère grand-mère, **Asmaa**, tu as tout mon amour et ma reconnaissance.*

A mes frères et ma seule sœur. A toutes les personnes de ma grande famille.

*Aux camarades de la première et de l'avant-dernière étape, qui étaient des nuages de pluie durant les années de soudure (**Basma, Rymo, Khadija, Kawthar** et une longue liste).*

*Aux martyrs de la glorieuse guerre du **7 octobre**, aux victimes de l'ennemi sioniste américain, aux enfants et aux hommes, je ne dis pas aux femmes, mais aux artisans de la vie et aux symboles de force et de stabilité.*

*Aux martyrs du massacre de l'hôpital **Maamadani** et de l'hôpital **Al-Shifa**, aux massacres **sanglants de la farine**, au massacre de **Jabalia** et à l'holocauste de **Rafah**.*

À nos maîtres qui accomplissent le devoir du djihad contre les ennemis de Dieu au nom de deux milliards de musulmans.

À ceux qui auraient été à ma place si la guerre ne les avait pas empêchés et si le djihad dans le chemin de Dieu et la défense des lieux saints de la nation islamique ne les en avaient pas détournés.

O Seigneur, je te prie d'accepter mon petit travail et de l'accepter bien, et de me pardonner, par Ta miséricorde, quelle que soit ma négligence ou ma part.





Remerciements

*Au terme de ce travail, on tient à remercier **Allah Dieu**, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.*

*J'ai l'honneur et le plaisir de présenter mon profonde gratitude et mon sincères remerciement à mon encadrant monsieur **HOUICHER Abderrahmane**, professeur à l'université Ammar Tèlidji Laghouat, pour leur gentillesse et la confiance qu'il nous a témoigné en acceptant d'encadrer ce travail et pour son aide précieux et ses conseils. Je tiens à exprimer mon grand respect a toi professeur.*

*J'aimerais également remercier Monsieur le Doctorant **ARAREM Ahmed**, pour m'encadrer et de me guider à tout moment, Je le remercie pour sa gentillesse, ses conseils précieux et surtout pour sa disponibilité durant la période de la pratique au niveau de laboratoire.*

*Je veux remercier monsieur le président du jury **BECHEUR Mourad**, maitre assistant A a l'université de Laghouat et madame l'examinatrice **LOUNICI Safia**, maitre assistante A a l'université de Laghouat pour leur acceptation de présider et d'examiner mon modeste travail.*

*Nos sentiment les plus profonds et remerciements infinis à tous mes enseignants pour leurs patiences et servitudes surtout de département d'**Agronomies** et de **biologie**. Et tous les ingénieurs de laboratoire de **S.N.V** et **l'équipes de la bibliothèque** de l'université Ammar Tèlidji.*

*Je remercie également mon cher camarade **Reem Behlouli** pour son sens de l'humour et sa gentillesse, et je suis extrêmement reconnaissant de l'avoir avec moi à tous les moments.*

Enfinement, je remercie toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.



Thème : Etude de la microflore levurienne de quelques aliments traditionnels.

Etudiante : Bouguerra Asmaa

Résumé :

Le présent travail a pour objectif principal d'identifier des levures isolées de divers aliments traditionnels tels que le levain à base de blé tendre, le poivron mariné, le Lben et les produits secs (figues et fèves), afin d'étudier leurs propriétés probiotiques. L'identification morphologique a permis d'isoler et de purifier 25 isolats, appartenant aux genres *Arxiozyma* spp., *Hanseniaspora* spp., *Citeromyces* spp., *Saccharomyces* spp. et *Chionosphaera* spp. De plus, les résultats de la fermentation des sources carbonées ont montré que tous les isolats présentent la capacité de fermenter le glucose, par contre ils sont incapables de fermenter l'arabinose, l'xylose et le lactose, à l'exception des isolats L5 et L17 qui ne peuvent pas fermenter ces derniers. La mise en évidence de l'activité hémolytique des levures isolées a montré l'absence d'hémolyse (γ hémolytique) dans tous les isolats testés. Ainsi, la majorité des isolats, à l'exception d'isolat T22, ont indiqué la présence d'enzyme protéolytique (Protéase). Les isolats présentent des différents niveaux d'activité lipolytique ainsi que l'absence de production de la gélatinase, à l'exception de 6 isolats (T18, P6, F22, F26, L5 et T23). Ce travail est inscrit dans le cadre d'une recherche préliminaire visant à chercher des levures présentes dans certains aliments traditionnels afin de sélectionner des isolats purs et probiotiques pour pouvoir être utilisés en industrie agroalimentaire.

Mots clés : Levure, identification morphologique, hémolyse, protéolyse, activité lipolytique, gélatinase, aliment traditionnel.

Full name: Bouguerra Asmaa

Theme: Study of the yeast microflora of some traditional foods.

Abstract:

The main objective of this work is to identify yeasts isolated from various traditional foods such as sourdough made from wheat, marinated pepper, Lben and dried fruits (figs and beans), in order to study their probiotic properties. Morphological identification has resulted in the isolation and purification of 25 isolates belonging to the genus *Arxiozyma* spp., *Hanseniaspora* spp., *Citeromyces* spp., *Saccharomyces* spp. and *Chionosphaera* spp. Moreover, the results of the fermentation of carbonated sources have shown that all isolates have the ability to ferment glucose, but they are incapable of fermenting arabinose, xylose, and lactose, except for the isolates L5 and L17 which cannot ferment the latter. The hemolytic activity of isolated yeasts showed the absence of hemolysis (γ haemolytic) in all the isolates tested. The majority of the isolates, with the exception of T22 isolate, indicated the presence of proteolytic enzyme (Protease). The yeast isolates have different levels of lipolytic activity as well as the absence of gelatinase production, except for 6 isolates (T18, P6, F22, F26, L5 and T23). This work is part of a preliminary research aimed to searching yeasts in certain traditional foods in order to select pure and probiotic isolates for use in the agri-food industry.

Keywords: yeast, morphological identification, hemolysis, proteolyze, lipolytic activity, gelatinase, traditional food.

الموضوع : دراسة الخمائر الدقيقة في بعض الأطعمة التقليدية.

الاسم و اللقب : أسماء بوقرة

الملخص :

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الخمائر المعزولة من الأطعمة التقليدية كالعجين المخمر تقليديا من دقيق القمح اللين، الفلفل المخلل، اللبن و الفواكه المجففة مثل التين و الفول، و ذلك من اجل دراسة خصائصهم الحيوية. سمح لنا التحديد المورفولوجي بعزل و تنقية 25 عزلة تنتمي إلى أجناس : *Arxiozyma spp.*, *Hanseniaspora spp.*, *Citeromyces spp.*, *Saccharomyces spp.* و *Chionosphaera spp.*. أظهرت نتائج تخمير السكر أن العزلات قادرة على تخمير الغلوكوز إلا أنها غير قادرة على تخمير الارابينوز و القزيلوز، إضافة إلى الاكتوز باستثناء العزلتين L17 و L5. أظهر نشاط إنحلال الدم عند الخمائر أن جميع العزلات كانت γ hémolytique (غياب انحلال الدم). كما أن أغلبية العزلات أثبتت نشاط التحلل للبروتين باستثناء العزلة T22 و أظهرت كذلك مستويات متفاوتة من نشاط التحلل الدهني بينما كان هناك غياب في إنتاج الجيلاتيناز باستثناء 06 عزلات : (T23 ,L5 ,F26 ,F22 ,P6 ,T18). هذا العمل عبارة عن دراسة أولية تهدف إلى البحث و التعرف على بعض الخمائر الموجودة في بعض الأطعمة التقليدية من أجل اختيار عزلات بروبيوتيك نقية يمكن استخدامها في الصناعات الغذائية.

الكلمات المفتاحية : خمائر، التحديد المورفولوجي، انحلال الدم، التحلل البروتيني، نشاط التحلل الدهني، جيلاتيناز، الأطعمة التقليدية.

Liste des figures :

Figure 01 : Figes séchées sur un toit recouvert d'un grillage (Benkerroum 2013).....	5
Figure 02 : Représentation schématique d'une cellule de levure (Revy 2005).....	7
Figure 03 : Multiplication végétative asexuée : le bourgeonnement (REVY, 2005).....	8
Figure 04 : Reproduction sexuée d'une levure (Revy 2005).....	9
Figure 05 : Utilisations des levures en biotechnologie (Walker 2009).....	12
Figure 06 : Moulin traditionnel.....	15
Figure 07 : Farine de blé tendre.....	15
Figure 08 : Lben.....	16
Figure 09 : Poivres fraîches.....	17
Figure 10 : Poivres marinés.....	17
Figure 11 : Figes.....	18
Figure 12 : Fèves.....	18
Figure 13 : Résumé du protocole expérimental de la revivification des levures.....	19
Figure 14 : Logigramme du protocole expérimental de la présente étude.....	22
Figure 15 : Résultats de revivification des levures de différents échantillons.....	23
Figure 16 : Aspect macroscopique des levures isolées à partir de Lben (L14) et le fèves (E14).....	24
Figure 17 : Les dépôts de levures en milieu YPD liquide.....	25
Figure 18 : Résultats d'hémolyse (γ hémolytique) (photo originale 2024).....	30
Figure 19 : Résultats de la dégradation de gélatine (photo originale 2024).....	31
Figure 20 : Résultats d'activité protéolytique (photo originale 2024).....	33
Figure 21 : Les résultats de l'activité lipolytique des levures (photo originale 2024).....	34

Listes des tableaux :

Tableau 01 : Informations sur l'échantillonnage des aliments traditionnels.....	14
Tableau 02 : Identification microscopique à l'état frais des isolats sous l'objectif 40.....	26
Tableau 03 : Résultats de fermentation des sources carbonés.....	29
Tableau 04 : Les résultats de l'activité hémolytique et la production de gélatinase.....	32
Tableau 05 : Les résultats de l'activité protéolytique et l'activité lipolytique des levures....	35

Liste des abréviations :

LAB : Lactic acid bacteria

YPD: Yeast Extract–Peptone–Dextrose

Table des matières

Dédicaces

Remerciements

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Partie bibliographique

I.	Chapitre 1 : Historique des aliments traditionnels	- 1 -
I.1	Les aliments traditionnels:	- 1 -
I.2	La fermentation :	- 1 -
I.3	Les aliments fermentés :	- 1 -
I.3.1	Le levain :.....	- 1 -
I.3.2	Lben :.....	- 2 -
I.3.3	Le poivre mariné :	- 3 -
I.3.4	Les fruits secs :.....	- 4 -
I.3.4.1	La figue :	- 4 -
I.3.4.2	La fève :.....	- 5 -
II.	Chapitre 2: Les levures	- 6 -
II.1	Généralités sur les levures :	- 6 -
II.2	Mode de reproduction des levures :	- 7 -
II.2.1	Reproduction asexuée :.....	- 7 -
II.2.2	Reproduction sexuée:.....	- 8 -
II.3	Taxonomie :	- 9 -
II.4	Habitats :	- 10 -
II.5	Aptitude technologique :	- 11 -
II.6	Utilisation des levures :	- 11 -
II.7	Les probiotiques :	- 13 -

Partie expérimentale

I	Matériel et méthodes :	- 14 -
I.1	Objectif :	- 14 -
I.2	Echantillonnage :	- 14 -

I.3	Préparation des échantillons :	- 15 -
I.3.1	Blé tendre :.....	- 15 -
I.3.2	Lben :	- 16 -
I.3.3	Légume mariné (Poivron) :.....	- 17 -
I.3.4	Produits secs (figes et fèves) :.....	- 18 -
I.4	Isolement des levures :	- 19 -
I.5	Purification et conservation des isolats :	- 19 -
I.6	Identification morphologique :	- 20 -
I.6.1	Macroscopique :.....	- 20 -
I.6.2	Microscopique :	- 20 -
I.7	Fermentation des sucres :	- 20 -
I.8	Activité hémolytique :	- 20 -
I.9	Activité protéolytique :	- 21 -
I.10	Activité lipolytique :	- 21 -
I.11	Production de gélatinase :	- 21 -
II	Résultats et discussion :	- 23 -
II.1	Revivification des levures :	- 23 -
II.2	Isolement et purification des levures :	- 23 -
II.3	Identification morphologique :	- 24 -
II.3.1	Macroscopique :.....	- 24 -
II.3.2	Microscopique :	- 25 -
II.4	Fermentation des sucres :	- 27 -
II.5	Activité hémolytique :	- 30 -
II.6	Production de gélatinase :	- 31 -
II.7	Activité protéolytique :	- 33 -
II.8	Activité lipolytique :	- 34 -

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Introduction générale

Introduction générale

De nombreux aliments traditionnels d'origine animale ou végétale sont encore largement consommés dans les pays d'Afrique du Nord, et ces aliments jouent un rôle important dans l'économie et la sécurité alimentaire de ces pays (**Benkerroum, 2013**). Parmi eux, les aliments et les boissons fermentés qui sont le résultat de l'activité métabolique de certains micro-organismes tels que les bactéries, les levures et les moisissures. Les levures sont associées aux fermentations traditionnelles et sont présentes dans un grand nombre d'aliments et de boissons fermentés, préparés à partir de matières premières d'origine végétale et animale. Dans les aliments traditionnels, la levure a une influence considérable sur le goût, l'arôme, la texture et la valeur nutritionnelle des produits fermentés (**Bhalla & Savitri, 2017**).

Les levures sont des champignons bien connus qui sont utilisés par l'homme depuis l'Antiquité pour répondre aux besoins alimentaires des populations (**Tullio, 2022**). Les levures sont des organismes eucaryotes unicellulaires appartenant principalement aux Ascomycètes (**Chandimala et al., 2022**). Ces levures ascomycètes, sont généralement caractérisées par le bourgeonnement ou la fission comme principal moyen de reproduction végétative (**Kurtzman & Fell, 1998**). En effet, la levure est utilisée dans divers applications industrielles notamment : l'industrie alimentaire, l'industrie laitière (pour fabriquer du fromage par exemple) et l'industrie biotechnologique pour produire de bioéthanol (**Tullio, 2022**).

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude était d'isoler et identifier des levures pures à partir d'aliments traditionnels, ainsi d'évaluer leurs propriétés probiotiques. Pour cela, il est nécessaire d'étudier leur aptitude à fermenter quelques sucres (Fructose, maltose, lactose, saccharose, galactose, glucose, arabinose et xylose), de tester leurs critères de sécurité tels que l'activité hémolytique et production de gélatinase ainsi que leurs critères fonctionnels comme l'activité protéolytique et lipolytiques.

Donc, le présent travail est divisé en 2 parties :

La première partie de cette étude propose une synthèse bibliographique divisée en deux chapitres. Le premier chapitre présente des généralités sur les aliments traditionnels, tandis que le deuxième aborde la microflore levurienne et leurs domaines d'application.

Dans la deuxième partie, nous aborderons le matériel et les protocoles utilisés dans la réalisation de cette étude, ainsi que les différents résultats obtenus et leur discussion. Enfin,

nous terminerons ce travail par une conclusion générale avec la proposition de quelques perspectives possibles pour poursuivre cette recherche.

Partie
bibliographique

Chapitre I : Historique des aliments traditionnels

I.1 Les aliments traditionnels :

Les systèmes alimentaires traditionnels, dérivés de sources locales ou autochtones, ont été suivis par les humains dans le monde entier. Ces systèmes sont souvent associés à des communautés spécifiques et sont considérés comme un reflet de leur culture et de leur patrimoine (Sreedharan *et al.*, 2023). L'utilisation d'une culture alimentaire et sa préparation dépendent de divers facteurs, tels que les connaissances traditionnelles et les habitudes alimentaires communautaires. Différentes communautés peuvent utiliser différentes parties de plantes, suivre différentes méthodes de préparation et produire des produits qui peuvent être complètement différents en apparence et en goût. Les aliments traditionnels sont généralement préparés à partir de fruits, légumes, viande, lait, œufs, noix, légumineuses et céréales, sans ingrédients chimiques ou artificiels (Sreedharan *et al.*, 2023).

I.2 La fermentation :

La fermentation est un processus naturel utilisé depuis des milliers d'années par les humains pour produire une variété d'aliments et de boissons. Le processus implique l'utilisation de micro-organismes, notamment des levures et des bactéries, pour convertir les sucres et les autres glucides en acides organiques, en alcools et en gaz. Ce processus a de nombreux avantages pour la santé en raison de la production de composés bioactifs et de l'amélioration de la qualité nutritionnelle des produits fermentés (Maicas, 2023).

Dans la fermentation naturelle ou spontanée, les micro-organismes responsables de la fermentation sont présents dans l'environnement, et la fermentation se produit sans aucune intervention. Cette méthode est couramment utilisée dans la production de pain au levain, et d'autres aliments fermentés (Maicas, 2023).

I.3 Les aliments fermentés :

I.3.1 Le levain :

Les céréales complètes sont des sources de fibres alimentaires mais également de vitamines, des minéraux et de composés antioxydants. Leur consommation est associée à des bénéfices pour la santé (Champ, 2018).

Le levain consiste en une combinaison de farine de blé et/ou de seigle et d'eau, éventuellement ajoutée de sel, qui est fermentée par des bactéries lactiques et des levures spontanées (issus de la farine et de l'environnement) qui influencent sa capacité acidifiante et levante (**Corsetti, 2012**). Le procédé au levain est l'un des procédés biotechnologiques les plus anciens utilisés dans la fermentation des produits céréaliers. Les bactéries et les levures travaillent ensemble dans le levain pour former la flore naturelle. La technologie du levain est utilisée dans différents domaines, de la production de pain à la production de gâteaux (**Kezer, 2022**).

I.3.2 Lben :

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), le lait fermenté est défini comme un « produit obtenu par la fermentation du lait par l'action de micro-organismes appropriés, qui doivent être viables, actifs et abondants dans le produit jusqu'à la date de durabilité minimale et entraînant une réduction du pH» (**Galli et al., 2022**).

Dans les pays méditerranéens, les produits laitiers fermentés traditionnellement revêtent une grande importance dans l'alimentation quotidienne en raison de leurs qualités rafraîchissantes, nutritionnelles et sensorielles. Le Lben est un lait fermenté acide et rafraîchissant, consommé en boisson d'accompagnement de certains aliments ou en dessert (**Mkadem et al., 2022**). Le processus de fabrication traditionnel du Lben implique une fermentation du lait cru de vache ou occasionnellement du lait de chèvre impliquant un levain et/ou une microflore naturelle à température ambiante pendant 24 à 72 heures jusqu'à ce qu'un coagulum faible se forme. Le coagulum obtenu est baratté pour séparer le Lben du beurre formé. Le Lben traditionnel se caractérise par une teneur élevée en protéines, en lactose et en cendres, mais il est moins gras et acide que le Lben industriel (**Mkadem et al., 2022**).

La concentration microbienne du Lben est principalement constituée de bactéries qui témoignent d'un non-respect des bonnes pratiques d'hygiène (FMAT : la flore mésophile aérobique totale), de bactéries qui confirment une contamination d'origine fécale (coliformes), d'une flore fongique (levures et moisissures) et de bactéries lactiques (**El Marnissi et al., 2013**).

I.3.3 Le poivre mariné :

Ces dernières années, le nombre de consommateurs conscients qui se soucient d'accéder à une alimentation sûre a augmenté, ce qui a suscité un intérêt accru pour les produits de pickles qui ne contiennent pas de conservateurs et qui sont obtenus par fermentation naturelle. Le poivre joue un rôle essentiel dans l'alimentation, en plus d'être consommé frais, il est également utilisé pour préparer de nombreux plats telle que les sauces piquantes (**Nalbant & Ersoy Omeroglu, 2024**). La fermentation des poivrons peut améliorer leurs propriétés sensorielles, leur sécurité et leur valeur nutritionnelle (**Aryee et al., 2022**). Les taux de bactéries lactiques (LAB) augmentent de manière significative pendant la fermentation, ce qui contribue au processus de conservation (**Kádár et al., 2022**). Dans les pays d'Afrique du Nord, la méthode traditionnelle utilisée consiste à plaçant l'aliment dans un récipient en couches intercalées avec du sel. Ces aliments salés sont conservés à une température ambiante jusqu'à l'obtention d'une saveur agréable, généralement après 30 à 60 jours. Dans les produits végétaux fermentés marinés, la compétition microbienne, l'acidité et la réduction de l'activité de l'eau (teneur élevée en sel) sont les principaux paramètres qui inhibent les micro-organismes indésirables pour préserver la santé des consommateurs. Cependant, la concentration habituelle en sel utilisée dans la saumure n'est pas suffisamment élevée pour réduire l'activité de l'eau à des niveaux qui inhiberaient fortement la croissance de micro-organismes indésirables. De plus, lorsque plus de 8 % (p/v) de sel est utilisé dans la saumure, la croissance des LAB est également considérablement retardée et le pH reste relativement élevé à la fin de la fermentation (environ 4,5), des conditions qui permettent aux agents pathogènes tolérants au sel et aux micro-organismes d'altération de se développer au cours des premières étapes de la fermentation (**Benkerroum, 2013**).

I.3.4 Les fruits secs :

Les fruits et légumes sont contaminés par une grande variété de micro-organismes, y compris les bactéries, les champignons, les virus et les protozoaires d'origine différente. Ces contaminations peuvent se produire sur le terrain (sol, engrais, compost, boues d'eaux usées, eaux d'irrigation, équipements, travailleurs, animaux, etc.), pendant les opérations après la récolte (conditionnement, emballage et distribution), ou dans le ménage avant la consommation (**Benkerroum, 2013**). Néanmoins, des micro-organismes bénéfiques épiphytiques sont également présents dans les fruits et les légumes, parmi eux les bactéries lactiques (LAB) et dans une moindre mesure les levures, qui sont responsables de la fermentation spontanée d'un certain nombre de produits végétaux (**Benkerroum, 2013**).

I.3.4.1 La figue :

Les figues ce sont des fruits produits pendant quelques semaines durant les saisons d'été ou d'automne et doivent être consommés le plus rapidement possible après la récolte, qui doivent être consommées le jour même. Les techniques traditionnelles, notamment le séchage au soleil, sont utilisées depuis longtemps dans les pays d'Afrique du Nord pour conserver certains fruits très périssables comme les figues. A cette période de l'année (les saisons d'été ou d'automne), les conditions climatiques sont optimales pour l'opération de séchage; la température moyenne est de 25 à 30 °C et l'air est généralement sec (**Benkerroum, 2013**). Il a en effet été rapporté que de telles conditions donnaient des fruits séchés au soleil de la meilleure qualité. À pleine maturité, les fruits sont répartis uniformément sur le sol d'un espace ouvert ou sur le toit d'un chalet recouvert d'un plastique ou d'un tapis de paille. Un grand feuillage comme celui des feuilles de figuier, de vigne ou de caroube peut être utilisé. Récemment, un treillis métallique a été préféré comme tapis pour le séchage des figues en raison de sa commodité (Figure : 01). Lorsqu'ils sont étalés sur le sol/toit ou sur tout type de surface, les fruits doivent être espacés d'environ 2 cm les uns des autres pour permettre une bonne aération et évaporation de l'eau (Figure 01). Le séchage des fruits entraîne une forte diminution de l'activité en eau, restreignant ainsi la croissance des micro-organismes corrompus et pathogènes (**Benkerroum, 2013**).



Figure 01 : Figs séchées sur un toit recouvert d'un grillage (**Benkerroum, 2013**)

I.3.4.2 La fève :

La fève (*Vicia faba* L.) est l'une de légumineuses sec les plus cultivées dans le monde depuis l'Antiquité. Elle entre dans la préparation d'un grand nombre de plats traditionnels en ce qui concerne la consommation humaine, et elle est également utilisée pour l'alimentation des animaux. Cette légumineuse constitue une source de protéines importante pour l'alimentation de l'Homme et celles des animaux (**Yahia et al., 2017**). La valeur nutritionnelle de la féverole est traditionnellement attribuée à sa teneur élevée en protéines, est également une bonne source de sucres, de minéraux et de vitamines (**Larralde & Martinez, 1991**).

Les levures

Chapitre II : Les levures

II.1 Généralités sur les levures :

Le mot anglais "yeast" et ses équivalents dans de nombreuses autres langues sont basés sur des mots signifiant mousse et lever, de ce fait, les levures sont souvent assimilées à des champignons ascomycètes fermentaires tels que *Saccharomyces cerevisiae* (**Kurtzman & Fell, 1998**). Les levures sont l'un des micro-organismes les plus importants non seulement en tant que modèles de cellules eucaryotes, mais aussi en raison de leurs capacités métaboliques, avec plusieurs applications depuis l'Antiquité. Le potentiel biotechnologique des levures a rapidement été reconnu et exploité dans les domaines de l'alimentation, de l'agriculture, de l'industrie, de la pharmaceutique (**Villena et al., 2023**).

Les levures sont des champignons caractérisés par leur mode de croissance végétative basé principalement sur le bourgeonnement ou la fission. Cette distinction est particulièrement évidente chez les levures ascomycètes (**Kurtzman & Fell, 1998**). Les cellules de ces champignons sont généralement ovoïdes et ont une taille qui varie de quelques micromètres jusqu'à 25 à 30 μm . Certaines levures peuvent se présenter sous forme d'associations cellulaires (pseudomycélium) ou sous forme filamenteuse (mycélium). Le cytoplasme de ces cellules eucaryotes possède les mêmes types d'organites (non photosynthétiques) que les végétaux : mitochondries, appareils de Golgi, réticulum endoplasmique..., le noyau, délimité par une membrane épaisse, contient un nombre variable de chromosomes en fonction de l'espèce. Enfin, la cellule est protégée par une paroi essentiellement polysaccharidique (Figure : 02) (**Revy, 2005**).

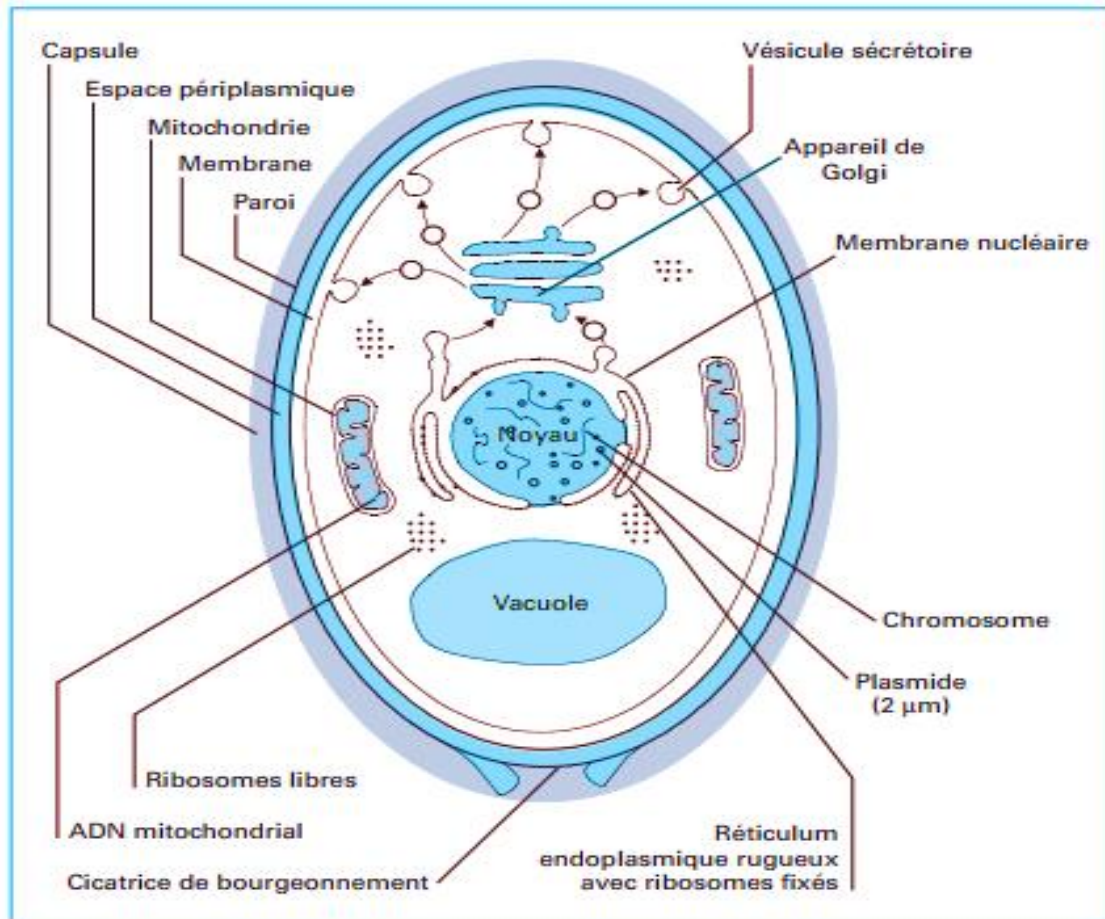


Figure 02 : Représentation schématique d'une cellule de levure (Revy, 2005)

II.2 Mode de reproduction des levures :

Les levures possèdent deux modes de reproduction différents selon les conditions de vie du milieu (Revy, 2005).

II.2.1 Reproduction asexuée :

Dans un milieu favorable (avec une quantité d'air suffisante et non limitée en éléments nutritifs), les levures vont bourgeonner : les constituants vitaux sont doublés pour former un bourgeon qui augmentera régulièrement de volume. Le noyau se dédouble en libérant un autre noyau qui migrera dans l'excroissance. Une fois la maturité atteinte par le bourgeon, il sera libéré, donnant naissance à une nouvelle levure identique à la cellule d'origine (Figure : 03).

La durée du mécanisme dure de 90 minutes à quelques heures (Revy, 2005).

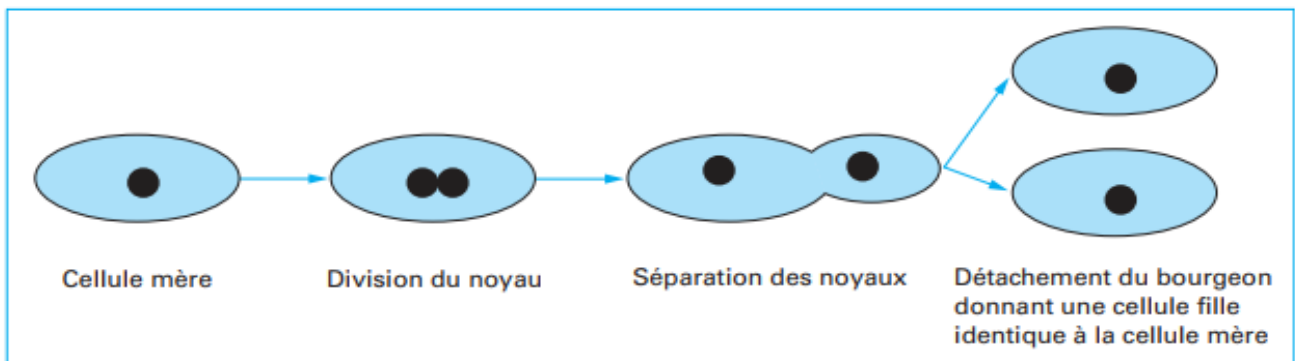


Figure 03 : Multiplication végétative asexuée : le bourgeonnement (Revy, 2005)

II.2.2 Reproduction sexuée:

Dans un milieu défavorable, la cellule de levure va sporuler, c'est-à-dire produire quatre cellules réunies dans un même sac qui resteront en vie ralentie. Ces spores ne possèdent qu'un chromosome de chacune des paires, suite à deux divisions dont l'une, réductrice, sépare les deux lots de chromosomes (Figure : 04).

Si les conditions de milieu redeviennent favorables, l'asque libère quatre spores qui peuvent croître et commencer un nouveau cycle de multiplication végétative sous forme haploïde. (Revy, 2005).

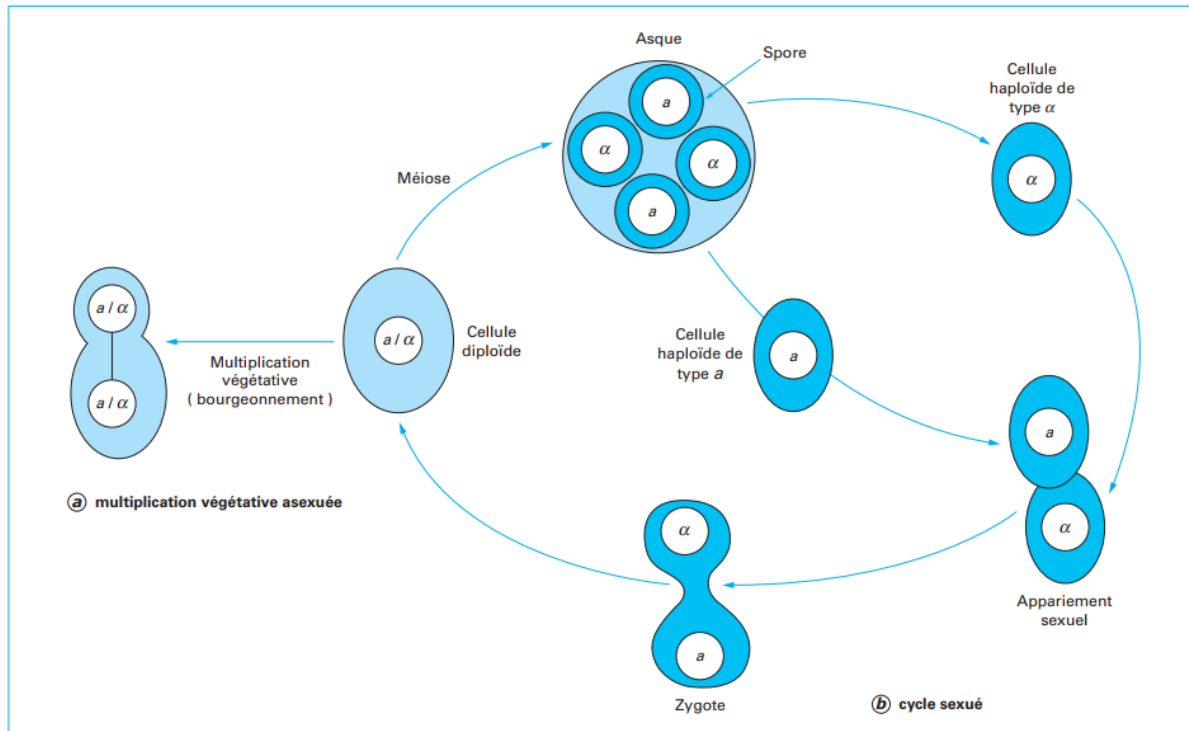


Figure 04 : Reproduction sexuée d'une levure (REVY, 2005)

II.3 Taxonomie :

Le terme « levure » n'a aucune signification taxonomique, il fait référence à un groupe de micro-organismes morphologiquement unicellulaires de forme ovale et d'une taille d'environ 10 microns, pour la plupart incolores ou de couleur blanche (Tullio, 2022). Les techniques utilisées en taxonomie des levures étaient principalement basées sur des traits phénotypiques et des caractéristiques physiologiques. L'identification et la description de nouvelles espèces dépendaient de la comparaison des caractéristiques morphologiques ainsi que des profils biochimiques et physiologiques avec les espèces décrites précédemment. La fermentation et/ou l'assimilation de plusieurs sucres, acides organiques, alcools, alcools de sucre, amidon et différentes sources d'azote, ainsi que les différences de croissance, ont été utilisées à la fois pour l'identification et la description formelle de nouvelles espèces (Hernández-García *et al.*, 2022).

L'observation des caractéristiques morphologiques des levures, telles que la taille, la forme, la présence de bourgeonnement, la formation de colonies, peut être utilisée pour l'identification préliminaire des espèces de levures (Kurtzman *et al.*, 2011). Les levures ont

des formes variées, elle est sphérique, ovoïde, globuleuse, cylindrique, ellipsoïde, allongée, apiculée, ogivale, triangulaire ou forme de bouteille (**Walker 2009 ; Kutzman et al., 2011**). Les cellules de levure possèdent une structure unique caractérisée par une paroi cellulaire épaisse et mécaniquement résistante, une membrane plasmique lipidique et un espace périplasmique entre les deux couches. (**Paramera et al., 2023**).

Selon **Kreger Van (1984)**, la classification des levures est très variée, incluant des ascomycètes et des basidiomycètes, tandis qu'un troisième groupe, les levures imparfaites, possèdent à la fois des affinités ascomycètes et basidiomycètes (deutéromycètes).

- ▽ **Les ascomycètes** : sont des cellules qui se reproduisent par un processus sexué dans un asque résultant de la transformation d'une cellule après méiose.
- ▽ **Les basidiomycètes** : reproduisent sexuellement avec formation de basidiospores sur une baside.
- ▽ **Les deutéromycètes** : sont une catégorie de levures qui ne possèdent pas de mode de reproduction sexué connu et ne se multiplient que par reproduction végétative (**Kreger-van Rij, 1984**)

II.4 Habitats :

La découverte de nouveaux habitats de levures peut être fortuite dans certains cas et guidée par des connaissances préalables dans d'autres. Quoi qu'il en soit, une fois que les populations de levures ont été localisées pour l'étude, un effort devrait être fait pour identifier leur habitat réel. Une recherche du habitat primaire, bien que difficile à réaliser, est souhaitable (**Kurtzman & Fell, 1998**)

Les levures ne sont pas aussi largement répandues que les bactéries dans l'environnement naturel, mais elles peuvent tout de même être trouvées dans le sol, l'eau, les plantes, les animaux et les insectes. Elles préfèrent généralement les tissus végétaux tels que les feuilles, les fleurs et les fruits, bien que certaines espèces entretiennent des relations commensales ou parasitaires avec les animaux. On peut isoler plusieurs espèces de levures dans des environnements spécialisés ou extrêmes, comme ceux présentant un faible potentiel hydrique (avec des concentrations élevées en sucre ou en sel), des températures basses (par exemple, certaines levures psychrophiles trouvées dans les régions polaires) et une faible

disponibilité en oxygène (par exemple, dans les tractus intestinaux des animaux) (Walker, 2009).

II.5 Aptitude technologique :

Les levures suscitent un intérêt croissant en raison de leur potentiel, de leur facilité de gestion, de leur sécurité, de leur facilité de culture et de reproduction, cela les rend sujettes à des recherches approfondies pour évaluer leurs nombreuses applications naturelles et durables, offrant ainsi de nombreux avantages aux êtres humains. Ils représentent un groupe d'organismes très hétérogène au sein d'une même espèce, y compris du point de vue génétique. (Tullio, 2022).

Les critères de sélection des levures à des fins technologiques, notamment en tant que probiotiques, comportent différents aspects. Il s'agit notamment de considérations relatives à la sécurité, à la fonctionnalité et à la technologie (Galli *et al.*, 2022). Les levures doivent présenter une résistance aux sels biliaires et aux conditions acides, ainsi qu'une tolérance gastro-intestinale *in vitro* pour la sélection des probiotiques (Tezel *et al.*, 2021). De plus, les levures probiotiques devraient avoir des effets bénéfiques sur la santé, tels que la prévention des infections gastro-intestinales et la production d'antioxydants (Sadeghi *et al.*, 2022). Le processus de sélection doit impliquer une caractérisation minutieuse de la souche à l'aide de techniques phénotypiques et génétiques, suivie de tests *in vitro* pour évaluer la fonctionnalité et la sécurité, aboutissant finalement à l'identification des candidats probiotiques les plus appropriés (Fernández-Pacheco, Pintado, *et al.*, 2021).

II.6 Utilisation des levures :

Les levures pourraient constituer une alternative valable pour évaluer un nombre croissant de substances naturelles et applications durables.

Importance industrielle des levures : Les levures ont été exploitées depuis des milliers d'années dans les processus de fermentation traditionnels pour produire de la bière, du vin et du pain. En plus de leurs rôles traditionnels dans les industries alimentaires et de fermentation, les levures jouent un rôle de plus en plus important dans l'environnement et dans le secteur de la santé de la biotechnologie (Walker, 2009).

Les levures d'importance environnementale et agricole : Certaines espèces de levures sont connues pour être des agents pathogènes végétaux. Au contraire, plusieurs levures ont été

montrées bénéfiques pour les plantes dans la prévention des maladies fongiques (Walker, 2009).

Signification médicale de la levure : La plupart des levures présentent des avantages pour la santé humaine. De plus, elles sont extrêmement utiles comme modèles expérimentaux précieux dans la recherche biomédicale, notamment dans les domaines de la pharmacologie, de la toxicologie, de la virologie et de la génétique humaine (Walker, 2009). Une autre application des levures réside dans le développement de vaccins modernes et sûrs utilisant la technologie de l'ADN recombinant. Les techniques traditionnelles peuvent avoir des limites telles que l'inversion de la souche vaccinale vivante atténuée en une souche sauvage virulente, ce qui est rare mais toujours possible (Tullio, 2022).

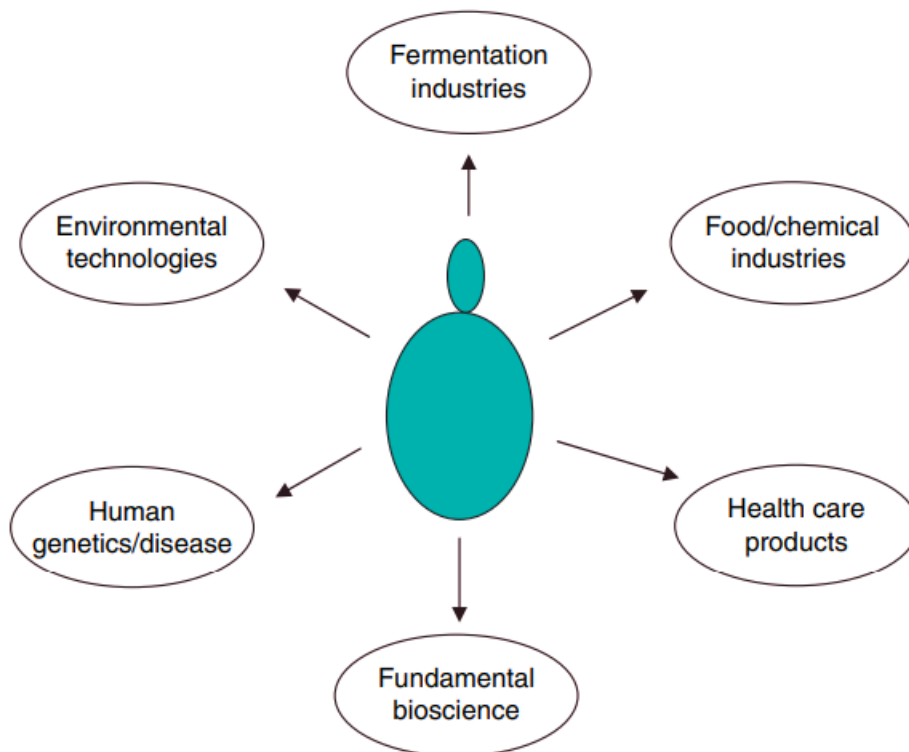


Figure 05 : Utilisations des levures en biotechnologie (Walker, 2009).

II.7 Les probiotiques :

Selon l'Organisation mondiale de la santé, les probiotiques sont définis comme des micro-organismes vivants à l'intérieur des hôtes qui exercent des avantages pour la santé lorsqu'ils sont ingérés en quantités suffisantes. Ils jouent un rôle important dans la santé de l'hôte parce qu'ils ont des fonctions nutritionnelles, immunologiques et physiologiques. Les probiotiques jouent également un rôle dans la régulation de l'immunité muqueuse et systémique. De nos jours, la recherche et les applications des probiotiques augmentent à l'échelle mondiale. Les probiotiques ont montré de nombreux avantages pour la santé. Afin d'exercer leurs résultats positifs, ils doivent rester viables dans les conditions acides du tractus gastro-intestinal. Ces micro-organismes sont connus pour être utiles non seulement pour leur capacité à régler l'équilibre intestinal de l'hôte, mais aussi pour leurs effets protecteurs contre les agents pathogènes gastro-intestinaux, en utilisant diverses techniques mécaniques antimicrobiennes telles que la production d'acide organique. L'ingestion de probiotiques soulage l'état pathologique du stress oxydatif (**M'hamed *et al.*, 2022**).

Les bases théoriques de la sélection des probiotiques peuvent être répertoriées comme l'origine humaine, la stabilité dans les sels acides et biliaires, l'adhésion aux cellules intestinales humaines, la production de substances antimicrobiennes, la sécurité alimentaire et l'utilisation clinique, ainsi que les effets sur la santé cliniquement validés et documentés (**Tezel *et al.*, 2021**).

*Partie
expérimentale*

I. Matériel et méthodes :

I.1 Objectif :

L'objectif principal de cette étude est d'identifier phénotypiquement des levures isolées à partir d'aliments traditionnels et d'évaluer leurs propriétés probiotiques grâce à l'analyse de différentes activités, notamment la fermentation des sucres, l'activité hémolytique, protéolytique, lipolytique, ainsi que la production de gélatinase. Ceci vise à définir les possibilités de futures applications de ces isolats de levures dans l'industrie alimentaire.

I.2 Echantillonnage :

Dans cette étude, nous nous sommes appuyés sur la diversité des produits alimentaires traditionnels provenant de différentes régions de Laghouat ainsi que de la wilaya de Tiaret. Le détail de l'échantillonnage est présenté dans le tableau 01 ci-dessous.

Tableau 01 : Informations sur l'échantillonnage des aliments traditionnels

Echantillon		Région	Lieu	Date	Quantité	Stockage/T° ambiante
Céréale	Blé tendre	Wilaya de Tiaret	Exploitation privée	04/12/2023	1 kg	Sac propre
Lait fermenté	Lben	Laghouat Bordj Senouci	Préparation traditionnelle	11/02/2024	1 L	Bouteille en verre
Légume mariné	Poivron	Laghouat El Assafia	Préparation traditionnelle	01/12/2023	1 Kg	Bouteille en verre
Produits secs	Figues séchés	Laghouat El Assafia	Préparation traditionnelle	12/11/2023	1 kg à l'état frais	Bouteille en verre
	Fèves séchés	Laghouat El Assafia	Préparation traditionnelle	Janvier	1 kg à l'état frais	Bouteille en verre

I.3 Préparation des échantillons :

I.3.1 Blé tendre :

L'échantillon de blé tendre est moulu manuellement d'une manière traditionnelle à la maison (Figures : 06) jusqu'à l'obtention d'une farine, puis conditionnée dans des sacs stérile (Figure : 07). Puis passer par un enrichissement pour la revivification de la flore levurienne de la farine, (La préparation de levain traditionnelle), qui consiste à mélanger la farine avec de l'eau physiologique stérile (0.85%) chauffé à 45°C dans un flacon en verre stérile (1/1, m/v), en incubant à 37 °C pendant 24 heures et en répétant cette procédure 3 fois (Corsetti, 2012).



Figure 06: Moulin traditionnel



Figure 07: Farine de blé tendre

I.3.2 Lben :

La fermentation du lait cru nécessite de le laisser reposer à la température ambiante pendant 1 à 2 jours, permettant une fermentation spontanée pour produire du Lben (Figure : 08) (Mkadem *et al.*, 2022).



Figure 08 : Lben

I.3.3 Légume mariné (Poivron) :

La préparation des poivrons marinés commence par le lavage de poivrons, puis ils sont légèrement piqués à l'aide d'une fourchette, avant d'être mélangés avec une solution saline (120 g de sel de table/L). Ensuite, ils sont disposés dans des bouteilles en verre fermées hermétiquement, avec un filet d'huile de table versé au-dessus. Cette préparation est ensuite laissée à reposer pendant 2 à 3 mois dans un endroit sec à la température ambiante (**Benkerroum, 2013**) (Figure : 10). Pour la revivification de la flore levurienne, des petits morceaux de poivrons marinés sont placés dans un flacon stérile, puis une quantité équivalente d'eau glucosée à 5 % est ajoutée, en incubant à 37 °C pendant 24 heures. Ce processus est répété pendant 3 jours (**Erkmen, 2022**).



Figure 09: Poivres fraîches



Figure 10: Poivres marinés

I.3.4 Produits secs (figues et fèves) :

Après avoir récolté et trié les figues et les fèves, nous les plaçons dans un plat et les recouvrons d'un tissu. Ensuite, nous les exposons au soleil jusqu'à ce qu'elles soient complètement séchées (Figure : 11, 12). Pour la revivification de la flore levurienne, on prend de petits morceaux de chaque produit sec et on les dépose dans des flacons stériles contenant d'eau physiologique stérile (0,85 %) à 45°C, puis en incubant les produits à 37 °C pendant 24 heures. Ce processus est répété pendant 3 jours (**Erkmen, 2022**).



Figure 11 : Figues



Figure 12: Fèves

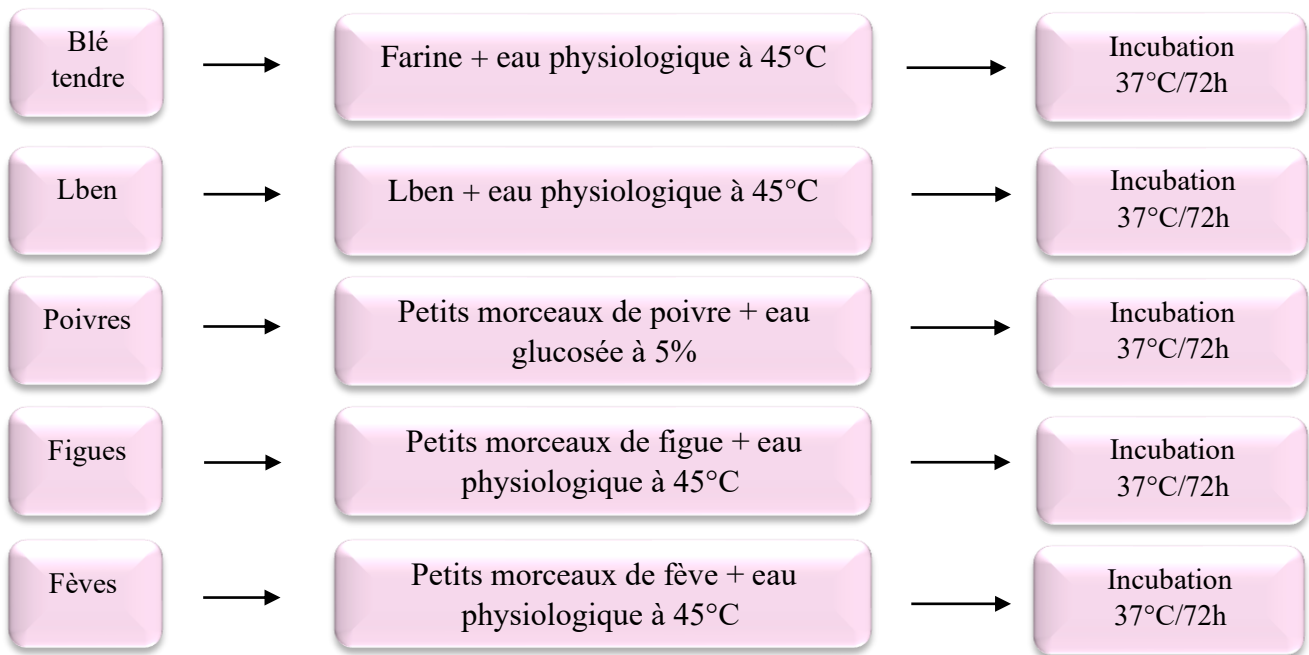


Figure 13 : Résumé du protocole expérimental de la revivification des levures

I.4 Isolement des levures :

L'isolement des levures est réalisé sur milieu sélectif YPD agar (2% peptone, 1% extrait de levure, 2% dextrose, 1.7% agar), additionné de chloramphénicol (0,1 g/l). Une série de dilutions décimales est préparée jusqu'à 10^{-4} . Avant l'ensemencement, les échantillons sont homogénéisés, ensuite, l'inoculation est réalisée en surface en étalant 0.1 ml de chaque dilution sur le milieu YPD agar à l'aide d'un étaleur stérile. Après incubation des boîtes à 35 °C pendant 24 h, les colonies sont ensuite isolées et purifiées (Gherbi *et al.*, 2023).

I.5 Purification et conservation des isolats :

Après l'incubation, les isolats de levures caractéristiques peuvent en effet être purifiés par repiquage sur milieu gélosé YPD avec des stries serrées, suivie d'une incubation à 35°C pendant 24 heures (Chandimala *et al.*, 2022).

Après purification, les isolats de levures caractéristiques sont conservés dans des tubes contenant un milieu de bouillon YPD. Cette méthode de conservation permet de maintenir les isolats jusqu'à un mois maximum à 4°C.

I.6 Identification morphologique :

I.6.1 Macroscopique :

Après une incubation à 35 °C pendant 24 heures, l'examen des colonies sur un milieu gélosé YPD solide peut révéler diverses caractéristiques telles que la forme, la surface, la couleur et la taille des isolats. De plus, l'observation des isolats sur un milieu YPD liquide permet d'évaluer d'autres caractéristiques telles que la présence d'un dépôt et la production de gaz (Giraud, 1998).

I.6.2 Microscopique :

Pour déterminer la forme, le mode de reproduction végétative et l'arrangement des cellules levuriennes, un examen microscopique à l'état frais est réalisé sur des cultures jeunes, utilisant le microscope optique au grossissement 400x (objectif 40). Une seule colonie de levure a été prélevée et homogénéisée avec une goutte d'eau distillée stérile sur une lame en verre puis recouverte par une lamelle pour une observation microscopique (Kurtzman & Fell, 1998).

I.7 Fermentation des sucres :

Afin d'étudier le processus de fermentation des sucres par les levures, une gamme de sucres est testée, notamment le saccharose, le galactose, le lactose, le fructose, le maltose, la xylose et l'arabinose. Des tubes aux cloches de Durham ont été remplis de 15 ml bouillon YP enrichi de 2 % du sucre testé. Les tubes ont été inoculés avec 1 ml de chaque suspension levurienne puis incubés pendant 24 h à 35°C. La présence de gaz dans la cloche de Durham est interprétée comme un résultat positif, signifiant la fermentation métabolique du sucre par l'isolat testé (Negera, 2017).

I.8 Activité hémolytique :

Pour étudier l'activité hémolytique des isolats de levures, la gélose YPD additionnée au sang humain à 5% (v/v) estensemencée en surface avec 0.1 ml de chaque suspension levurienne préalablement préparée. Ensuite, les boîtes sont incubées à 35°C pendant 24 heures et les résultats sont exprimés en fonction du type d'hémolyse observé. La présence d'une zone brune ou verdâtre autour les colonies, l'hémolyse est considérée dans ce cas comme α hémolytique, tandis que la présence d'une zone claire autour les colonies, l'hémolyse est de

type β hémolytique. Si aucune réaction n'était observée autour les colonies, cela indiquait l'absence d'hémolyse (γ hémolytique) (Fernández-Pacheco, Ramos Monge, *et al.*, 2021)

I.9 Activité protéolytique : (Skim milk agar)

À partir de chaque suspension de levure préalablement préparée, 0,1 ml sont ensemencés en surface du milieu gélosé au lait écrémé (Skim milk agar), suivis d'une incubation à 35 °C pendant 24 heures. Une activité protéolytique sur la gélose au lait écrémé est interprétée par la formation d'une zone claire indiquant la production de protéase qui est responsable de la dégradation des protéines (Pailin *et al.*, 2001).

I.10 Activité lipolytique :

L'activité lipolytique a été déterminée sur milieu Sabouraud Dextrose Agar additionné de jaune d'œuf. Le milieu a été préparé avec 5,85% (m/v) de NaCl, 0,06% (m/v) de CaCl₂ et 10% (v/v) de jaune d'œuf stérile. L'ensemencement en surface est réalisé en étalant 0,1 ml de chaque suspension levurienne sur le milieu sélectif. Les boîtes sont ensuite incubées à 35°C pendant 24 heures. L'activité lipolytique est déduite de l'apparition d'une zone de précipitation (Fernández-Pacheco, Ramos Monge, *et al.*, 2021).

I.11 Production de gélatinase :

Ce test est réalisé sur une gélose YPD additionnée de 30 g/l de gélatine. Dans ce cas, 0,1 ml de chaque suspension levurienne est ensemencé en surface du milieu sélectif et ensuite les boîtes sont incubées à 35°C/24 h. Après incubation, les boîtes de pétri ont été réfrigérées à 4 °C pendant 15 minutes avant l'analyse afin d'observer les zones liquéfiées autour des colonies, indiquant une hydrolyse de la gélatine. La présence de gélatine en milieu de culture peut en effet influencer la détection de l'activité de la gélatinase (Heinzle *et al.*, 2013).

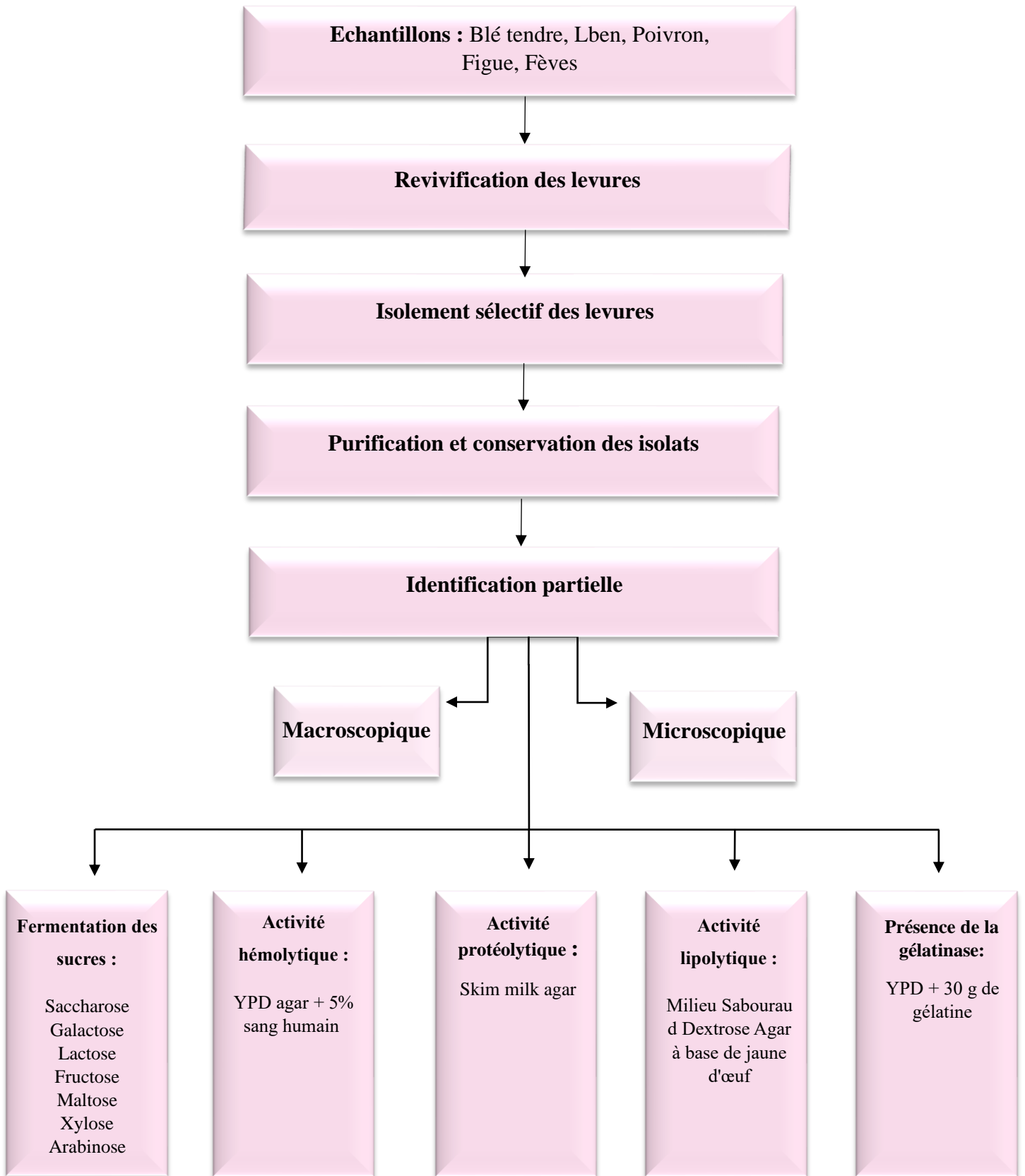


Figure 14 : Logigramme du protocole expérimental de la présente étude

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion :

II.1 Revivification des levures :

Après une incubation de 72 heures à 35°C, on observe un dégagement de gaz (CO₂) et un changement d'odeur des échantillons testés, ce qui témoigne d'une fermentation réussie.



Figure 15 : Résultats de revivification des levures de différents échantillons

II.2 Isolement et purification des levures :

Après l'isolement, des colonies caractéristiques ont été obtenues. Les isolats de levures sont purifiés en les repiquant sur un milieu gélosé YPD, suivi d'une deuxième incubation à 35°C pendant 24 heures (**Chandimala et al., 2022**). Cette purification conduit à l'isolement et à la conservation de 80 isolats de levures, parmi lesquels 5 isolats ont été choisis pour chaque échantillon. Nous avons sélectionné des isolats de différents genres pour réaliser plusieurs activités différentes.

II.3 Identification morphologique :

II.3.1 Macroscopique :

Les caractéristiques morphologiques des isolats de levure jouent un rôle crucial dans leur identification et leur classification partielle (Terryana *et al.*, 2022). La morphologie des colonies des isolats de levure peut varier en fonction de genre de levure spécifique et des conditions environnementales telle que le pH, la température et la présence des nutriments (Keuenhof *et al.*, 2022).

Après 24 heures d'incubation à 35 °C, l'observation des boîtes de Pétri à l'œil nu révèle que les colonies de levure ont en commun une forme ronde, une couleur blanche à l'aspect crémeux, une surface lisse et un relief bombé, avec des contours réguliers (Figure : 16). Dans le milieu liquide YPD bouillon, l'observation d'un dégagement de gaz (CO₂) et d'un dépôt épais au fond des tubes indique les caractéristiques typiques des levures en milieu liquide (Figure: 17) (Giraud, 1998).

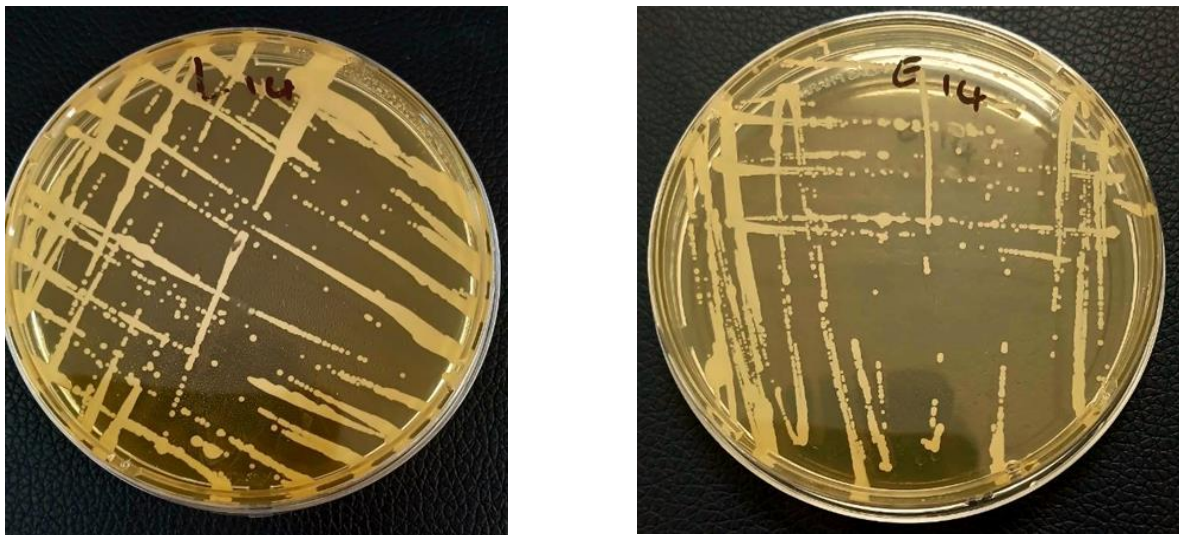


Figure 16 : Aspect macroscopique des levures isolées à partir de Lben (L14) et le fèves (E14)



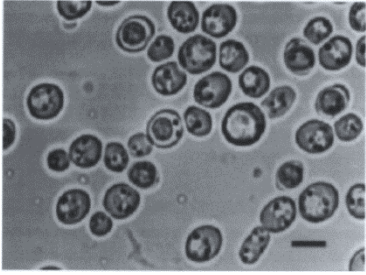
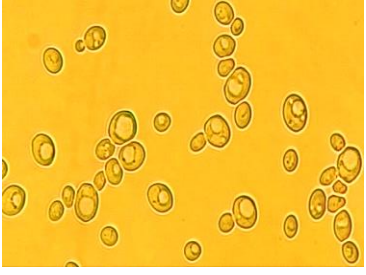

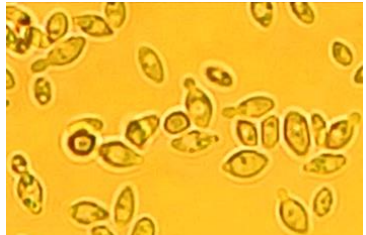
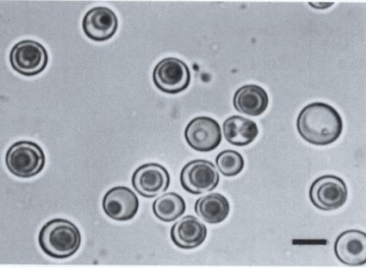
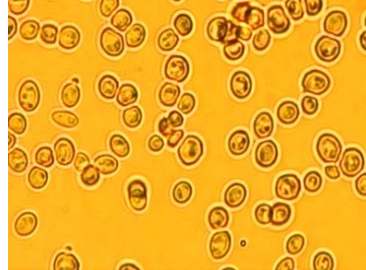
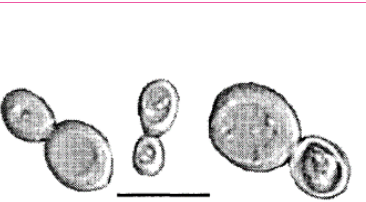
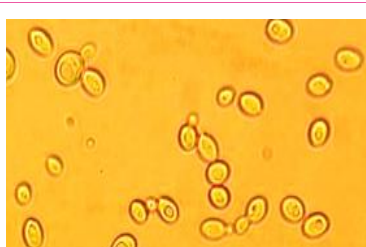
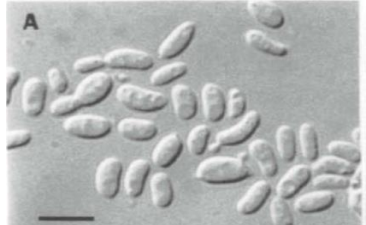
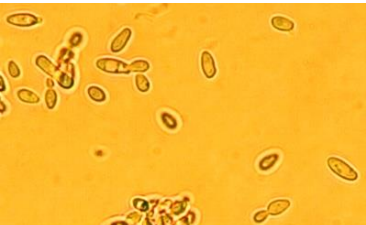
Figure 17 : Les dépôts de levures en milieu YPD liquide

II.3.2 Microscopique :

D'après **Kurtzman et Fell (1998)**, une analyse microscopique est effectuée sur des cultures récentes pour les examiner dans leur état d'origine et déterminer la forme, le mode de reproduction végétative et l'arrangement des cellules levuriennes. Cette analyse nécessite l'utilisation d'un microscope optique réglé à un grossissement de 400 fois (objectif 40).

Dans un total de 25 isolats de levure, les caractéristiques phénotypiques ont été établies en fonction de la morphologie de la colonie. Les genres de levures isolés ont été phénotypiquement identifiés selon les clés taxonomiques de **Kurtzman et al. (2011)** : *Arxiozyma* spp., *Hanseniopsis* spp., *Citeromyces* spp., *Saccharomyces* spp., *Chionosphaera* spp. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 02.

Tableau 02 : Identification microscopique à l'état frais des isolats sous l'objectif 40.

Genre	Origine	Isolats	Identification microscopique	Figures de référence	Observation microscopique sous l'objectif 40 (photo original 2024)
			(Kurtzman & Fell, 1998); Kurtzman, Fell <i>et al.</i> 2011)		
<i>Arxiozyma</i> spp	Blé tendre	T18 T20 T22	<ul style="list-style-type: none"> Bourgeoisement multilatéral Les cellules sont : <ul style="list-style-type: none"> Sphéroïdales Ovoïdales Allongées 		
	Fèves	E9			
<i>Hanseniaspora</i> spp	Poivron	P4 P5 P6 P7 P12	<ul style="list-style-type: none"> Bourgeoisement bipolaire Les cellules sont : <ul style="list-style-type: none"> Apiculées Ovoïdales à long-ovoïdales Allongées 		
	Figues	F22 F24 F26 F31 F37			
<i>Citeromyce</i> spp	Lben	L3	<ul style="list-style-type: none"> Bourgeoisement multilatéral Les cellules sont : <ul style="list-style-type: none"> Sphéroïdales à ellipsoïdales 		
	Fèves	E5 E10 E11 E14			
<i>Saccharomyces</i> spp	Blé tendre	T23 T29	<ul style="list-style-type: none"> Bourgeoisement multilatéral Les cellules sont : <ul style="list-style-type: none"> Globuleuses Ellipsoïdales Cylindroïdales 		
	Lben	L5 L11 L17			
<i>Chionosphaera</i> spp	Lben	L19	<ul style="list-style-type: none"> Bourgeoisement polaire Des cellules uniques ellipsoïdales à en forme de saucisse. 		

II.4 Fermentation des sucres :

L'évaluation de l'assimilation des sources de carbone est une étape essentielle pour déterminer la capacité des levures à utiliser des sucres ou des glucides spécifiques comme unique source de carbone. Ce test s'avère indispensable pour analyser les profils fermentatifs des isolats provenant de sources naturelles dans diverses conditions de croissance (**dos Santos et al., 2021**).

▽ Genre *Arxiozyma* spp. :

Les isolats du genre *Arxiozyma* spp. T18, T20, T22 et E9 sont capable de fermenter le fructose, le maltose, le saccharose et le glucose mais ils sont incapable de fermenter l'arabinose, l'xylose et le lactose. À l'inverse, les isolats T20 et E9 n'ont pas la capacité de fermenter le galactose, tandis que les isolats T18 et T22 fermentent ce dernier (Tableau : 03). Selon **Kurtzman et Fell (1998)**, le genre *Arxiozyma* spp. est capable de fermenter le glucose et incapable de fermenter le galactose, le saccharose, le maltose et le lactose.

▽ Genre *Hanseniaspora* spp. :

Les isolats du genre *Hanseniaspora* spp. (P4, P5, P6, P7, P12, F22, F24, F26, F31 et F37) ont démontré une capacité générale à fermenter le fructose et le glucose, à l'exception des isolats P5, F22, F24 et F31 pour le fructose. Tous les isolats ont également incapable de fermenté le maltose, le lactose, le galactose, l'arabinose, la xylose et le saccharose, sauf l'isolat P12, qui a montré une capacité unique à fermenter le saccharose (Tableau : 03). Ces résultats sont en accord avec les descriptions de **Kurtzman et Fell (1998)**, sauf pour l'isolat P12 qui diverge en fermentant le saccharose.

▽ Genre *Citeromyces* spp. :

Les isolats du genre *Citeromyces* spp. (L3, E5, E10, E11 et E14) peuvent fermenter le fructose, le maltose, le saccharose, le galactose, et le glucose, et incapable de fermenter le lactose l'arabinose et l'xylose à l'exception des isolats L3 et E11 qui ne fermentent pas aussi le maltose (Tableau : 03). Selon **Kurtzman et Fell (1998)**, le genre *Citeromyces* spp., peut fermenter le glucose et le saccharose, mais pas le galactose et le lactose, et montre une variabilité pour le maltose. Nos résultats sont similaires à cette citation, sauf pour le galactose.

▽ **Genre *Saccharomyces* spp. :**

Les isolats du genre *Saccharomyces* spp. (T23, T29, L5, L11 et L17) peuvent fermenter le glucose, mais pas l'arabinose ni la xylose. Ils fermentent également le galactose, sauf pour T23. La fermentation du saccharose varie : T23, T29 et L17 peuvent le fermenter, tandis que L5 et L11 ne le peuvent pas. De plus, ce genre ne peut fermenter pas le fructose sauf pour T23, L5 et L11, ni le maltose sauf pour T23 et T29, ni le lactose sauf pour L5 et L17 (Tableau : 03).

Selon (**Kurtzman & Fell, 1998**), le genre *Saccharomyces* spp., peut fermenter le maltose, le saccharose et le glucose, mais ne peut pas utiliser le lactose. Cependant, la capacité de fermentation du galactose par ce genre varie considérablement. Une similarité a été observée dans la capacité de fermentation du glucose et du lactose parmi les différents isolats examinés, sauf pour les isolats L5 et L17. De plus, il est intéressant de noter que la fermentation du saccharose varie d'un isolat à l'autre. Nos résultats suggèrent que ce genre étudié ne peut pas fermenter le maltose, sauf pour les isolats T23 et T29, qui se sont avérés efficaces dans cette tâche.

▽ **Genre *Chionosphaera* spp. :**

L'isolat unique du genre *Chionosphaera* spp. L19 présente la capacité exclusive de fermenter le glucose, mais il est incapable de fermenter les autres sucres testés. (**Kurtzman & Fell, 1998**) ont également confirmé l'absence de fermentation des sucres dans le genre *Chionosphaera* spp. ce qui est en concordance avec nos résultats, à l'exception du glucose qui pourrait être soumis à une fermentation (Tableau : 03).

Notons que nos isolats ayant des profils divergents par rapport à notre référence taxonomique, et pourraient être dus à une mutation, à une erreur expérimentale ou à une mauvaise identification.

Tableau 03 : Résultats de fermentation des sources carbonés.

Genre	Origine	Isolats	Fructose	Maltose	Lactose	Saccharose	Galactose	Glucose	Arabinose	Xylose	
<i>Arxiozyma</i> spp	Blé tendre	T18	+	+	-	++	+	+	-	-	
		T20	+	++	-	++	-	+	-	-	
		T22	++	+	-	++	+	+	-	-	
	Fèves	E9	+	+	-	++	-	+	-	-	
<i>Hanseniaspora</i> spp	Poivron	P4	++	-	-	-	-	+	-	-	
		P5	-	-	-	-	-	+	-	-	
		P6	+	-	-	-	-	+	-	-	
		P7	+	-	-	-	-	+	-	-	
		P12	+	-	-	+	-	+	-	-	
	Figues	F22	-	-	-	-	-	-	+	-	-
		F24	-	-	-	-	-	-	+	-	-
		F26	+	-	-	-	-	-	+	-	-
		F31	-	-	-	-	-	-	+	-	-
		F37	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Citeromyce</i> spp	Lben	L3	+	-	-	+	+	+	-	-	
	Fèves	E5	++	++	-	++	+	+	-	-	
		E10	+	++	-	+	+	+	-	-	
		E11	+	-	-	++	++	+	-	-	
		E14	+	+	-	+	+	+	-	-	
<i>Saccharomyces</i> spp	Blé tendre	T23	+	+	-	++	-	+	-	-	
		T29	-	+	-	++	+	+	-	-	
	Lben	L5	+	-	+	-	+	+	-	-	
		L11	+	-	-	-	++	+	-	-	
		L17	-	-	+	+	+	+	-	-	
<i>Chionosphaera</i> spp	Lben	L19	-	-	-	-	+	-	-		

- test négatif ; + : test positif ; ++ fermentation forte

II.5 Activité hémolytique :

Les tests de sécurité sont essentiels pour évaluer les levures probiotiques. Les levures produisant une hémolyse α ou β sont considérées comme hémolytiques, tandis que celles avec une hémolyse γ sont non hémolytiques (**Reinoso *et al.*, 2023**).

L'activité hémolytique a été évaluée sur un milieu YPD agar enrichi de 5 % de sang humain et incubé à 35 °C pendant 24 heures (**Fernández-Pacheco, Ramos Monge, *et al.*, 2021**). Les résultats ont montré que tous les isolats de levures étaient incapables de lyser les globules rouges du sang humain, indiquant une hémolyse (γ hémolytique) (Figure : 18) (Tableau : 04).

L'absence d'hémolyse dans le milieu pourrait être due à un manque de capacité pathogène ou hémolytique chez les isolats, comme le souligne l'étude de **Savkovic *et al.* (2022)**. Cette observation suggère une caractéristique potentiellement non pathogène des levures, étant donné que l'activité hémolytique est généralement associée à la virulence chez de nombreux micro-organismes pathogènes, comme le mentionnent **Savković *et al.* (2022)**.

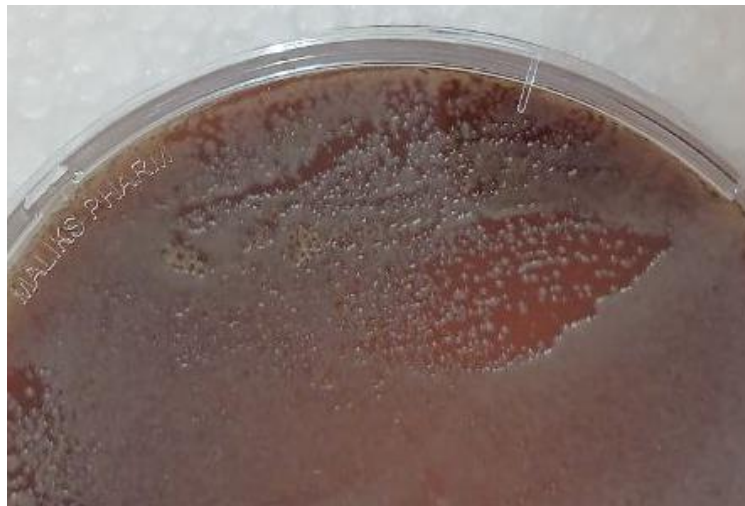


Figure 18 : Résultats d'hémolyse (γ hémolytique)(photo originale 2024)

II.6 Production de gélatinase :

L'activité de gélatinase des levures a été évaluée sur une gélose YPD additionnée de 30 g/l de gélatine (Heinzle *et al.*, 2013). Les résultats montrent que les isolats de cette étude sont incapables de produire de la gélatinase, à l'exception de T18, P6, F22, F26, T23 et L5 (Tableau : 04). Selon Kurtzman et Fell (1998), les genres *Arxiozyma* spp. et *Citeromyces* spp. sont incapables de produire de la gélatinase, ce qui confirme nos résultats à l'exception de l'isolat T18 du genre *Arxiozyma* spp. D'après Molnárová *et al.* (2014), le genre *Hanseniaspora* spp. est également incapable de produire de la gélatinase, ce qui est en accord avec nos résultats, à l'exception des isolats P6, F22 et F26. Cette production de gélatinase par nos isolats pourrait être due à une mutation, une mauvaise identification ou la découverte d'une nouvelle espèce.

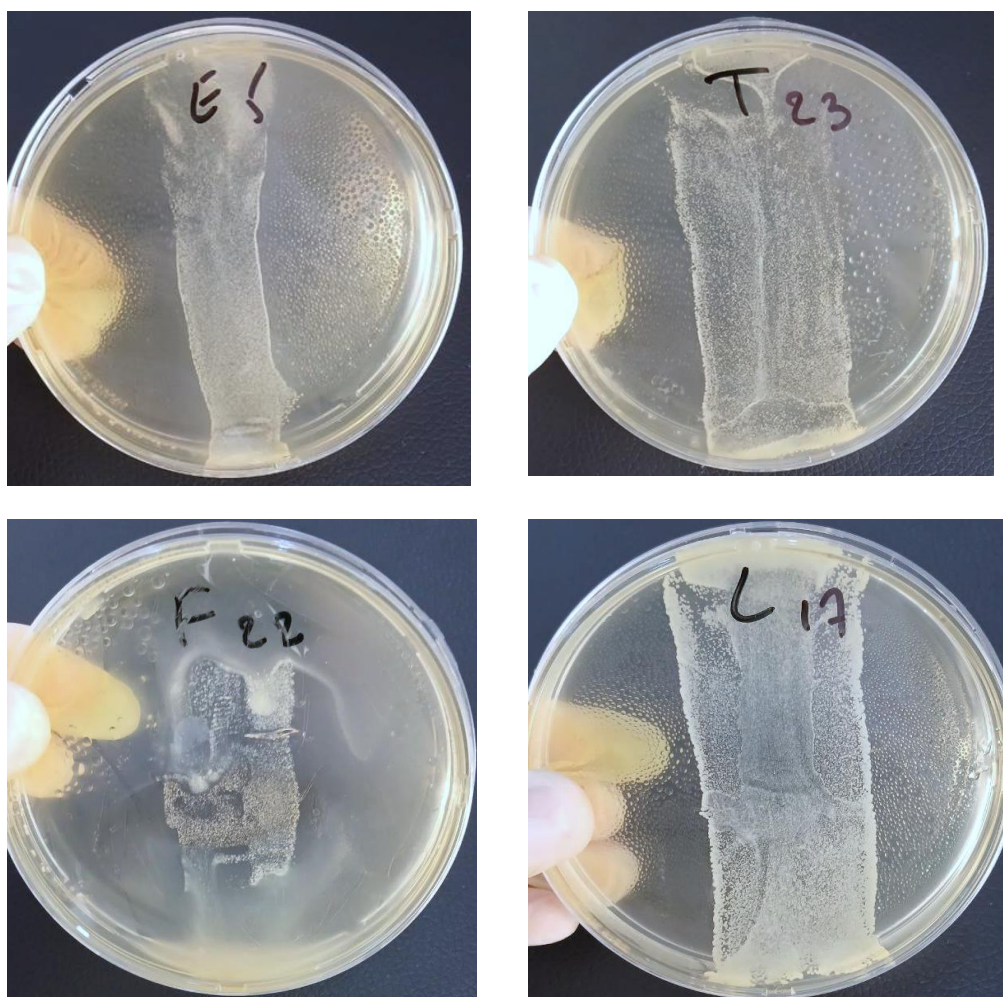


Figure 19 : Résultats de la dégradation de gélatine (photo originale 2024)

Tableau 04 : Les résultats de l'activité hémolytique et la production de gélatinase

Genre	Origine	Isolats	Activité hémolytique	Production de gélatinase
<i>Arxiozyma spp</i>	Blé tendre	T18	γ	+
		T20	γ	-
		T22	γ	-
	Fèves	E9	γ	-
<i>Hanseniaspora spp</i>	Poivron	P4	γ	-
		P5	γ	-
		P6	γ	+
		P7	γ	-
		P12	γ	-
	Figues	F22	γ	+
		F24	γ	-
		F26	γ	+
		F31	γ	-
		F37	γ	-
<i>Citeromyce spp</i>	Lben	L3	γ	-
	Fèves	E5	γ	-
		E10	γ	-
		E11	γ	-
		E14	γ	-
<i>Saccharomyces spp</i>	Blé tendre	T23	γ	+
		T29	γ	-
	Lben	L5	γ	+
		L11	γ	-
		L17	γ	-
<i>Chionosphaera spp</i>	Lben	L19	γ	-

II.7 Activité protéolytique :

Les levures sécrètent des protéases, essentielles à leurs fonctions biologiques et à leurs applications industrielles dans divers secteurs tels que l'industrie alimentaire (**Chidebelu et al., 2018**). L'activité protéolytique est évaluée dans un milieu gélosé contenant du lait écrémé, connu pour sa haute efficacité dans la détection des protéinases extracellulaires associées aux cellules. Cela est mis en évidence par la présence d'un halo clair entourant les colonies. (**Pailin et al., 2001**).

Les résultats de notre expérience montrent que tous les isolats de levures, à l'exception de l'isolat T22, présentaient un halo clair autour des colonies après 48 heures d'incubation à 35°C (Tableau : 05). Cela suggère une activité protéolytique chez la majorité des isolats.

D'après **Martin, Risso et al. (2023)**, la formation de halos transparents autour des colonies indique une activité enzymatique exocellulaire, et la variation de la taille des halos dépend de la souche. Ces observations concordent avec nos résultats expérimentaux (Figure : 20).

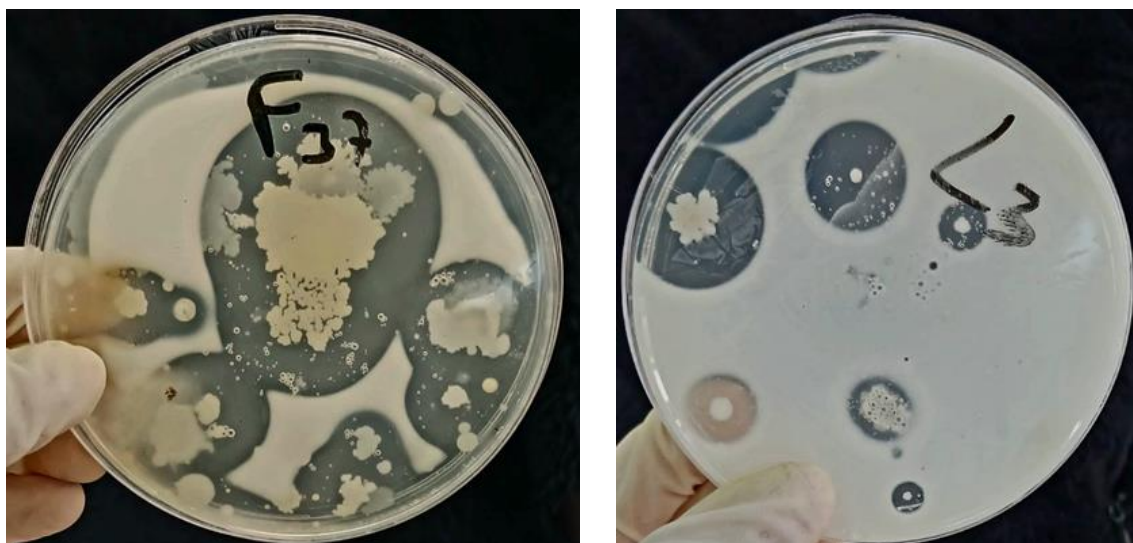


Figure 20 : Résultats d'activité protéolytique (photo originale 2024)

II.8 Activité lipolytique :

Les levures sont capables de sécréter des lipases, des enzymes industrielles importantes avec diverses applications dans de nombreux secteurs industriels (**Kuncharoen *et al.*, 2020** ; **Kumar *et al.*, 2023**).

Les résultats de cette étude révèlent une activité lipolytique variable parmi les isolats de levures. Les isolats *Arxiozyma* spp., en particulier T20 et E9, ont montré une production de lipases, alors que T18 et T22 est incapable de le produire. Les isolats *Hanseniaspora* spp. sont également capables de produire des lipases, à l'exception de F22, F24 et F26. La majorité des isolats *Citeromyces* spp. produisent des lipases, à l'exception de E10. En revanche, les isolats *Saccharomyces* spp. ne produisent pas de lipases, sauf L5. Enfin, l'isolat L19 *Chionosphaera* spp. est incapable de produire des lipases (Tableau : 05).

Selon **Kumar *et al.* (2023)**, les levures sont considérées comme des sources potentielles de lipase fongique. Nos résultats corroborent cette affirmation, à l'exception des isolats (T18, T22) du genre *Arxiozyma* spp., (F22, F24 et F26) du genre *Hanseniaspora* spp., (E10) du genre *Citeromyces* spp., (T23, T29 et L17) du genre *Saccharomyces* spp. et L19 du genre *Chionosphaera* spp.

De manière précise **Kuncharoen *et al.* (2020)** confirment nos résultats concernant le genre *Hanseniaspora* spp. En revanche, **Kumar *et al.* (2023)** indiquent que le genre *Saccharomyces* spp. est capable de sécréter des lipases, ce qui ne correspond pas à nos résultats. Cette variation pourrait être due à une mutation, une identification incorrecte ou la découverte d'une nouvelle espèce.

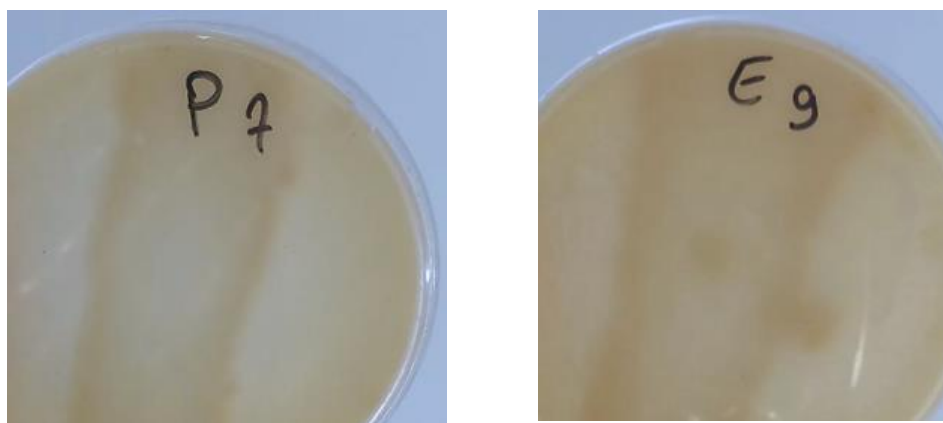


Figure 21 : Les résultats de l'activité lipolytique des levures (photo originale 2024)

Tableau 05 : Les résultats de l'activité protéolytique et l'activité lipolytique des levures

Genre	Origine	Isolats	Activité protéolytique	Activité lipolytique
<i>Arxiozyma spp</i>	Blé tendre	T18	+	-
		T20	+	++
		T22	-	-
	Fèves	E9	+	++
<i>Hanseniaspora spp</i>	Poivron	P4	+	+
		P5	+	++
		P6	+	+
		P7	+	++
		P12	+	+
	Figues	F22	+	-
		F24	+	-
		F26	+	-
		F31	+	+
		F37	+	++
<i>Citeromyce spp</i>	Lben	L3	+	++
	Fèves	E5	+	++
		E10	+	-
		E11	+	++
		E14	+	++
<i>Saccharomyces spp</i>	Blé tendre	T23	+	-
		T29	+	-
	Lben	L5	+	-
		L11	+	++
		L17	+	-
<i>Chionosphaera spp</i>	Lben	L19	+	-

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives :

La présence de la microflore levurienne est essentielle pour préparer et conserver de nombreux aliments traditionnels. Cette recherche étudie les techniques employées pour analyser et déterminer la diversité de la microflore levurienne dans les aliments traditionnels. Dans ce contexte, l'objectif principal de la présente étude est d'isoler et identifier des levures provenant de divers aliments traditionnels tels que le levain à base de blé tendre, le légume mariné (poivron), le Lben et les produits secs (figues et fèves), afin d'étudier leurs propriétés probiotiques.

L'identification morphologique a permis d'isoler et de purifier 25 isolats, appartenant aux genres *Arxiozyma* spp., *Hanseniaspora* spp., *Citeromyces* spp., *Saccharomyces* spp. et *Chionosphaera* spp. De plus, les résultats de la fermentation des sources carbonées ont montré que tous les isolats présentent la capacité de fermenter le glucose, par contre ils sont incapables de fermenter l'arabinose, l'xylose. Et le lactose sauf les isolats L5 et L17 qui sont pas la capacité de fermenté ce dernies. Les isolats démontrent un profile variable concernant les autres sucres testés. La mise en évidence de l'activité hémolytique des levures isolées a montré l'absence d'hémolyse (γ hémolytique) dans tous les isolats testés. Ainsi, la majorité des isolats, à l'exception d'isolat T22, ont indiqué la présence d'enzyme protéolytique (Protéase) et des différents niveaux d'activité lipolytique. Ainsi que l'absence de production de la gélatinase dans tous les isolats, à l'exception de 6 isolats (T18, P6, F22, F26, T23 et L5).

Suite à cette étude, ces résultats sont très encourageants et qui devront être complétés par les perspectives suivantes :

- ▽ Identification moléculaire avec une analyse approfondie pour une caractérisation précise de la microflore levurienne isolée,
- ▽ Etudie de la résistance au stress gastro-intestinal (pH acide, sels biliaries, enzymes...) et aux antifongiques afin d'avoir une vision globale des propriétés probiotiques des levures,
- ▽ Evaluation de l'activité antimicrobienne vis-à-vis des bactéries et des moisissures pathogènes,
- ▽ Enfin, étude du profil biotechnologique des isolats tels que la production de bioalcool, des enzymes et des composés bioactifs, utilisant des techniques plus approfondies.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aryee, A. N., Owusu-Kwarteng, J., Senwo, Z., & Alvarez, M. N. (2022). Characterizing fermented habanero pepper (*Capsicum chinense* L). *Food Chemistry Advances*, 1, 100137.
- 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.
- Bhalla, T. C., & Savitri. (2017). Yeasts and traditional fermented foods and beverages. *Yeast diversity in human welfare*, 53-82.
- Champ, M. (2018). Devrions-nous manger plus de céréales complètes? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 53(1), 22-33.
- Chandimala, U., Rajawardhana, D., Liyanage, P., & Hewajulige, I. (2022). Isolation and characterization of yeasts from locally available foods. *Journal of Agro-Technology and Rural Sciences*, 2(2), 1-12.
- Chidebelu, P., Ogbonna, C., & Nweze, E. (2018). Proteinase activities of *Candida* spp. isolated from different anatomical sites of healthy women. *Bio-Research*, 16(1), 1025-1032.
- Corsetti, A. (2012). Technology of sourdough fermentation and sourdough applications. In *Handbook on sourdough biotechnology* (pp. 85-103). Springer.

- dos Santos, E. G., Silva, R. F., Santos, M. d. S. M., & Batistote, M. (2021). Analysis of the fermentative profile of yeasts isolated from natural sources. *Research, Society and Development*, 10(10), e445101019127-e445101019127.
- El Marnissi, B., Belkhou, R., & Bennani, L. (2013). Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben). *Les technologies de laboratoire*, 8(33).
- Erkmen, O. (2022). Practice 1 - Sampling and sample preparation techniques. In O. Erkmen (Ed.), *Microbiological Analysis of Foods and Food Processing Environments* (pp. 3-12). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91651-6.00037-9>
- Fernández-Pacheco, P., Pintado, C., Briones Pérez, A., & Arévalo-Villena, M. (2021). Potential probiotic strains of Saccharomyces and non-Saccharomyces: functional and biotechnological characteristics. *Journal of Fungi*, 7(3), 177.
- 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.
- Galli, V., Venturi, M., Mari, E., Guerrini, S., & Granchi, L. (2022). Selection of yeast and lactic acid bacteria strains, isolated from spontaneous raw milk fermentation, for the production of a potential probiotic fermented milk. *Fermentation*, 8(8), 407.
- Gherbi, Y., Boudjema, K., Djeziri, M., & Fazouane–Naimi, F. (2023). Isolation and identification of thermotolerant yeast strains producing bioethanol from agro-food wastes. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-17.
- Giraud, J. (1998). Microbiologie alimentaire. *Edition Donod, Paris*. pp, 8-101.

- Heinzle, A., Papen-Botterhuis, N. E., Schiffer, D., Schneider, K. P., Binder, B., Schintler, M., Haaksman, I. K., Lenting, H. B., Gübitz, G. M., & Sigl, E. (2013). Novel protease-based diagnostic devices for detection of wound infection. *Wound repair and regeneration*, 21(3), 482-489.
- Hernández-García, J. A., De-la-Vega-Camarillo, E., Villa-Tanaca, L., & Hernández-Rodríguez, C. Yeast Taxonomy. *Yeasts: From Nature to Bioprocesses*, 2022, 58-72
- Kádár, C. B., Păucean, A., Simon, E., Vodnar, D. C., Ranga, F., Rusu, I. E., Vişan, V.-G., Man, S., Chiş, M. S., & Dreţcanu, G. (2022). Dynamics of Bioactive Compounds during Spontaneous Fermentation of Paste Obtained from *Capsicum* ssp.—Stage towards a Product with Technological Application. *Plants*, 11(8), 1080.
- Keuenhof, K. S., Larsson Berglund, L., Malmgren Hill, S., Schneider, K. L., Widlund, P. O., Nyström, T., & Höög, J. L. (2022). Large organellar changes occur during mild heat shock in yeast. *Journal of cell science*, 135(5), jcs258325.
- Kezer, G. (2022). Functional perspective on sourdough bread. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(8), 1410-1414.
- Kreger-van Rij, N. (1984). *Yeasts*. Elsevier Amsterdam.
- Kumar, A., Verma, V., Dubey, V. K., Srivastava, A., Garg, S. K., Singh, V. P., & Arora, P. K. (2023). Industrial applications of fungal lipases: a review. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1142536.
- Kuncharoen, N., Techo, S., Savarajara, A., & Tanasupawat, S. (2020). Identification and lipolytic activity of yeasts isolated from foods and wastes. *Mycology*, 11(4), 279-286.

- Kurtzman, C., & Fell, J. (1998). The yeasts, a taxonomic study.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., Boekhout, T., & Robert, V. (2011). Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts. In *The yeasts* (pp. 87-110). Elsevier.
- Larralde, J., & Martinez, J. (1991). Nutritional value of faba bean: effects on nutrient utilization, protein turnover and immunity. *Options Mediterranees–Ser. Seminaires*, 10, 111-117.
- M’hamed, A. C., Ncib, K., Merghni, A., Migaou, M., Lazreg, H., Snoussi, M., Noumi, E., Mansour, M. B., & Maaroufi, R. M. (2022). Characterization of probiotic properties of *Lactocaseibacillus paracasei* L2 isolated from a traditional fermented food “Lben”. *Life*, 13(1), 21.
- Maicas, S. (2023). Yeast Fermentation and the Make of Biotechnological Products. *Microorganisms*, 11(6), 1463.
- Martin, V., C. Risso, B. Listur, K. Medina, M. J. Valera, R. Schneider, E. Dellacassa and F. Carrau (2023). Proteolytic activity under white wine fermentation by *Hanseniaspora vineae* yeast strains. BIO Web of Conferences, EDP Sciences.
- Mkadem, W., Belguith, K., Semmar, N., Zid, M. B., ElHatmi, H., & Boudhrioua, N. (2022). Effect of process parameters on quality attributes of Lben: Correlation between physicochemical and sensory properties. *LWT*, 155, 112987.
- Molnárová, J., Vadkertiová, R., & Stratilová, E. (2014). Extracellular enzymatic activities and physiological profiles of yeasts colonizing fruit trees. *Journal of basic microbiology*, 54(S1), S74-S84.

- Nalbant, A., & Ersoy Omeroglu, E. (2024). Lactic Acid Bacteria Isolation from Üçburun Peppers and Comparison of the Different Production Process for Pickled Pepper. *Fermentation*, 10(4), 196.
- Negera, T. (2017). Isolation and characterization of ethanol, sugar and thermo tolerant yeast isolates in Ethiopia. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 5(8), 14-20.
- 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.
- Paramera, E. I., Karathanos, V. T., & Konteles, S. J. (2023). Yeast cells and yeast-based materials for microencapsulation. In *Microencapsulation in the food industry* (pp. 343-365). Elsevier.
- Reinoso, S., Gutiérrez, M. S., Domínguez-Borbor, C., Argüello-Guevara, W., Bohórquez-Cruz, M., Sonnenholzner, S., Nova-Baza, D., Mardones, C., & Navarrete, P. (2023). Selection of autochthonous yeasts isolated from the intestinal tracts of cobia fish (*Rachycentron canadum*) with probiotic potential. *Journal of Fungi*, 9(2), 274.
- REVY, R. (2005). Levures biologiques alimentaires et poudres levantes. *Techniques de l'ingénieur. Agroalimentaire*, 3(F4600).
- Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Shahryari, S., Kharazmi, M. S., & Jafari, S. M. (2022). Food applications of probiotic yeasts; focusing on their techno-functional, postbiotic and protective capabilities. *Trends in Food Science & Technology*, 128, 278-295.

- Savković, Ž. D., M. Č. Stupar, N. D. Unković, A. Z. Stančić, J. B. Vukojević and M. V. Ljaljević-Grbić (2022). "Hemolytic potential of bioaerosol-derived *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* mould isolates." Zbornik Matice srpske za prirodne nauke(143): 15-25.
- Sreedharan, S., Babu, V. S., Saritha, G. N. G., Sherly, S. V., & Kumar, A. (2023). A Cross-continental Survey of Traditional Food Systems That Are Based on Wild Food Plants. In *Wild Food Plants for Zero Hunger and Resilient Agriculture* (pp. 93-124). Springer.
- Terryana, R. T., Ilmiyah, N., Setyawati, I., Haryati, T., Mulya, K., Riyanti, E. I., Sastro, Y., & Lestari, P. (2022). Morphological, physiological, and molecular identification and characterization of yeast isolated from Indonesian fruits and woods. AIP Conference Proceedings,
- Tezel, B. U., Şanlıbaba, P., Akçelik, N., & Akçelik, M. (2021). Selection Criteria for Identifying Putative Probiont. In *Advances in Probiotics* (pp. 23-35). Elsevier.
- Tullio, V. (2022). Yeast genomics and its applications in biotechnological processes: What is our present and near future? *Journal of Fungi*, 8(7), 752.
- Villena, G. K., Ludena, Y., & Samolski, I. (2023). Applications of yeast for environmental clean-up and sustainable agriculture. In *Advances in Yeast Biotechnology for Biofuels and Sustainability* (pp. 193-218). Elsevier.
- Walker, G. M. (2009). Yeasts. In *Desk encyclopedia of microbiology* (pp. 1174-1187). Academic Press/Elsevier.

- Yahia, Y., Loumerem, M., Yahia, H., Ferchichi, A., & Nagaz, K. (2017). Variabilité morphologique et qualité nutritionnelle des lignées de fève (*Vicia faba* L.) Sélectionnées à l'IRA de Médenine. *Revue des Régions Arides*(43).

