



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

*BENSTAALI MANAL et BENMAMAR KHADIDJA ASMAA*

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité : Microbiologie appliquée**

THÈME

*Approche Microbiologique de la Flore Indigène d'un  
Blé fermenté type Hamoum : Les Levures comme  
caractère probiotique.*

DEVANT LE JURY

Président	M. BEKADA DJ	Maître de conférences A	U. Mostaganem
Examineur	Mme. GRAR H	Maître de conférences A	U. Mostaganem
Examineur	M. BOUFERKAS Youcef	Maître Assistant B	U. Mostaganem
Promoteur	M. Benakriche BM	Professeur	U. Mostaganem

## *Remerciement*

Avant tout nous remercions "Allah" le tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail.

Nous profonds remerciements vont à Mme Grar H grade, Maitre de conférences et M. Bouferkas Youcef grade Maître Assistant B.

Nous exprimons mes vifs remerciements monsieur BENAKRICHE. BM Maitre de Conférences d'avoir accepté la charge d'être directeur de ce mémoire, pour sa disponibilité, ses pertinents conseils, sa patience et pour les efforts qu'il a consenti durant la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions monsieur Mohamed de nous avoir accueillie et pour capricieuses conseils et ça disponibilité il a partagé ses connaissances et expériences dans ce milieu, tout en nous accordant sa confiance.

Nous remercions de même le doctorante BOUCHIBANE M notre Co-encadreur pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

## *Dédicace*

A ma maman,

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

À mes chères sœur Khiera et Sarah, mes cher frères Ahmed, Oussama et Hamido, ma nièce kamar et mes neveux Hichem et Borhen. Ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

À mon beau-frère Mohamed qui m'a toujours soutenu et encouragé.

A ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

À ma très chère amie, copine et binôme « Manel » pour ses encouragements, son soutien moral, et sa compréhension durant toute l'année universitaire.

A tous ceux que j'aime.

KHADIDJA ASMAA

## *Dédicace*

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père Bachir

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non âmes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère Fatima.

A mes chère frères Yassine, Hakim et Mohamed qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant.

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

À ma très chère amie, copine et binôme Asmaa pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

Manel

## Table de matière

Abstract	
Liste d'abréviation	
Liste des figure	
Liste des tableau	
<b>Introduction</b> .....	01
<b>Chapitre I : Le blé et blé fermenté</b>	
<b>1. Généralités</b> .....	02
<b>1.1. La production Algérienne du blé</b> .....	02
<b>1.2. Céréales : Le blé</b> .....	04
1.2.1. Systématique.....	04
<b>1.3. Composition morphologique</b> .....	05
1.3.1. L'enveloppe.....	05
1.3.2. L'amande farineuse ou l'endosperme.....	05
1.3.3 Le germe.....	06
<b>1.4. Origine du blé</b> .....	08
<b>1.5. Composition histologique</b> .....	08
<b>1.6. Composition biochimique</b> .....	08
1.6.1. Les glucides .....	08
1.6.2. Les protéines .....	08
1.6.2.1. Les protéines métaboliques.....	09
1.6.2.2. Les protéines de réserves.....	09
1.6.2. Les lipides .....	09
1.6.3. L'eau.....	09
1.6.4. Les vitamines et les minéraux .....	10
1.6.5 Les enzymes.....	12
1.6.7 Les polyphénols.....	12
<b>1.7. Le cycle de développement</b> .....	12
1.7.1. La période végétative.....	12
1.7.2. La période reproductive.....	13
<b>1.8. Fermentation du blé</b> .....	14
1.8.1. Blé fermenté.....	14
1.8.2. Effet de la fermentation.....	15
<b>Chapitre II : Les levures dans les aliments fermenté</b>	
<b>1. fermentation du blé dure</b> .....	16
<b>1.1. Importance de la fermentation des céréales</b> .....	16
<b>1.2. La fermentation du blé</b> .....	16
1.2.1. Les aliment fermenté.....	16
1.2.2. Le blé fermenté traditionnel.....	16
1.2.3. Catégories et technologies de la fermentation des céréales.....	18
<b>1.3. Stockage de blé</b> .....	19
<b>1.4. Systèmes de stockage traditionnels « Matmoras »</b> .....	19

1.4.1. La face cachée de Matmoras.....	20
1.4.2. Caractéristiques fermentaires des ensilages.....	21
<b>1.5. Les effets des microorganismes de sol.....</b>	<b>23</b>
<b>1.5.1. Modifications visuelles du blé.....</b>	<b>23</b>
1.5.1.1. Germination.....	23
1.5.1.2. Décoloration.....	23
1.5.1.3. Odeur.....	23
<b>1.5.2. Modifications biochimiques du blé.....</b>	<b>24</b>
1.5.2.1. Dégradation des lipides.....	24
1.5.2.2. Dégradation des glucides.....	24
1.5.2.3. Dégradation des protéines.....	25
<b>1.6. Bactéries lactiques impliquées dans la fermentation des blé dure.....</b>	<b>25</b>
<b>1.7. Flore fongique et céréales fermentées.....</b>	<b>27</b>
1.7.1. Propriétés et caractérisation de la flore fongique.....	27
1.7.2. Flore fongique impliquée dans la fermentation des blé dure .....	28

**Chapitre III : Effet nutritionnelle de blé fermenté  
Et microbiote intestinale**

<b>1. Effet nutritionnelle du blé fermenté.....</b>	<b>30</b>
<b>1.1 Microbiote intestinale.....</b>	<b>30</b>
1.1.1. Définition du microbiote intestinale.....	30
1.1.2. Composition du microbiote intestinal.....	31
1.1.3. Les fonctions du microbiote intestinal.....	33
<b>1.2 Symbiotiques et prévention nutritionnelle.....</b>	<b>34</b>

**Chapitre IV : Matériel et méthode**

<b>1.OBJECTIF.....</b>	<b>36</b>
<b>Justification scientifique.....</b>	<b>36</b>
<b>1.1. Matériel expérimentale.....</b>	<b>37</b>
<b>1.2. Le choix de l'aliment fonctionnel.....</b>	<b>37</b>
<b>1.3. Enquête sur le procédé de fermentation naturelle .....</b>	<b>37</b>
<b>1.4. Les matériel et milieu utilisé .....</b>	<b>38</b>
<b>1.5. Protocole expérimentale.....</b>	<b>39</b>
1.5.1 Suspension mère et dilutions décimales.....	40
1.5.2 Isolement.....	40
<b>1.6. Identification physiologique et biochimique des isolats .....</b>	<b>42</b>
1.6.1 Pré-identification des isolats .....	42
1.6.1.1 Observation macroscopique .....	42
1.6.1.2 Test de catalase.....	42

1.6.1.3 Observation microscopique.....	42
<b>1.7 Identification partielle (Tests biochimiques) .....</b>	<b>43</b>
1.7.1 Test de Croissance à différentes températures.....	43
1.7.2 TSI (Gélose Glucose-Lactose-Saccharose-H <sub>2</sub> S) .....	43
1.7.3 Test Mannitol-Mobilité.....	44
1.7.4. Test de citrate de Simmons.....	45
1.7.5 Test de l'indole .....	45
<b>1.8 Tests de fermentation des sucres .....</b>	<b>45</b>
<b>1.9 Conservation des souches.....</b>	<b>46</b>
<b>Résultats</b>	
<b>1. Isolement et Identification des levures.....</b>	<b>48</b>
<b>1.1Pré-identification des souches.....</b>	<b>48</b>
1.1.1Test de catalase.....	48
1.1.2 L'examen macroscopique.....	48
1.1.3. Examen microscopique.....	48
1.1.4 Dénombrement Flore fongique.....	52
<b>1.2. Identification partielle (Tests biochimiques) .....</b>	<b>55</b>
1.2.1. Croissance à différentes températures.....	55
1.2.2. Dégradation du citrate de Simmons.....	55
1.2.3.TSI (Gélose Glucose-Lactose-Saccharose-H <sub>2</sub> S).....	57
1.2.4. Tests d'indole.....	57
1.2.5. Test de Mannitol- Mobilité.....	61
<b>1.3. Fermentation des sucres.....</b>	<b>63</b>
<b>1.4. Répartition des souches.....</b>	<b>63</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>65</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>70</b>
<b>Référence.</b>	
<b>Annexe</b>	

## Résumé

Le blé fermenté type Hamoum « BFH » est un aliment fonctionnel aux effets nutritionnels très bénéfiques pour la santé digestive, il est obtenu après une période allant de 01 à 04 ans dans un grenier sous souterrain appelé « Matmora », les grains de blé situés dans la partie périphérique du grenier subissent une fermentation naturelle. Le BFH renferme des sources importantes de nutriments et de phytoprotecteurs, lesquels font plutôt défaut dans notre régime alimentaire.

L'objectif de notre travail est d'identifier les levures isolées du BFH, cette optique s'inscrit dans le cadre d'évaluation la qualité microbiologique en termes de microorganismes bénéfiques pour la santé intestinale.

L'isolement des levures à partir du BFH nous a permis d'obtenir 10 colonies différentes macroscopiquement et microscopiquement (catalase négative). L'étude des caractéristiques phénotypiques, biochimiques et physiologiques a permis d'identifier quatre souches qui sont *Saccharomyces pastorianus* ( $Lev_{BFH3}$ ), *Saccharomyces boulardii* ( $Lev_{BFH5}$ ), *Schizosaccharomyces pombe* ( $Lev_{BFH6}$ ), *Saccharomyces cerevisiae* ( $Lev_{BFH9}$ )

Comme le BFH est considéré comme un aliment fonctionnel par sa richesse en bactéries lactiques, il est évident que sa flore levurienne possède des effets bénéfiques pour la santé humaine. Et donc, le BFH pourrait être un support comme un adjuvant nutritionnel et/ou diététique voir thérapeutique.

**Mots clés :** BFH ; Fermentation ; levures ; Probiotiques



## *Abstract*

Fermented wheat type Hamoum "BFH" is a functional food with very beneficial nutritional effects for digestive health, it is obtained after a period ranging from 01 to 04 years in an underground granary called "Matmora", the grains of wheat located in the peripheral part of the attic undergo natural fermentation. BFH contains important sources of nutrients and safeners, which are rather lacking in our diet.

The objective of our work is to identify the yeasts isolated from BFH; this perspective is part of the evaluation of the microbiological quality in terms of beneficial microorganisms for intestinal health.

Isolation of yeasts from BFH allowed us to obtain 10 different colonies macroscopically and microscopically (catalase negative). The study of the phenotypic, biochemical and physiological characteristics made it possible to identify four strains which are *Saccharomyces pastorianus* (LevBFH3), *Saccharomyces boulardii* (LevBFH5), *Schizosaccharomyces pombe* (LevBFH6), *Saccharomyces cerevisiae* (LevBFH9) As BFH is considered a functional food due to its richness in lactic acid bacteria, it is obvious that its yeast flora has beneficial effects for human health. And therefore, BFH could be a support such as a nutritional and / or dietetic or even therapeutic adjuvant.

**keywords:** BFH; Fermentation; yeasts; Probiotics

## *Liste des abréviations*

*B*

- **BFH** : Blé fermenté Hamoum.
- **BL** : Bactérie lactique.

*O*

- **ODC** : Ornithine Décarboxylase.
- **OGA** : Gélose à l'Ox tétracycline Glucose

*P*

- **PBS** : Phosphate-Buffered Saline.
- **PCR** : Polymérase Chain Réactions.

*T*

- **TPS** : Tampon Phosphate Salin.
- **TSI** : Triple Sugar Iron.

*U*

- **UFC** : Unité Formant Colonie.

*Y*

- **YEPD** : Yeats Extract Peptone Dextrose.
- **YPD** : Yeats Peptone Dextrose.

## Liste des figures

N° de figure	Titer de la Figure	Page
<b>Figure 01</b>	Classification des céréales.	04
<b>Figure 02</b>	Structure du grain de blé.	06
<b>Figure 03</b>	Coupe longitudinale d'un grain de blé.	08
<b>Figure 04</b>	Les stades repèrent de la vie du blé.	14
<b>Figure 05</b>	Aspect de blé fermenté.	17
<b>Figure 06</b>	Formes typiques de « matmora ».	19
<b>Figure 07</b>	Préparation d'une Matmora souterraine.	20
<b>Figure 08</b>	Le microbiote du tractus digestif	31
<b>Figure 09</b>	Fonctions du microbiote intestinal	33
<b>Figure 10</b>	Représentation de la source de prélèvement de l'échantillon « Hamoum » à partir de la matmora.	37
<b>Figure 11</b>	Représentation Schématique de travail.	39
<b>Figure12</b>	Fermentation du blé et technique d'écrasement.	40
<b>Figure 13</b>	Protocole d'isolement des levures de Hamoum.	41
<b>Figure 14</b>	Schéma de conservation courte durée des levures purifiées.	47
<b>Figure 15</b>	Représentation de la source de prélèvement de l'échantillon « Hamoum » à partir de la matmora.	51
<b>Figure 16A</b>	Observations microscopiques des levures avec un grossissement (G 10x100).	53
<b>Figure 16B</b>	Observations microscopiques des levures avec un grossissement (G 10x100).	64
<b>Figure 17</b>	Répartition des souches lactiques au niveau du genre.	63

## Liste des tableaux

N° du Tab	Titre du tableau	Page
<b>Tableau 1</b>	Distribution des glucides dans les fractions de blé (g/100 grs).	10
<b>Tableau 2</b>	Composition chimique d'un grain de blé.	10
<b>Tableau 3</b>	Distribution de la vitamine du groupe B (g / 100 grs) dans les différentes parties du grain de blé.	11
<b>Tableau 4</b>	Éléments minéraux du grain de blé.	11
<b>Tableau 5</b>	Résumé de l'observation macroscopique des souches isolées du BFH.	49
<b>Tableau 6</b>	Résumé de l'observation microscopique des souches isolées du BFH.	52
<b>Tableau 7</b>	<i>Résultat dénombrement des colonies de levure</i>	55
<b>Tableau 8</b>	Résultat de la croissance des souches isolées à différentes températures 44°C, 30°C, 37°C.	56
<b>Tableau 9</b>	Résumé résultat du teste citrate de Simmons après 72.	57
<b>Tableau10</b>	Les résultats des souches de teste TSI après 72h a 28C°.	58
<b>Tableau11</b>	Les résultats du tests Indole après 72h.	58
<b>Tableau12</b>	Les résultats des souches de teste Mannitol Mobilité après 72h.	59
<b>Tableau13</b>	Tableaux général Caractéristique physiologique et biochimiques des souches levurienne isolés à partir d'échantillon de Tiaret.	60
<b>Tableau 14</b>	Montre les résultats obtenus pour la fermentation des différents sucres.	62
<b>Tableau 15</b>	Répartition des souches isolées à partir de blé fermenté type BFH.	63

A decorative graphic on the left side of the page. It consists of a thick, dark blue vertical bar that runs from the top to the bottom. A horizontal arrow, colored in a lighter shade of blue, points to the right from the middle of the vertical bar.

# *Introduction*

Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des aliments dites fonctionnels utilisées de façon empirique depuis des millénaires. Ce savoir traditionnel ancestral transmis de génération en génération est devenu aujourd'hui une mine d'information extrêmement précieuse dans la recherche scientifique en nutrition.

Les céréales constituent la ressource alimentaire la plus importante au monde à la fois pour l'alimentation humaine et animale. Elles occupent une place stratégique dans l'alimentation de la population mondiale et en particulier dans les pays en développement. En effet, le blé est le céréale le plus cultivé dans le monde et ses nutriments sont très importants dans la nutrition humaine, car ils fournissent un tiers des besoins en protéines et en énergie nécessaire pour un adulte **(Alfonso E et al., 2013)**. Il représente la matière première la plus consommée après le riz, il assure 15% des besoins énergétiques chez les humains d'où l'importance de son stockage pour assurer sa consommation annuelle **(Druvefors UA, 2004 ; Scholten K, 2001)**.

En Algérie, le blé dur fermenté est utilisé pour la fabrication du couscous appelé aussi *Hamoum* ; historiquement obtenu après le stockage des grains de blé dur pendant plusieurs années dans des greniers souterrains traditionnels (Matmora). Suite à l'infiltration des eaux de pluie à l'intérieur du Matmora, le blé inondée ou humidifié avec une fermentation spontanée offre des nouvelles fonctionnalités par la production de saveurs typiques ainsi que des changements de texture et de couleur. L'ancien procédé a été progressivement abandonné en raison de l'exode rural et l'extension des méthodes modernes de stockage du blé **(Bekhouche F et al., 2013)**.

Le blé fermentés type Hamoum abritent divers microorganismes (BL, levures et champignons filamenteux) présents sur les matrices de fermentation. La composition et la diversité du microbiote des céréales fermentées dépendent principalement de l'environnement (végétaux, animaux et ustensiles de fabrication, entres autres) et de

l'adaptation des microorganismes aux conditions de fermentation (substrats, températures, pH, activité de l'eau) (**Jespersen L, 2003 ; Guyot JP, 2010 ; Tamang J, 2010a**).

Les levures font partie du microbiote de quelques aliments fermentés à base de céréales tels que *mawé*, *idli*, *puto*, *pozol* et les pâtes au levain (**Kofi EA and Nout JP, 2010**). Ils sont intimement impliqués dans la production de toutes les boissons alcoolisées. Cette association dépend de la capacité de certaines espèces de levure à fermenter rapidement les sucres en éthanol et également leur capacité à tolérer une concentration d'éthanol. D'autres levures sont également détectées dans certains starters amylolytiques et boissons fermentées (**Fleet GH, 1997 ; Tamang and Fleet GH, 2009**). Par ailleurs, les levures sont fréquemment associées aux BL, en particulier lorsque le procédé conduit à des boissons alcoolisées acides. (**Jespersen L, 2003**).

Notre curiosité scientifique nous a incité à explorer la flore levurienne de notre blé fermenté Hamoum (BFH). L'isolement et l'identification des levures isolées d'un « Hamoum » par les techniques microbiologiques classiques basée sur la fermentation des sucres nous a conduit sur quatre souches de levures non identifiées jusqu'à présent dans le BFH.

Notre travail est organisé en plusieurs chapitres, des informations sur le blé de façon générale et le blé fermenté Hamoum en particulier, une étude bibliographique sur les levures dans les aliments fermentés, la qualité nutritionnelle du BFH et enfin une caractérisation des levures isolées du BFH avec une discussion sur les potentialités de nos souches identifiées. D'autres études pourront se poursuivre quant à ses caractérisations nutritionnelles et technologiques dans le domaine agro-alimentaire et parapharmaceutique pour confirmer l'utilité du BFH et ses substrats métaboliques dans notre société.

## Chapitre I

# *Le blé et blé fermenté*



# Les Céréales, le blé dure en particulier

## 1. Généralités

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner différentes maladies (**Lhuillier A, 2007**) ; Les plantes, les racines, les fruits, les légumes, les céréales et autres, ont toujours été connus pour leurs propriétés nutritives, mais aussi pour leurs vertus curatives. Le premier texte écrit sur la médecine artisanale par les plantes, l'aliment est gravé sur des tablettes en argile en caractère cunéiforme. Durant des milliers d'années, la phytothérapie « une médecine vieille comme le monde » a constitué la principale source de remèdes contre de nombreuses maladies (**Gildo P, 2006**).

Le continent africain est un des continents dotés d'une biodiversité riche, avec une avalanche de beaucoup de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels comme le blé pour des buts thérapeutiques. C'est en grande partie dû à la géographie vaste englobant une masse de terre approximativement de 216.634.000 hectares de secteurs forestiers fermés.

Plus de 5.000 substances naturelles ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont avérées utiles dans la médecine (**Farombi EO, 2003**). De même, dans les pays développés, la médecine traditionnelle est également très populaire. Les céréales, le blé en particulier, occupent une place importante dans la production agricole et constitue la nourriture de base pour 35% de production mondiale (**Mebarkia A et al., 2005**).

### 1.1. La production Algérienne du blé

Parmi toutes les espèces céréalières, les blés représentés respectivement par le blé dur et le blé tendre sont considérées comme les produits alimentaires les plus importants pour une large part de la population algérienne (**Benbelkacem A, 2007**). En Algérie, les céréales constituent la base de l'alimentation elles présentent à elles seules 73.6% de l'apport calorique globale et fournissent en moyenne 80% des protéines totales consommées, la semoule issue du blé dur serait à l'origine de produits alimentaires de très divers plats et aliments traditionnels : couscous, pain, galette, pâtisserie, (**Feillet, 2000 ; Jeantet et al., 2007**) fric, patte diverse et gâteaux traditionnels.

## 1.2. Céréales : Le blé Dur

Les céréales sont un groupe des plantes annuelles cultivées, appartenant à la famille des Poaceae (**Guignard JL et Dupont F, 2004**). Cette famille, parmi toutes celles du règne végétal, occupe une place à part, non seulement par le nombre de ses espèces, 9000, mais encore son ubiquité, sa répartition et son intérêt humain, historique comme économique (**Guignard et Dupont, 2004 ; Alais C et al., 2003 ; Mosiniak et al., 2001**). La plante de blé comme toutes les céréales, est un système vivant qui peut être divisé en deux parties : une partie souterraine assurant la communication sol/plante, c'est le système racinaire. Et une partie aérienne permettant les échanges plante-atmosphère, et notamment le processus de photosynthèse et de transpiration (**Hadria R, 2006**).

### 1.2.1. Systématique

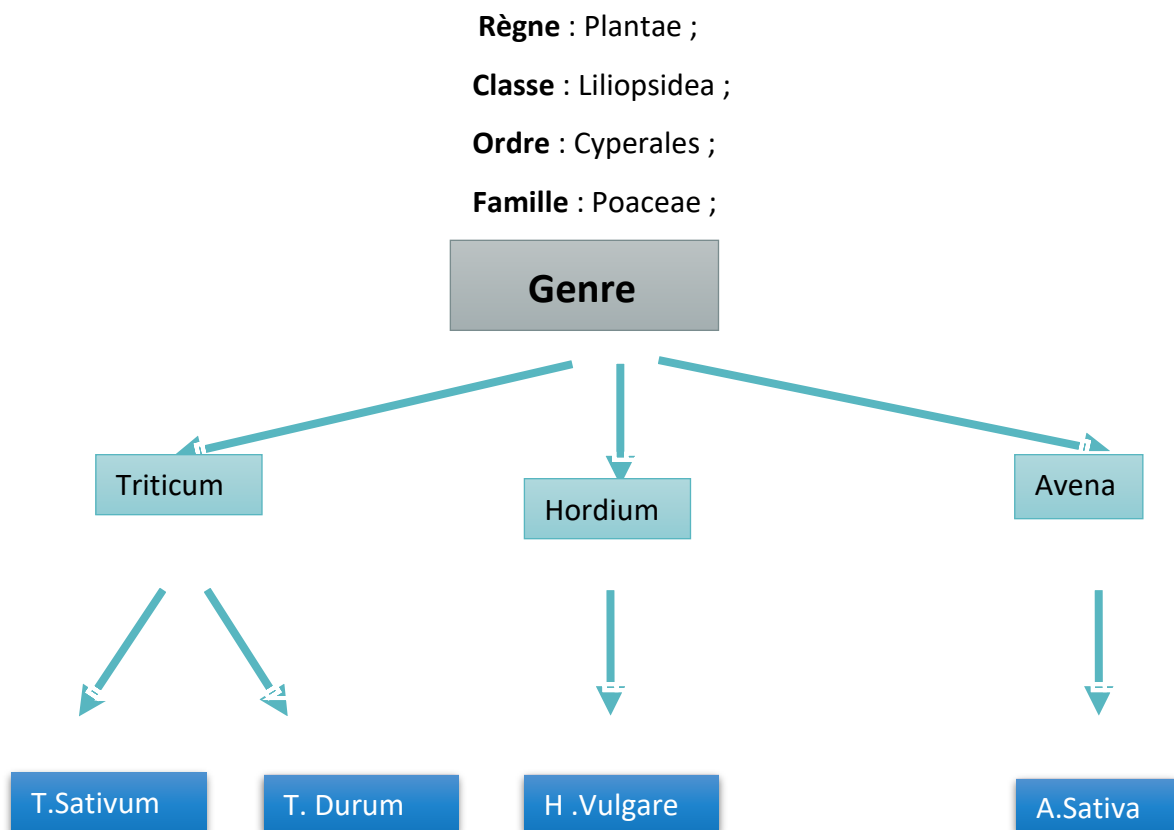


Figure 01 : Classification des céréales. D'après (**Moule, 1980**).

### 1.3. Composition morphologique

Morphologiquement le blé dur se différencie du blé tendre (**Olmedo OA, 1995 ; Soltner, 2005**). Le grain de blé dur est gros, de section triangulaire très riche en albumen et de texture vitreuse (**Soltner, 2005 ; Hadria, 2006**). Il possède un système racinaire assez développé par rapport à celui du maïs ou graminées (**Prats et Grandcourt, 1971 ; Soltner, 2005 ; Hadria R, 2006**).

Physiologiquement, le grain est constitué par le germe qui donne la plantule, l'amande appelée endosperme ou albumen, tissu de stockage qui fournit au germe les réserves nécessaires pour sa croissance et les enveloppes protectrices ou son, composées par la paroi de la graine (testa) et par la paroi du fruit (péricarpe) (**Doumandji A et al., 2003**). La structure des grains de diverses céréales est assez semblable.

#### 1.3.1. L'enveloppe

C'est la pellicule cellulosique qui protège le grain pendant sa formation dans l'épi, au cours de sa conservation et aussi pendant la levée, dans le sol en limitant l'entrée des moisissures et des bactéries. Toutefois le péricarpe n'est pas étanche et permet le passage de l'air et de l'eau (**Cruz JF et al., 1988**).

L'enveloppe représente environ 12 à 14% du poids du grain de blé (**Bonneau L, 2003**), elle est formée ; du péricarpe riche en fibres cellulosique et sels minéraux et d'une assise protéique ou couche à aleurone qui représente la première assise constitutive de l'albumen, riche en protéines, lipides, pentosanes, hémicellulose et minéraux (**Goldon D et Willm G, 1991**).

#### 1.3.2. L'amande farineuse ou l'endosperme

Constitue presque tout l'intérieur du grain (environ 80% - 85% du poids du grain). On y trouve l'essentiel des réserves énergétiques qui nourrissent la plantule au moment de la germination (**Bonneau L, 2003**).

### 1.3.4. Le germe

Comprend 2 parties, la plantule (future plante) et le cotylédon (réserve de nourriture trèsfacilement assimilable, destinée à la plantule) qui contient l'essentiel des matières grasses du grain ; Il représente 2% du poids du grain de blé (Alves L et Xavier M, 2002).

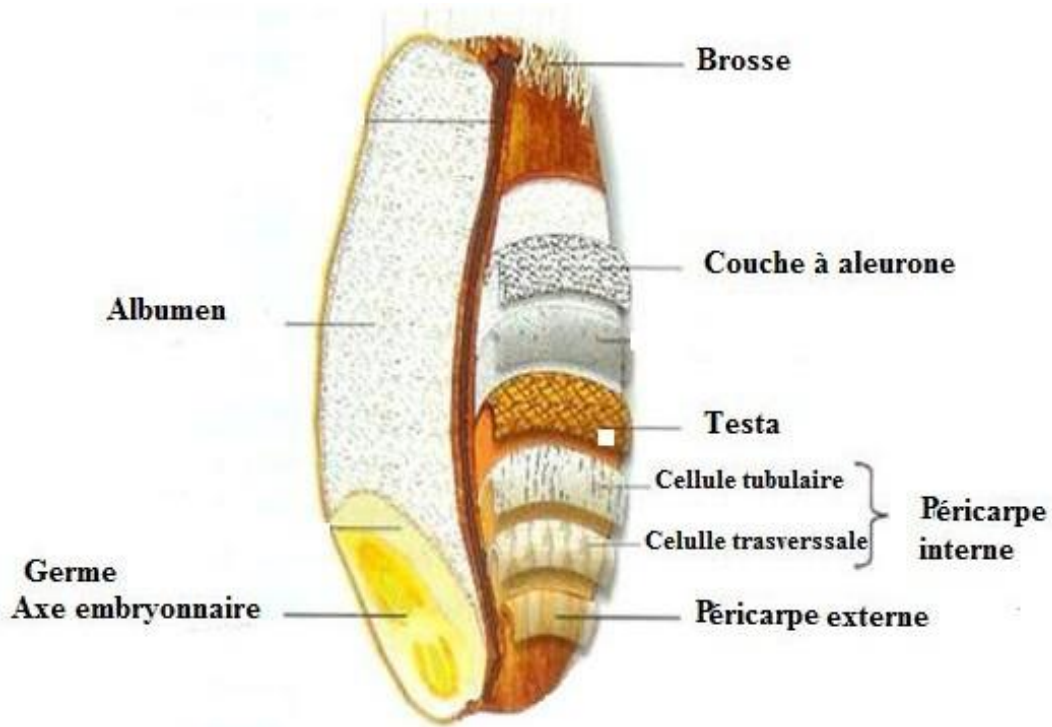


Figure 02 : Structure du grain de blé D'après (Surget et Barron, 2005).

#### 1.4. Origine du blé

Le blé constitue le genre *Triticum* qui comporte de nombreuses espèces, se répartissant en trois groupes selon leur nombre de chromosomes (**Allioui N, 1997**).

Le groupe Diploïde : ( $2n=14$  chromosomes) ou *triticum monococcum* : Le foyer Syrien et Nord palestinien.

Le groupe Tétraploïde : ( $2n = 28$  chromosomes) ou *triticum dicoccum* (Amidonier), ici on trouve *Triticum durum* (blé dur). Le foyer Abyssin.

Le groupe Héxaploïde ( $2n = 42$  chromosomes) ou *triticum sativum*. Le foyer Afghano-Indien.

#### 1.5. Composition histologique

La composition des différentes parties d'un grain de blé dépend d'un certain nombre de facteurs tels que le climat, la variété du blé, la nature du sol et de la semence, et les techniques culturelles (**Selselet A, 1991**).

Le grain de blé se compose d'un certain nombre de tissus des structures et des compositions particulières (**Hemery Y et al., 2007**). Cependant, on distingue de la surface externe vers le centre du grain ; l'enveloppe du fruit ou péricarpe, puis l'enveloppe de la graine ou testa, et enfin à l'intérieur de la graine, la bande hyaline, l'albumen et le germe (**Barron C et al., 2005**) (Figure1).

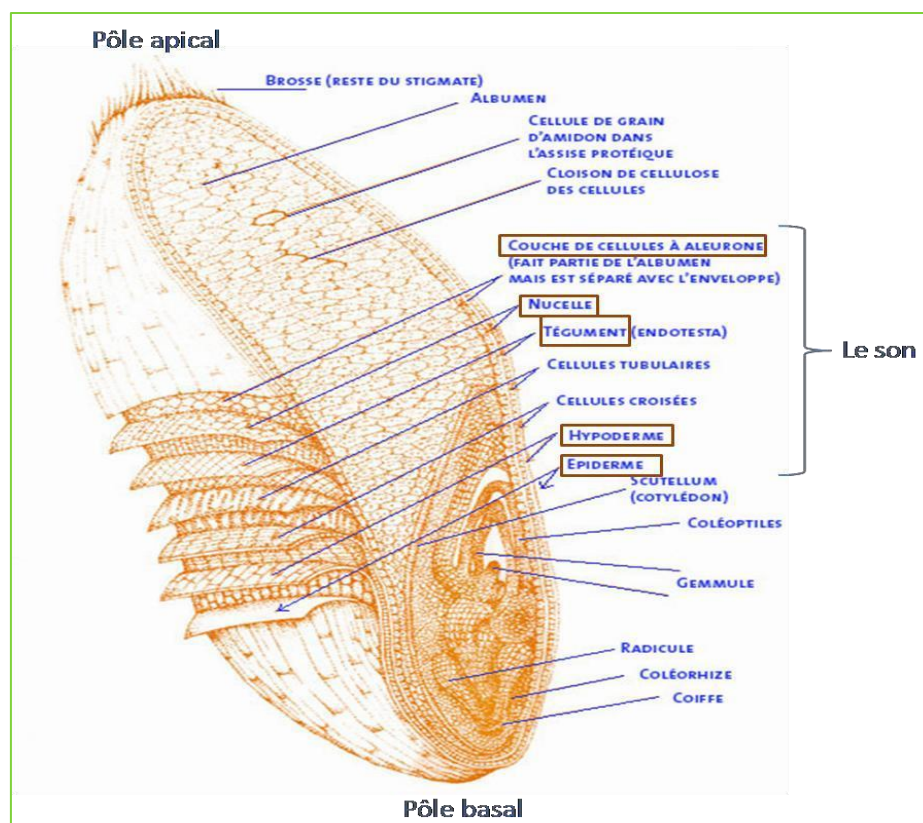


Figure 03 : Coupe longitudinale d'un grain de blé (Pomeranz D, 1987)

## 1.6. Composition biochimique

### 1.6.1. Les glucides

Les glucides présentent 60 à 80 % de la matière sèche du grain de blé. L'amidon est le glucide principal trouvé dans l'albumen, les sucres (oses, dioses et trioses) sont présents dans le germe, et les glucides des enveloppes sont principalement, la cellulose et l'hémicellulose et les pentosanes (Dunford NT, 2012) (Tableau 1).

### 1.6.2. Les protéines

Le blé est considéré comme une source importante de protéines pour l'alimentation humaine (Battais F *et al.*, 2007). Les protéines de réserve représentent 80 à 95 % des protéines du blé et forment ensemble le gluten ; le reste est constitué par d'autres types de protéines (Roudaut H et Lefranc E, 2005).

### 1.6.2.1. Les protéines métaboliques

Les albumines et globulines sont solubles dans l'eau et dans les solutions salines, elles représentent 15 à 20 % des protéines présentes dans la farine de blé. Ce groupe de protéines est très diversifié par ses propriétés physicochimiques. Ces protéines participent à la formation du grain et à l'accumulation des réserves dans l'albumen **(Vensel W Het al., 2005)**.

### 1.6.2.2 Les protéines de réserves

Elles font partie des prolamines et sont constituées par un mélange complexe de protéines. Les prolamines regroupent d'une part les protéines monomériques (les gliadines) qui sont solubles dans une solution eau / éthanol et d'autre part les protéines polymériques (les gluténines) qui sont partiellement solubles dans les solutions diluées d'acide et dans certains détergents **(Osborne T B, 1924)**

### 1.6.3 Les lipides

Les lipides sont peu abondants et inégalement distribués dans le grain, 8-11 % d'eux sont présents surtout au niveau du germe. Les principales matières grasses du blé sont des acides gras insaturés, des glycérides simples des glycolipides et des phospholipides **(Feillet P, 2000)**.

## Autres composants

### 1.6.4. L'eau

Le grain de blé est naturellement un peu hydraté, sa teneur en eau varie avec le taux d'humidité de l'air. L'équilibre se situe entre 13 et 15 %. Du point de vue chimique et physique, son action solvant favorise les réactions enzymatiques et les attaques microbiennes **(Feillet P, 2000)**.

**Tableau 1 : Distribution des glucides dans les fractions de blé (g/100 grs) (Manay, 2001).**

Glucides	Albumen	Germe	Enveloppes
Amidon	95,8	31,5	14,1
Sucres	1,5	36,4	7,6
Cellulose	0,3	16,8	35,2
Hémicellulose	2,4	15,3	43,1

**Tableau 2 : Composition chimique d'un grain de blé (Feillet P, 2000).**

	Eau (%)	Glucides (%)	Matière protéique	Matière gras	Matière minéral
Blé entier	13	68-72	10	1,5-2	1,7-2,1
Enveloppe	13	65-68	17-19	4-5	6-7
Amande farineuse	13	74-76	9-12	0,7-1	0,4-0,5
Germe	13	37-43	22-32	15-18	4-5

### 1.6.5. Les vitamines et les minéraux

Les grains renferment une quantité importante de vitamines du groupe B à l'exception de la vitamine B12. La teneur en vitamines liposolubles des gains est faible. Les grains sont dépourvus de vitamines D et A. Seul le germe présente une richesse relative en vitamine E (Vierling E, 2008) (Tableau 3).

Les minéraux formant une petite partie du grain de blé, et en proportion encore plus faible dans l'album en moins de 1 %. Le blé contient du fer, du magnésium, du Manganèse, du



Cuivre et du zinc. Ces constituants sont distribués principalement dans les couches extérieures et dans le germe (Manay et Shadaksharaswamy, 2001) (Tableau 4).

**Tableau 3 :** Distribution de la vitamine du groupe B (g / 100 grs) dans les différentes parties du grain de blé (Manay et Shadaksharaswamy, 2001).

	Thiamine (B1)	Niacine (B3)	Riboflavine (B2)	Acide pantothénique
Péricarpe, Testa, bande	1	4	5	8
Couche à aleurone	31	84	37	39
Albumen	3	11.5	32	41
Scutellum	62.5	1	14	4
Embryon	2	1	12	3.5

**Tableau 4 :** Eléments minéraux du grain de blé (Matz, 1991).

	Grain entier	Germe	Albumen	Couche à aleurone
Total (%)	0,42	1,66	0,11	1,39
Zn (ppm)	40,4	222	14,1	119
Fe (ppm)	54,6	235	21,5	186
Mn (ppm)	56,4	402	8,80	130
Cu (ppm)	4,25	18	2,8	12
Ca (ppm)	335	1760	173	730
Mg (%)	0,15	0,54	0,02	0,58
K (%)	0,37	0,91	0,12	1,10

### 1.6.6. Les enzymes

Les enzymes des grains de blé sont des protéines qui exercent une activité catalytique spécifique d'un très grand nombre de réactions chimiques. Leur fonctionnement est contrôlé par des principaux facteurs du milieu tels que la température, le pH et l'activité de l'eau (**Feillet P, 2000**).

### 1.6.7. Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires que les plantes produisent pour se protéger contre d'autres organismes (**Tsao R, 2010**). Ils ont en commun un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyle. Ils comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, et lignines (**Martin S et Andrantsitohaina R, 2002**).

## 1.7. Le cycle de développement

Toutes les graminées ont un rythme de végétation et de fructification annuel ; dans ce cycle une série d'étapes séparées par des stades, permettant de diviser en deux périodes la vie des céréales (**Soltner D, 2005 ; Prats J et Grandcourt M C, 1971 ; Hadria R, 2006**).

### 1.7.1. La période végétative

**La germination** : Correspond à l'entrée de la semence en vie active et au tout début de croissance de l'embryon.

**La levée** : Cette période est caractérisée par le nombre de feuilles de la jeune plante et leur stade de développement (**Giban M et al., 2003**).

**Le tallage** : Le début du tallage est marqué par l'apparition de l'extrémité de la première feuille de la talle latérale puis d'autres talles naissent successivement, formant un plateau de tallage situé juste au niveau du sol. La fin du tallage est la fin de la période végétative. Elle marque le début de la phase reproductive (**Hadria R, 2006**).

### 1.7.2. La période reproductive

**La montaison** : Ce stade est repérable une fois l'ébauche de l'épi du brin naître, atteint 1cm de hauteur. Cette phase s'achève une fois l'épi prend sa forme définitive à l'intérieur de la gaine de la feuille étendard qui gonfle (stade gonflement) (**Gates, 1995; Giban M et al., 2003**).

**L'épiaison** : Est la période allant de l'apparition des premiers épis jusqu'à la sortie complète de tous les épis hors de la gaine de la dernière feuille (**Giban M et al., 2003**).

**La floraison** : Est la sortie des premières étamines hors des épillets au milieu de l'épi sur 50% des épis. La formation du grain se fait quand les grains du tiers moyen de l'épi parviennent à la moitié de leur développement. Ils se développent en deux stades: 1-Le stade laiteux où le grain vert clair, d'un contenu laiteux atteint cette dimension définitive ; (le grain contient encore 50% d'humidité et le stockage des protéines touche à sa fin).

2-Le stade pâteux où le grain, d'un vert jaune, s'écrase facilement (le grain a perdu son humidité et l'amidon a été constitué).

**La maturité complète** : La teneur en humidité atteint environ 20% ; le grain est mûr et prêt à être récolté. C'est alors la période des moissons.

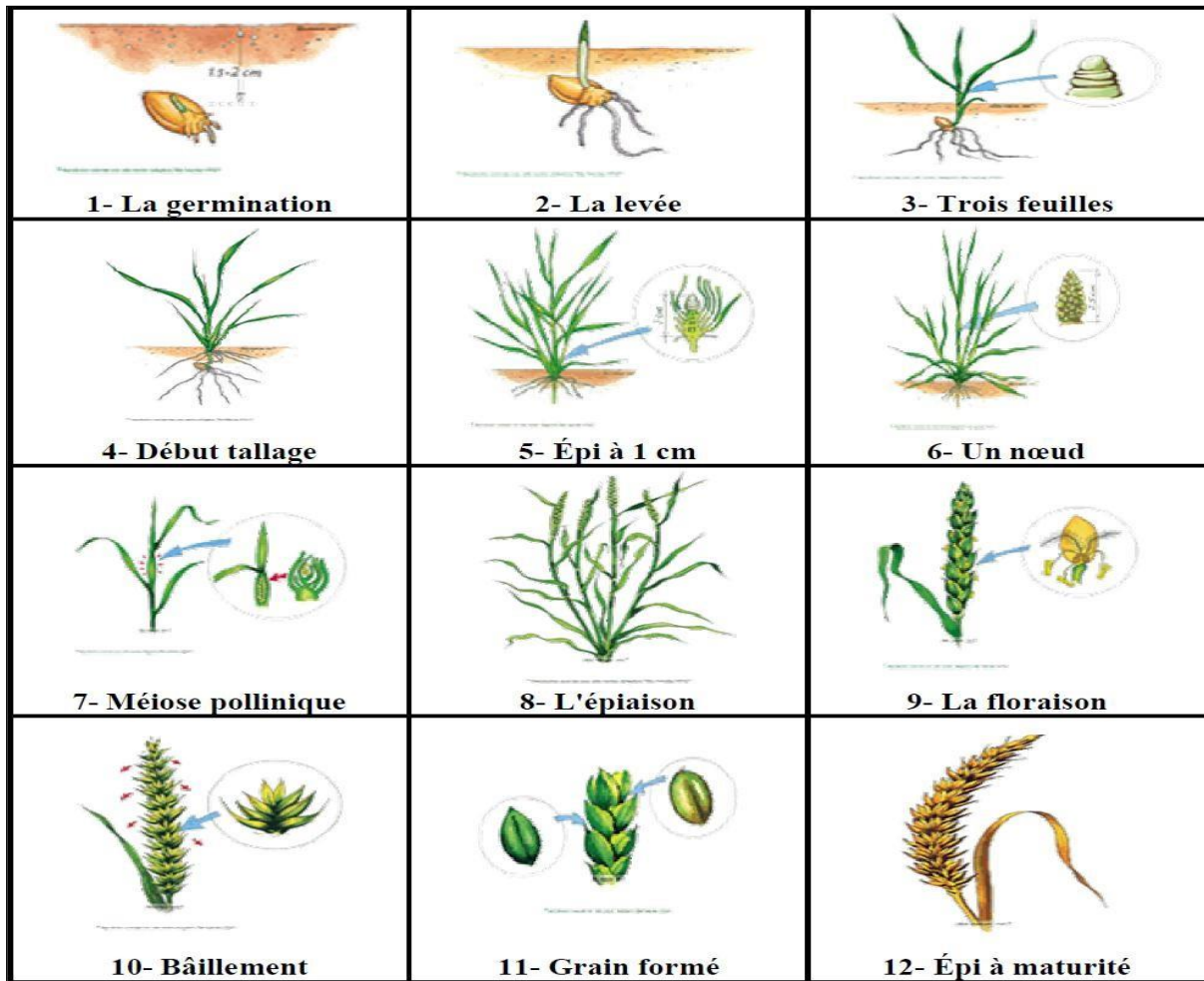


Figure 04 : Les stades repèrent de la vie du blé. D'après (Hadria R, 2006).

## 1.8. Fermentation du blé

### 1.8.1. Blé fermenté

Dans « el matmora », la fermentation du blé est un phénomène naturel causé par les conditions de stockage, notamment par l'humidité suite aux fortes pluies qui favorisent l'infiltration de l'eau dans les parois « el matmora », l'augmentation progressive de la température en raison de la fermentation du blé et la faible présence d'air. Les phénomènes de fermentation d'origine microbienne peuvent durer plusieurs années ( $\leq$  neuf années). Le goût du blé fermenté est entré dans les habitudes alimentaires pour la fabrication de pain de blé fermenté ou de couscous « lemzeiet », « elmechroub » ou encore

« Hamoum » (**Mokhtari k et al., 2012**). Ce blé est caractérisé par une variété de saveurs, de textures et d'arômes particuliers très convoités par les consommateurs des régions spécifiques (**Bekhouche F et al., 2013**).

### 1.8.2. Effet de la fermentation

Les principales céréales utilisées comme matière première au cours des fermentations lactiques en Afrique de l'Ouest sont : le maïs, le sorgho et le mil. Ces produits essentiellement en des pâtes ou purées et des bouillies non-alcoolisées.

La pâte de maïs fermentée, l'une des plus populaires aliments amylicés et fermentés, est utilisée au cours de la préparation d'une grande variété de plats comme aliment de base au : Ghana, Nigéria, Togo et Bénin, où ils constituent une proportion importante de la ration alimentaire quotidienne. La pâte de maïs fermentée obtenue après une fermentation spontanée se caractérise par une teneur en humidité de 50 % et un pH final de 3,7 (**Yao A et al., 2009**).

Des bactéries lactiques, des levures et des moisissures ont été identifiées comme les principaux micro-organismes se développant au cours de la fermentation.

## Chapitre II

### *Les levures dans les aliments fermenté*

## 1. fermentation du blé dure

### 1.1. Importance de la fermentation des céréales

La fermentation des aliments, dans une grande partie de l'histoire humaine, a été le moyen le plus commun de conservation des produits périssables. Elle contribue à plusieurs avantages comme l'ajout de nouveaux goûts, de saveurs, d'arômes et de textures. Elle permet également l'amélioration de la valeur nutritionnelle des aliments, l'augmentation de leur digestibilité, la production de vitamines, l'élimination de substances toxiques et la diminution de l'énergie et du temps de cuisson (**Kamal-Eldin A, 2012b**).

### 1.2. La fermentation du blé

La fermentation est considérée comme l'un des procédés le plus ancien et le plus économique pour la conservation des aliments, particulièrement dans les pays tropicaux où les fortes températures combinées aux niveaux élevés d'humidité favorisent la fermentation spontanée (**Nout MJ, 2009**), il peut y avoir une ou plusieurs étapes de fermentation allant de quelques heures à plusieurs mois selon l'aliment (**Prückler M et al., 2015**).

#### 1.2.1. Les aliments fermentés

Les aliments fermentés sont très variés et nombreux. Ces aliments sont le plus souvent d'origine laitière et les principales bactéries impliquées dans leur fermentation sont les bactéries lactiques (**Songre Ouattara LT et al., 2008 ; Djermoun A, 2009 ; Yao A et al., 2009**).

#### 1.2.2. Le blé fermenté traditionnel

Les aliments fermentés traditionnels sont très divers. Même si l'on se limite au continent Africain on constate que les matières premières sont également très variables et comprennent des céréales (blé, mil, maïs, riz, sorgho), des racines (manioc, taro), des légumes secs (haricot, pois chiche, graine de soja), mais également les graines de cacao ou les grains de café. Ils sont consommés sous forme

de couscous, boissons, bouillies, soupes etc. (Paul R *et al.*, 2002 ; Carine *et al.*, 2009).

De plus, il a été montré que les aliments à base de céréales leurs microbiote est dominé par des bactéries lactiques associées à des levures présentes en moindre proportion. Contrairement aux autres types d'aliments fermentés, comme ceux à base de légumineuses la microflore dominante est constituée de bactéries du genre *Bacillus* qui réalisent une fermentation alcaline (Ouoba L *et al.*, 2005).

Dans « el matmora », la fermentation du blé est un phénomène naturel causé par les conditions de stockage, notamment par l'humidité suite aux fortes pluies qui favorisent l'infiltration de l'eau dans les parois « el matmora », l'augmentation progressive de la température en raison de la fermentation du blé et la faible présence d'air. Les phénomènes de fermentation d'origine microbienne peuvent durer plusieurs années ( $\leq$  neuf années). Le goût du blé fermenté est entré dans les habitudes alimentaires pour la fabrication de pain de blé fermenté ou de couscous « lemzeiet », « elmechroub » ou encore « Hamoum » (Mokhtari K, 2012). Ce blé est caractérisé par une variété de saveurs, de textures et d'arômes particuliers très convoités par les consommateurs des régions spécifiques (Bekhouche F *et al.*, 2013).

Blé fermenté Hamoum (BFH) (figure 5) est un produit alimentaire riche en flore bénéfique. Sa microflore a été analysée afin d'apprécier sa qualité microbiologique en termes de microorganismes bénéfiques et de potentiel pathogène (Drabo M D *et al.*, 2019).



Figure 5 : Aspect de blé fermenté (Bekhouche *et al.* ; 2013).



### 1.2.3. Catégories et technologies de la fermentation des céréales

La plus grande partie des aliments à base de céréales est soumise à des processus de fermentation, qui ont lieu, au moins à une étape de leur élaboration. Les céréales ; le blé, le seigle, le riz, le maïs, l'orge, l'avoine, le sorgho et le millet sont fermentées en divers produits dans différentes régions du monde. Ils existent trois modèles de fermentation des céréales réalisés en milieux solide, liquide et semi-solide avec ajout préalable ou non de starter. Les produits fermentés qui en résultent sont généralement classés en trois catégories : pain ou pâteau levain, bouillies et boissons (alcoolisées et non alcoolisées) **(Blandino A et al., 2003 ; Tamang J P, 2010c) :**

- En milieu solide, la matière première (état solide) est le seul ingrédient dans le milieu
- En milieu liquide, la matière première est immergée dans l'eau ;
- En milieu semi-solide, la matière première est simplement humidifiée.

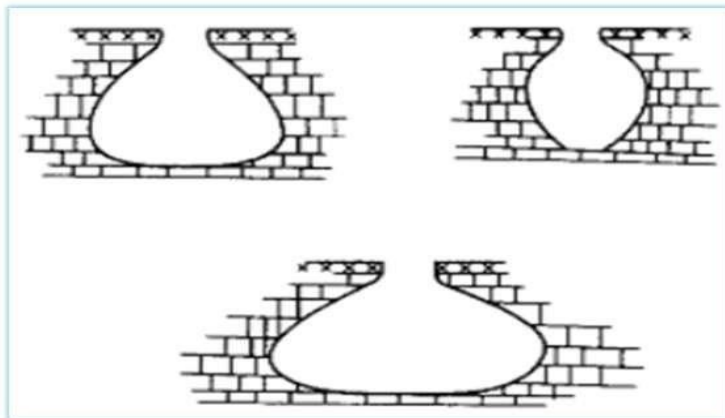
Les activités hydrolytiques du grain et des microorganismes contaminants sont l'origine de toutes les fermentations des céréales. En présence d'eau, ces microorganismes sont métaboliquement actifs et les organismes les plus compétitifs dominent le processus (BL et levures). La gestion des activités hydrolytiques nécessaires pour obtenir les glucides fermentescibles, nécessite des technologies traditionnelles spécifiques qui ont évolué dans l'histoire. Quatre technologies de base existent dont l'importance varie selon les régions à travers le monde **(Hammes W P et al., 2005) :**

- Le maltage (activités endogènes non microbiennes).
- L'utilisation de starters mixtes d'origine ethnique.
- Les pâtes fermentées (pâte au levain ou bouillie).
- L'utilisation des activités enzymatiques externes (exemple de la *Chicha*).

### 1.3. Stockage de blé

A travers l'histoire, le stockage des grains des blés a fourni à des humains un amortisseur contre l'échec et la famine de récolte (**Druvefors U A, 2004**). L'exemple de prophète Youssef en Egypte pendant les sept années dans le Saint Coran : « Envoyez-moi donc voir Joseph » Joseph, le véridique, informe-nous ou sujet de sept vaches grasses mangées par sept vaches maigres, et sept épis verts et autant d'autres, secs, afin que je retourne aux gens pour qu'ils soient informés. » Joseph dit alors : « vous sèmerez pendant sept années consécutives. Tout ce que vous avez moissonné, laissez-le en épi, sauf le peu que vous consommer. »

Viendront ensuite sept années de disette qui consommeront tout ce que vous aurez amassé pour elles, sauf le peu que vous aurez réservé. Puis viendra après cela une année où les gens recevront la pluie et iront au pressoir ». L'évidence archéologique indique que le grain a été cultivé et stocké en vrac depuis 7.000 ans (**Roberts, 1980 et Reed, 1992**).



**Figure 06** : Formes typiques de « matmora ». (**Bartali E H, 1987**)

### 1.4. Systèmes de stockage traditionnels « Matmora »

L'homme fait des efforts pour améliorer les conditions de stockage depuis, Matmoras jusqu'aux silos modernes. Le stockage de blé dans « Matmoras » est une technique archaïque peut être encore utilisée dans certaines régions isolées. Elle est assez répandue à l'Algérie, le paysan algérien, sur les hauts plateaux, conservait le produit de ses champs de blé, dans des enceintes creusées dans un sol argileux sous forme

sphérique tronconique, généralement à un endroit surélevé ou proche de la ferme. C'est ce qu'on appelle « matmora ».

La capacité de ces lieux de stockage est variable (**Bartali EH et al., 1994**). L'inconvénient majeur de cette méthode de stockage, est la trop forte humidité et les eaux d'infiltration qui favorisent le développement des microorganismes et les phénomènes de fermentation bactérienne (**Doumandji A et al., 2003**).

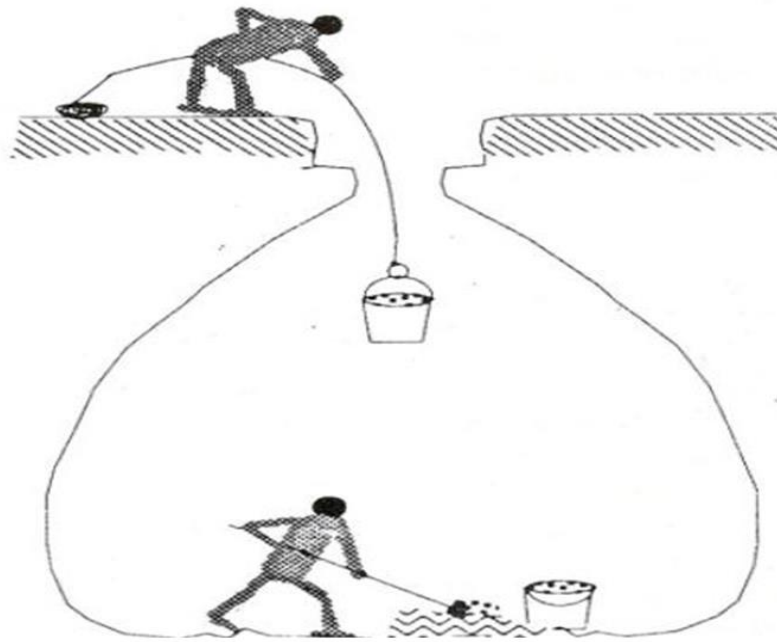


Figure 07 : Préparation d'une Matmora souterraine (Bartali E Het al., 1994).

#### 1.4.1. La face cachée de Matmora

Le blé comme tout matériel biologique à l'état de vie subit une évolution physiologique qui peut avoir des effets bénéfiques sur sa valeur d'utilisation. Les grains du blé comportent des parties vivantes, germe, assise protéique se trouvant à l'état de vie ralentie à s'accélérer dans un milieu favorable (**Feillet P, 2000**). Les manifestations vitales des grains sont de deux ordres : En aérobiose : Respiration active le dégagement de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; et énergie et en anaérobiose : Conduisent à des fermentations intracellulaires en conférant aux grains une odeur caractéristique (**Molinié A et Pfohl-Leszkowicz A, 2003**).

A la campagne et au mois de Septembre, les grains de blé sont versés dans la matmoras, par la suite, de l'eau est versée abondamment, jusqu'à ce qu'il y ait une marre

d'eau au-dessus de chacune. Au fil des jours et suite à l'exposition au soleil, l'eau s'évapore et le blé se fermente, par conséquent, la vapeur qui se dégage de matmoras devient visible. La fermentation est possible grâce à la présence de bactéries en faible nombre sur les graines de blé (quelques milliers) ; Des champignons et bactéries résident dans leur capacité à transformer et à créer des molécules indispensables à l'être humain.

La fermentation des céréales est afin d'obtenir un mélange riche en levures, bactéries et substances secondaires, utilisables très intéressant d'un point de vue de santé. Il s'agit d'une fermentation lactique, qui est un procédé totalement naturel permettant d'augmenter la teneur en nutriments d'un aliment fermenté. C'est à ce stade-là que le blé est retiré, les grains contiennent une substance ressemblant au lait, elles ont un goût acide, avec un aspect métadiné non vitraux plus aux mois échaudés.

Ce produit appelé « Hamoum ». Elles sont séchées au soleil pendant des jours jusqu'à ce qu'elles deviennent dures. Après cela, elles sont broyées et peuvent être utilisées pour la préparation d'un genre particulier de grains de couscous, qui est le « Couscous el Hamoum» ou « couscous noir » au blé fermenté qui est un plat traditionnel. Ce dernier a deux particularités : un goût un peu acide, et une forte odeur qui s'y dégage quand on le passe à la vapeur.

#### **1.4.2. Caractéristiques fermentaires des ensilages**

Dès sa mise en silo, le blé subit un certain nombre de transformations dont les plus importantes sont :

La dégradation par les enzymes de la graine d'une fraction plus ou moins importante des protéines jusqu'au stade acides aminés, la protéolyse étant d'autant plus importante que la diminution du pH est lente. Les acides aminés sont ensuite dégradés en ammoniac par la flore de l'ensilage (**Gouet P H et Fatianoff N et al., 1965**). La transformation par les microorganismes qui se développent dans l'ensilage de la totalité ou presque, des glucides fermentescibles du blé, c'est-à-dire essentiellement des glucides solubles, en acide lactique, acide gras volatils et alcool.

Les caractéristiques fermentaires de l'ensilage c'est à dire le pH et les produits formés au cours de la conservation permettent de juger de la qualité de conservation elles peuvent être très variables. Elles dépendent en effet de la composition de la graine de blé par l'intermédiaire de sa teneur en eau, de sa teneur en glucides fermentescibles et surtout de son pouvoir tampon **(Andrieu J et Demarquilly C, 1980)**.

L'ammoniac résulte de la désamination des acides aminés avec parallèlement formation d'acides gras volatils, Il est toujours présent dans les ensilages par suite de l'activité des bactéries coliforme qui sont les premiers microorganismes à se développés dans l'ensilage et aussi la flore lactique qui peut désaminer la sérine et l'arginine **(Donald K Wet al., 1966)**.

Sa présence en proportion supérieure à 7-8 % indique cependant un développement de la flore butyrique protéolytique avec parallèlement une augmentation de la teneur en azote soluble. L'acide acétique est lui aussi toujours présent dans l'ensilage puisqu'il résulte de l'activité des bactéries lactiques hétérofermentaire **(Robert J, 1980)**.

Les polyholosides des membranes sont dégradés dans une proportion et à une vitesse, qui est toujours plus faible que pour les glucides solubles, mais cependant très variables, de façon schématique, on peut dire que seuls les tissus cellulosiques sont dégradés. Tout cela tient en bonne partie au fait que les bactéries cellulosiques doivent venir au contact des structures membranaires pour les dégrader, par ce que leurs enzymes sont fixés à l'extérieur de leurs enveloppes et diffusent peu **(Andrieu J et Demarquilly C, 1980)**.

## 1.5. Les effets des microorganismes de sol :

### 1.5.1. Modifications visuelles du blé

#### 1.5.1.1. Germination

La diminution de la germination se produit lorsque les champignons de stockage envahissent le germe ou l'embryon du grain. Ce dernier affaiblit et meurt lorsque les champignons de stockage l'attaquent pour utiliser ses huiles et d'autres nutriments (**Heredia N et al., 2009**). Cette réduction est influencée par la teneur en humidité des grains, la température de stockage, l'espèce de microflore impliquée et la durée de stockage (**Bose S, 2008**).

#### 1.5.1.2. Décoloration

La décoloration peut être causée par les champignons de champ et de stockage et peut entraîner un noircissement du germe de blé (**Heredia N et al., 2009**). Les moisissures des champs peuvent induire une décoloration des grains de blé, connue sous le nom (point noir ou tache du noyau) entraînant l'échaudage des grains et l'affaiblissement ou la mort des embryons Christensen, 19).

Les moisissures de stockage provoquent une décoloration sévère des grains, *Aspergillus glaucus* provoque la décoloration du germe ; *Aspergillus candidus* peut se reproduire dans le blé à une teneur en eau de 15-15,5% entraîne la décoloration de l'ensemble du grain. *Aspergillus flavus* se développe dans le blé entreposé à une teneur en eau supérieure à 18-18,5% et provoque une décoloration rapide du germe et du grain entier. Les problèmes du genre *Penicillium* qui exigent des teneurs en eau relativement élevées peuvent causer la décoloration du grain (**Brooker D Bet al., 1992**).

#### 1.5.1.3. Odeur

La contamination fongique des grains de blé est responsable du rejet des odeurs indésirables. Il a été constaté que les grains stockés à des conditions d'humidité élevées ont une odeur de moisi (**Mathew C G, 2010**).

## 1.5.2. Modifications biochimiques du blé

Au cours du stockage du blé, de nombreux changements biochimiques peuvent se produire et provoquer une diminution de la valeur nutritive du produit stocké en attaquant les glucides, les protéines les lèbres, (**Jour U, 2009**).

### 1.5.2.1. Dégradation des lipides

Les lipides des grains et notamment les triglycérides sont particulièrement sensibles à la dégradation par les microorganismes. Les triglycérides sont hydrolysés en glycérols et en acides gras grâce à des enzymes appelés lipases, que l'on rencontre chez les moisissures (*Rhizopus*, *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Penicillium*), (les bactérie et levures) Les acides gras sont dégradés chez les microorganismes aérobies et aéroanaérobies (*Pseudomonas*, *Enterobactéries*, levures, moisissures ...) par la B - oxydation (**Guiraud J P, 2003**).

L'évolution de l'acidité grasse est une des manifestations les plus sensibles des modifications biochimiques que subissent le blé au cours du stockage (**Feillet P, 2000**).

### 1.5.2.2. Dégradation des glucides

Les grains de blé se composent d'environ 60-80% de glucides (**Dunford N T, 2012**) qui comprennent à la fois des saccharides fonctionnels et des saccharides de stockage cellulaire, la plupart sous forme de polysaccharides ne sont pas directement assimilables par les microorganismes et ont besoin de l'intervention d'enzymes extracellulaires (amylases et cellulases). La dégradation de la cellulose est assez rare et se limite à quelques fragments et bactéries.

L'amidon est hydrolysé par l'action d'amylases présentes dans les grains et l'amylase fongique et quelques bactéries et levures, cette dégradation fait intervenir des types d'enzymes selon l'espèce : formation de maltose et d'une petite quantité de maltodextrine (*Bacillus*, nombreuses molécules, quelques levures), gluco-amylase qui libère des unités glucose à partir des fins des levés réduits non levés B-amylase qui a une action de type exomoléculaire donnant du maltose et des dextrines (*Bacillus*,

levures et bactéries). Le glucose ainsi formé est utilisé par les champignons comme source d'énergie ou pour la production du sucre ribose utilisé pour la synthèse d'acide nucléique **(Guiraud JP, 2003 ; Narayanasamy P, 2006 ; Bauer J et al., 2010)**.

#### 1.5.2.3 Dégradation des protéines

L'hydrolyse des protéines en polypeptides et en acides aminés assimilables par les microorganismes ne se fait que très lentement dans les conditions de stockage **(Multon K, 1982)**.

La plupart des protéases microbiennes sont spécifiques. Elles agissent aussi bien sur les protéines que sur les oligopeptides, il s'agit des enzymes généralement exocellulaires **(Guiraud JP, 2003)**.

### 1.6. Bactéries lactiques impliquées dans la fermentation des blé dure

Les BL, spécifiquement adaptées, jouent un rôle important dans la Fermentations des céréales. Leur dominance dans les écosystèmes alimentaires diffère selon les pratiques traditionnelles de préparation. La variation des technologies de production et des paramètres tels que la nature des céréales, la température, et la durée de propagation, agissent sur leur diversité et sur l'implication d'une fermentation alcoolique, ou non, menée par les levures. **(Hammes W P et al., 2005)**.

Les pâtes aux levains qui sont des écosystèmes biologiques très complexes, principalement influencés par la composition et les interactions entre les processus de panification et les ingrédients, représentent des niches alimentaires très particulières dont la majorité des espèces isolées régulièrement appartiennent, à quelques exceptions près, aux genres de *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, et *Weissella* **(Guyot JP, 2010)**.



Le plus grand nombre d'espèces identifiées (> 60 espèces) sont des lactobacilles, du fait de leur métabolisme des glucides hautement adapté (par exemple, la capacité de fermentation du maltose de *L. fermentum*, *L. reuteri* et *L. sanfranciscensis*), et leur réponse au stress (par exemple, la réponse au stress acide associée à la production de protéines de stress) **(De Vuyst I et al., 2014)**.

Les lactobacilles typiques des levains sont représentés par *L. sanfranciscensis*, *L. pontis*, *L. panis*, *L. paralimentarius*, *L. frumenti*, *L. spicheri*, *L. rossiae*, *L. zymae*, *L. acidifarinae*, *L. hammesii*, *L. nantensis*, et *L. mindensis*. Alors que les weissellas (*W. cibaria*, *W. confusa*), les pediococques (*P. acidilactici*, *P. pentosaceus*), et les leuconostokes (*Leu. Mesenteroides*, *Leu. Citreum*) sont moins prédominants dans les levains. Les lactocoques, les entérocoques et les streptocoques sont très minoritaires **(Chavan R S, 2011 ; De Vuyst I et al., 2014)**.

Les BL hétérofermentaires et homofermentaires généralement associées aux boissons et aliments fermentés à base de céréales autres que les pâtes aux levains traditionnels, appartiennent aux genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* et *Streptococcus*. Quelles que soient les méthodes d'investigation utilisées, il semble qu'il y ait un consensus général pour dire que les BL appartenant aux genres cités ci-dessus sont souvent isolées, et que *L. plantarum* et/ou *L. fermentum* sont souvent les espèces dominantes **(Blandino L et al., 2003 ; Guyot JP, 2010)**.

Les espèces du genre *Lactobacillus* ont été régulièrement isolées des aliments fermentés à base de céréales tels que *bushera* en Ouganda **(Muyanja BK et al., 2003)**, *togwa* en Tanzanie **(Mugula J Ket al., 2003)**, *Pozol* au Mexique **(Ampe F et al., 1999)**, *Mawé* au Togo et au Bénin **(Nout K, 2009)**, *hussuwa* au Soudan (Yousif et al., 2010), *poto* et *degué* dans la République du Congo **(Abriouel et al., 2006)**, et *koko* au Ghana **(Lei V and Jakobsen M, 2004)**.

Les lactobacilles forment le groupe dominant en association avec des coques ou coccobacilles appartenant principalement aux genres *Weissella*, *Pediococcus* et *Lactococcus*. Cependant, il Ya quelques aliments à base de céréales fermentées dans lesquels les coques sont dominants ou représentent une part importante du microbiote (**Guyot JP , 2010**).

## 1.7. Flore fongique et céréales fermentées

### 1.7.1. Propriétés et caractérisation de la flore fongique

Les champignons sont des organismes importants en raison de leur fonction dans les différents écosystèmes. Certaines espèces forment des symbioses mutualistes avec divers espèces de plantes, d'algues, et d'animaux. Les champignons sont également d'une grande importance économique. Ils ont été domestiqués pour une utilisation dans la production du fromage, en industrie pharmaceutique et en biotechnologique. D'autres espèces sont cultivées ou recueillies à l'usage alimentaire. Toutefois, les champignons causent plusieurs millions de dollars de dégâts chaque année par la détérioration des aliments (production de mycotoxines), la destruction des matériaux utilisés, et les maladies causées aux plantes, aux animaux et aux humains (**Foster M Sand Bills G F, 2004**).

Les mycètes constituent un groupe extrêmement vaste. Ce sont des organismes eucaryotes dont les cellules sont pourvues de paroi. Hétérotrophes, leur appareil végétatif est constitué d'un thalle porteur de spores et capables de reproduction sexuée et asexuée. Les champignons filamenteux ou moisissures ont des thalles pluricellulaires constitués d'un mycélium et d'organes de fructification. Les formes unicellulaires sont appelées des levures (**Botton M, 1990**).

Plusieurs étapes de caractérisation suivent l'isolement afin de différencier les mycètes les uns des autres. L'identification des moisissures repose encore en grande partie sur les caractéristiques macroscopiques et microscopiques (aspect et couleur du

thalle, morphologie des organes de reproduction), tandis que celle des levures elle repose sur l'étude du métabolisme glucidique ainsi que sur des critères morphologiques (filamentation, chlamydosporulation, type de bourgeonnement, présence d'une capsule) **(Guarro et al., 1999 ; Foster and Bills, 2004)**.

Lorsque les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques sont insuffisants pour identifier un champignon ; les analyses chimiques sont utilisées. Les méthodes chromatographiques et spectroscopiques permettent l'analyse qualitative et quantitative des métabolites et des composants de la membrane cellulaire (les polysaccharides, les lipides insaponifiables, les acides gras, et les substances volatils et non volatils). Cependant, les caractéristiques décrites ci-dessus ne peuvent pas suffire pour attribuer définitivement une souche à une espèce particulière. Aujourd'hui, le séquençage de l'ADNr, des espaceurs ITS et ETS (Internal/External transcribed spacer) ou encore de l'espace IGS (intergenic spacer), est largement utilisé dans l'identification moléculaire des mycètes **(Guarro et al., 1999)**

### 1.7.2 Flore fongique impliquée dans la fermentation des blé dure

Les levures font partie du microbiote de quelques aliments fermentés à base de céréales tels que *mawé*, *idli*, *puto*, *pozol* et les pâtes au levain **(Kofi and Nout, 2010)**.

Le pain au levain San Francisco, en est un exemple, où la levure *Saccharomyces cerevisiae* joue un rôle important dans la fermentation. La présence et la croissance d'autres espèces de levures ont été rapportées comprenant *Kazachstania exigua* [synonyme (syn.) *Saccharomyces exiguus* ; anamorphe *Candida (Torulopsis) holmii*], *Candida humilis* (syn. *Candida milleri*), *Pichia kudriavzevii* (syn. *Issatchenkia orientalis* ; anamorphe *Candida krusei*), *Torulaspota delbrueckii* (anamorphe *Candida colliculosa*), et *Wickerhamomyces anomalus* (syn. *Pichia anomala* et *Hansenula anomala* ; anamorphe *Candida pelliculosa*). Ces levures évoluent en présence des BL indigènes précédemment décrites comme *L. sanfranciscensis* (unique dans ces écosystèmes), *L. plantarum*, et diverses autres espèces de *Lactobacillus*, de *Leuconostoc*, et de *Pediococcus* **(De Vuyst et al., 2014)**

Les levures sont aussi intimement impliquées dans la production de toutes les boissons alcoolisées. Cette association dépend de la capacité de certaines espèces de levure à fermenter rapidement les sucres en éthanol et également leur capacité à tolérer une concentration d'éthanol de 15 à 20 % (v/v).

Les principales levures qui fermentent l'amidon des céréales saccharifiées, en alcool, sont *Saccharomyces fibuligera*, *Saccharomyces burtonii*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida lactosa*. D'autres levures des genres *Hansenula*, *Pichia* et *Torulopsis* sont également détectées dans certains starters amylolytiques et boissons fermentées (**Fleet, 1997 ; Tamang and Fleet, 2009**).

Par ailleurs, les levures sont fréquemment associées aux BL, en particulier lorsque le procédé conduit à des boissons alcoolisées acides.

*P. pentosaceus* et des espèces de *Lactobacillus* ont été rapportées comme dominantes dans des boissons alcoolisées en association avec des levures des espèces de *Saccharomyces* (**Jespersen, 2003**).

Les champignons filamenteux dans les aliments fermentés à base de céréales sont relativement limités et ne semblent pas avoir un rôle important dans le processus de fermentation. Ils sont surtout présents dans les aliments et les boissons fermentés asiatiques traditionnels préparés par des starters amylolytiques mixtes. Les espèces rapportées appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Mucor* et *Rhizopus* (**Tamang, 2010c**).

## Chapitre III

# *Effet nutritionnel de blé fermenté Et microbiote intestinale*

## 1. Effet nutritionnelle du blé fermenté :

La malnutrition protéique entraîne non seulement de lourdes déficiences sur la croissance pondérale mais affecte également la flore bactérienne intestinale et du colon. L'objectif de travail est de vérifier si le protocole de réalimentation avec un régime à base BFH, riche en nutriments essentiels a un impact sur le rétablissement de la flore bactérienne intestinale et du colon chez le rat malnutri en période de sevrage.

### 1.1 Microbiote intestinale

#### 1.1.1. Définition du microbiote intestinale

Le mot microbiote (du grec mikros : petit et bios : vie) désigne les espèces microscopiques qui prédominent et/ou sont durablement adaptées à la surface et à l'intérieur d'un organisme vivant. Microbiote dérive de l'anglais microbiota et remplace aujourd'hui les termes désuets de flore microbienne ou de microflore.

Le microbiote, est l'ensemble des micro-organismes non pathogènes dits commensaux, vivant dans un environnement spécifique appelé microbiome, chez un hôte qui peut être animal ou végétal ou une matière pouvant être elle-même d'origine animale ou végétale (**Burcelin *et al.*, 2016**).

Notre organisme est composé de plusieurs microbiotes, notamment au niveau de la peau, de la bouche et du vagin, mais le microbiote intestinal est le plus important d'entre eux, il représente l'ensemble des micro-organismes qui réside dans notre intestin (**Corthier, 2007**).

Les principaux micro-organismes qui composent le microbiote intestinal sont des bactéries, mais on y trouve aussi des archées, des virus et des champignons. Le microbiote se localise entre la lumière du tube digestif et le mucus présent à la surface de l'épithélium intestinal, il est présent tout au long du tube digestif mais sa concentration est maximale au niveau de l'intestin grêle et du côlon. Au total, un individu abrite dans son tractus intestinal  $10^{14}$  micro-organismes.

### 1.1.2. Composition du microbiote intestinal

La flore intestinale est constituée de diverses espèces bactériennes, sa composition varie le long du tube digestif (Gollado, 2009). (Figure 08)

Le nombre de micro-organismes constituant le microbiote intestinal est de l'ordre de  $10^{12}$  à  $10^{14}$  soit 2 à 10 fois plus que le nombre de cellules qui constituent notre corps, pour un poids de 2 kilos. (Paul B E *et al.*, 2005).

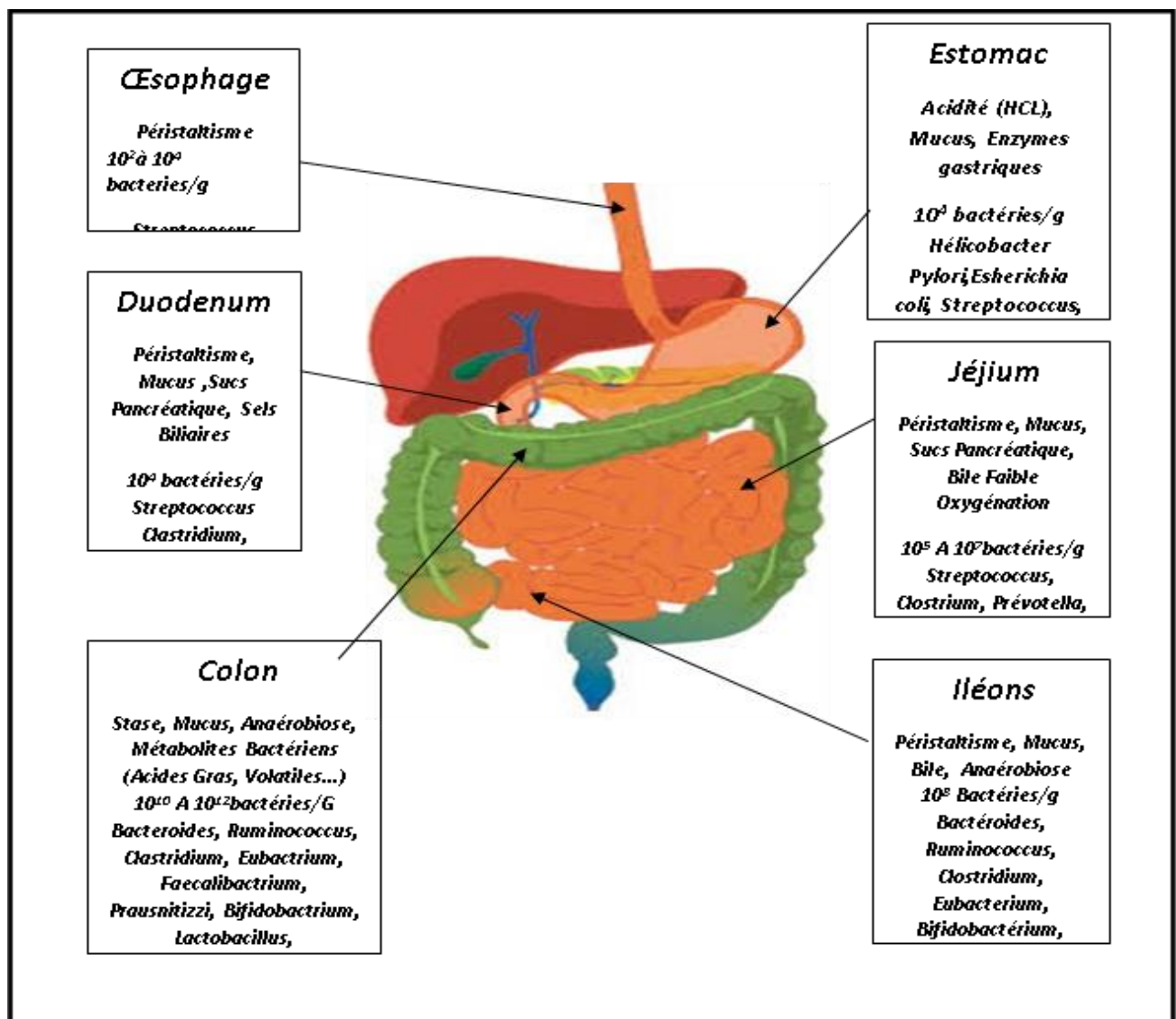


Figure 08 : Le microbiote du tractus digestif (Coudeyras et Forestier, 2010)

Cette figure illustre les principales espèces bactériennes et leurs proportions au cours du tractusgastro-intestinal.

La bouche présente de nombreux germes, il s'agit essentiellement de germes issus des aliments. L'œsophage possède une flore résidente constituée essentiellement de bactéries appartenant au Phylum des Firmicutes (*streptococcus*) et Bactéroïdes (*Prevotella*). **(Ley et al., 2006)**.

L'estomac, du fait de son acidité ne présente pas un grand nombre de germes, les plus caractéristiques sont les Proteobactéries avec majoritairement le genre *Helicobacter pylori* (notamment à l'origine des ulcères gastroduodénaux) mais également *Escherichia*, l'important péristaltisme de l'intestin grêle entraîne une diminution de la teneur en oxygène jusqu'à se retrouver en condition d'anaérobiose au niveau de l'iléon et du côlon parallèlement le nombre de bactéries s'intensifie. Le plus grand nombre de bactéries se retrouve au niveau du côlon (de  $10^{10}$  à  $10^{12}$  CFU/g de contenu), cela représente 70% des microorganismes du corps humain **(Ley et al., 2006)**.

Le côlon présente majoritairement les phylums Firmicutes (genre *Clostridium*, *Eubacterium* et *Ruminococcus*) et Bacteroïdètes (genre *Bacteroïdes*), on trouve également les phylums Actinobacteria (genre *Bifidobacterium*) et Proteobacteria (famille des enterobactéries). **(Paul B E et al., 2005)**.

Le plus grand facteur de variabilité de la composition de la flore intestinale est l'individu lui-même **(Paul B Eckburg et al., 2005)**. Chez un individu donné, la flore peut varier selon l'alimentation et l'âge **(O'hara et Shanahan, 2006)**.



### 1.1.3. Les fonctions du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal exerce de nombreuses fonctions physiologiques dont les répercussions pour l'hôte sont, pour la plupart, bénéfiques.

Parmi les grandes fonctions du microbiote, la fermentation des substrats disponibles au niveau du côlon, le rôle de barrière à la colonisation par les micro-organismes pathogènes, le développement et la maturation du système immunitaire intestinal et les interactions avec les cellules épithéliales ont des rôles essentiels pour le maintien de la santé de l'hôte. Le microbiote intestinal doit ainsi être considéré dans son contexte environnemental, incluant l'hôte et l'aliment, les interrelations entre ces différents constituants assurent l'homéostasie de l'écosystème microbien digestif, toute rupture de l'équilibre entre ces constituants est susceptible de perturber le fonctionnement de l'écosystème et d'être à l'origine de pathologies digestives (fonctionnelles, inflammatoires, infectieuses). **(Gérard et Bernalier-Donadille, 2007).**

La Figure 09 ci-dessous représente les trois grandes fonctions du métabolite intestinal.

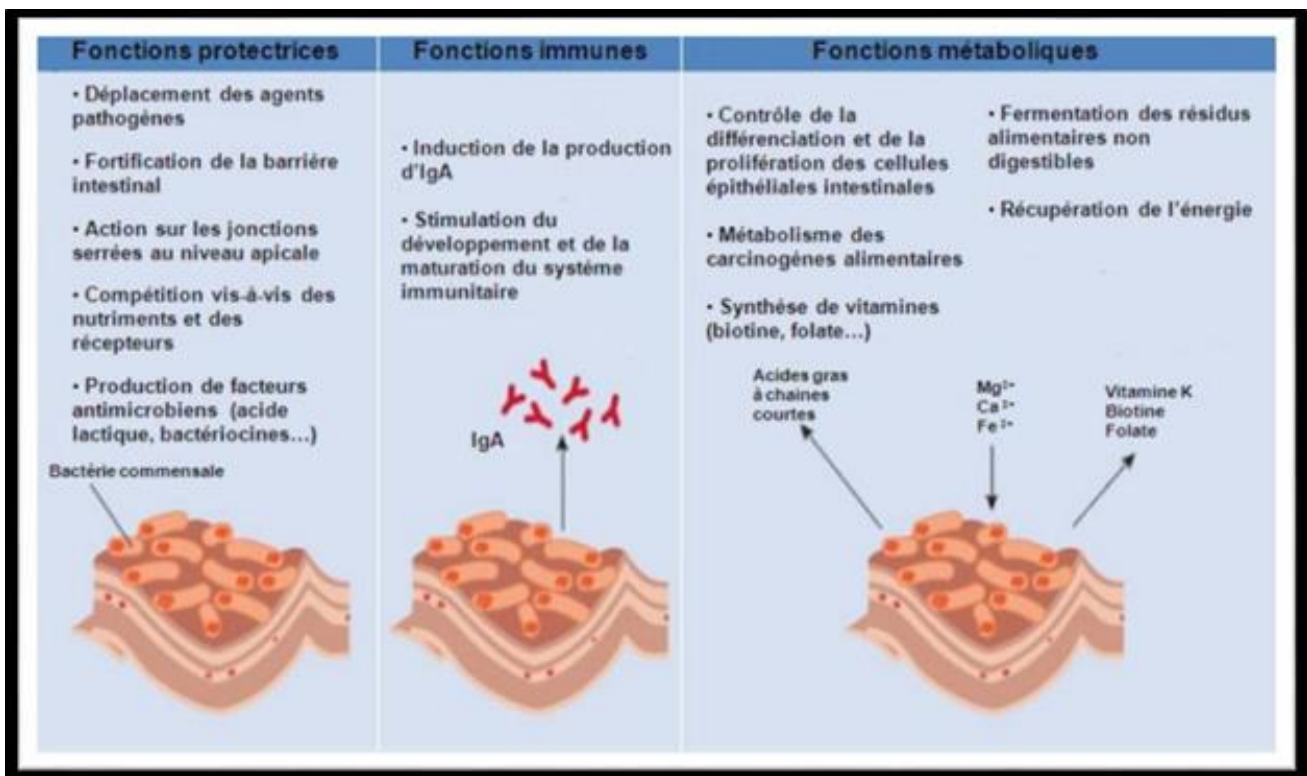


Figure 09 : Fonctions du microbiote intestinal (O'Hara et Shanahan, 2006).

## 1.2 Symbiotiques et prévention nutritionnelle

Les symbiotiques sont des composants qui associent des probiotiques et des prébiotiques que l'on retrouve plus particulièrement dans les produits laitiers. Afin d'accroître nos connaissances sur les effets bénéfiques. Plusieurs études scientifiques ont démontré que les pro- et prébiotiques, ainsi que l'association des deux (symbiotiques), peuvent réduire l'incidence du cancer du côlon, certaines affections telles que les diarrhées, les allergies alimentaires, l'intolérance au lactose et l'hypercholestérolémie (**Véronique 2009**), les bactéries probiotiques secrètent de protéines hétérologues d'intérêt thérapeutiques (**Hun singer, 2005**), augmenté aussi l'assimilation du fer et du calcium ainsi que la vidange de l'estomac, favorisent l'équilibration de la flore intestinal (**Oberhelman, 2001**).

Les prébiotiques ont pour caractéristique commune avec les fibres alimentaires de ne pas être digestibles, mais leurs fonctions sont souvent différentes. Ont ainsi des effets très sélectifs de stimulation de la croissance et, dans le même temps, ils inhibent de nombreuses bactéries pathogènes présentes dans la microflore ainsi, le principe des prébiotiques repose sur la stimulation sélective de ces micro-organismes coliques capables de dégrader (hydrolyse) les prébiotiques en monomères d'hydrates de carbone qu'ils utilisent pour leur croissance, stimulant ainsi en particulier les bifidobactéries et les lactobacilles et en inhibant de nombreuses bactéries pathogènes. Les prébiotiques les plus souvent utilisés dans les aliments sont les oligosaccharides tels que les fructo-oligosaccharides, les galacto-oligosaccharides ou lactulose (**Gibson et Roberfroid, 1995**).

A l'heure actuelle, on les retrouve dans de nombreux types d'aliments, tels qu'aliments lactés, produits de boulangerie, pâtes et produits carnés. Plusieurs travaux ont étudié l'effet des pré et probiotiques sur la carcinogenèse colique et sur le système immunitaire (**Rao, 2002 ; Rigaud, 2003 ; Berta et al., 2003 ; Stassiaux, 2008 ; Guarner et al., 2008 ; Jean et Paul, 1998**).

Le solde et la régulation du microbiote intestinal peut être affectée par une diminution du nombre de lactobacilles et anaérobies stricts (**Nieto et al.,2007 ; Million et al., 2017**). Cependant, certaines études ont montré qu'une alimentation riche en fermentation lactique ingrédients entraînant une synthèse relativement élevée de SCFA, a un effet positif sur l'intestin l'architecture de la **muqueuse (Scholten et al., 1999 ,Bousbahi et al. 2018)** ont rapporté que fermenté la supplémentation en blé « Hamoum » agit positivement sur la modulation du microbiote intestinal. Il protège de la translocation bactérienne et intestinale dommages après la phase de malnutrition protéique. Pour le but de cette étude, nous avons choisi le blé dur (*Triticum durum*) de variété fermentée « Hamoum », historiquement considéré comme un aliment aux vertus médicinales propriétés dans la prévention et le traitement des nombreuses complications physiopathologiques intestinales.

Grâce au système de stockage souterrain naturel, le blé fermenté subit une fermentation processus dans un biotope riche en nutriments naturels. La fermentation naturelle du blé est régulée par l'action des bactéries probiotiques et des levures. Récent des études ont montré que le blé fermenté contient une flore bactérienne riche en bactéries lactiques tels que : *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus Lactis*, *Lactococcus Lactis* subsp *cremoris*, *pediococcus acidilactici*, *pediococcus pentosueus*, *Streptococcus Bovis*, *Streptococcus thermophilus* et *Lactococcus raffinolactis* (**Benakriche M et al.,2006**).

Chapitre IV

# *Matériels et Méthodes*

## 1.OBJECTIF

Notre travail consiste à l'exploitation des levures de la flore microbienne d'un blé fermenté type Hamoum (BFH), notre protocole expérimental repose sur l'isolement des levures et leur identification par les tests biochimiques. Notre travail expérimental a été réalisé au sein du laboratoire de contrôle de Qualité des Aliments, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

## JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE

Le choix du BFH comme matériel végétal est considéré comme aliment fonctionnel par des travaux scientifiques récents (**Bousbahi *et al.*, 2018 ; Yssaad *et al.*,2020**), jusqu'à présent peu d'études ont été réalisées sur l'intérêt nutritionnel et thérapeutique du BFH comparativement aux autres céréales.

Le deuxième critère se rattache aux vertus médicinales de « Hamoum » qui possède une grande valeur nutritive pour les personnes souffrantes par le cancer, le diabète et les troubles abdominaux.

Le troisième critère est La richesse de Hamoum par des microorganismes vivants qui assurent leur fermentation naturelle.

### 1.1. Matériel expérimentale

#### 1.2. Le choix de l'aliment fonctionnel

Provenance de l'échantillon on a utilisé le « Hamoum » récolté des régions de Tiarret 4/2019. L'échantillon a été stocké sous froid dans un emballage alimentaire jusqu'à son utilisation.



**Figure 10.** Représentation de la source de prélèvement de l'échantillon « Hamoum » à partir de la Matmora.

#### 1.3. Enquête sur le procédé de fermentation naturelle

Le blé fermenté Hamoum, fait partie des habitudes alimentaires de différentes régions rurales en Algérie pour la fabrication du couscous Hamoum ; appellation spécifique dans l'Ouest Algérien. Ce type de couscous est très apprécié et particulièrement recherché dans différentes régions pour ses vertus nutritionnelles et thérapeutiques.

L'enquête sur la qualité et le procédé de fabrication du couscous traditionnel Hamoum, à partir de blé fermenté dans le grenier naturel appelé Matmora, a permis de découvrir l'émergence du procédé de fermentation naturelle, où le blé est directement en contact avec le sol sur le pourtour périphérique de la Matmora. Afin d'explorer les microorganismes à caractères Probiotiques, nous nous sommes intéressés à l'exploration des levures comme une poursuite de travaux déjà réalisés auparavant (**Benakriche et al., 2016**).

#### 1.4. Les matériel et milieu utilisé

Dans notre protocole expérimental, nous avons utilisé trois milieux de culture, le milieu PBS (phosphate-buffered saline) sous forme liquide pour la fermentation du BFH, le milieu OGA (gélose a l'Ox tétracycline glucose) sous forme gélose pour sélectionner la culture des levures et le milieu YPD (Yeats peptone dextrose) sous forme liquide pour la purification des levures.

L'appareillage est constitué d'un autoclave, d'une étuve bactériologique, d'un Vortex, d'une balance de précision, d'un Bain Marie, d'un Bec Benzen, d'un microscope optique et pH mètre.

Parmi les réactifs et les solutions utilisés, il y a l'eau distillée, le PBS, la peptone, l'extrais de levure, l'Oxytétracycline, la typtone, l'Agar, le Nitrate de potassium, le Di sodium phosphata, les réactifs pour coloration du GRAM et l'huile à immersion.

1.5. Protocole expérimentale

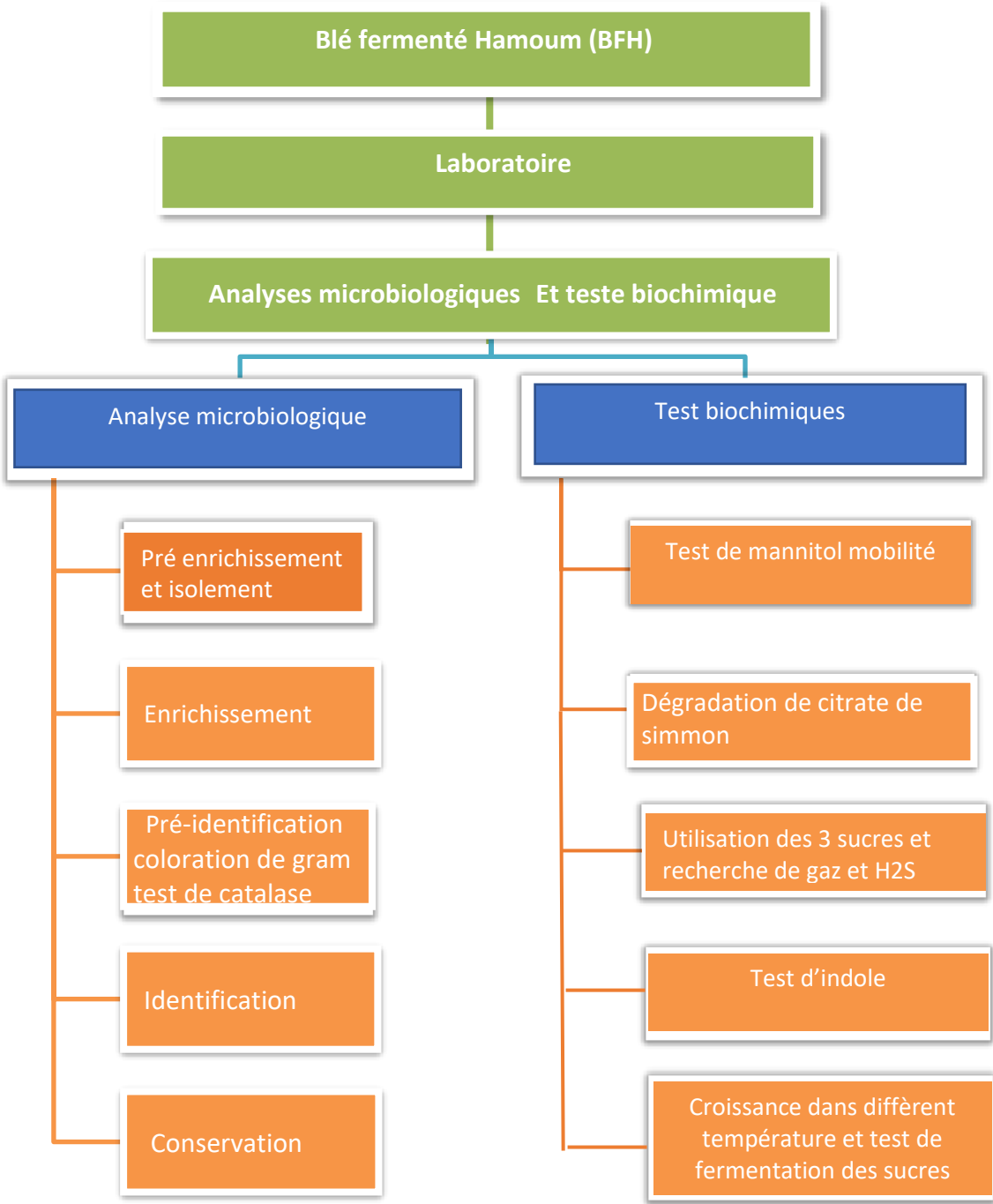


Figure 11 : Représentation Schématique du travail expérimentale



### 1.5.1 Suspension mère et dilutions décimales

Après la macération dans 45ml du PBS pendant 24 heures de 5g de l'échantillon de blé fermenté « Hamoum », on a introduit aseptiquement le jus pour la réalisation d'une série de dilution décimale (de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-7}$ ) dans des tubes stériles contenant au préalable de 9 ml de PBS liquide.

### 1.5.2 Isolement

L'isolement sélectif des levures par culture sur plusieurs milieux a été réalisé selon les méthodes décrites par **Carr et al., (2002)**, 1 ml de chaque dilution estensemencé dans la masse des milieux solides OGA plus oxyde tétracycline (éliminer la croissance des bactéries) pour l'obtention des colonies bien séparées. Après incubation à 28°C/24 à 72 heures, un examen microscopique est effectué après coloration de Gram. La forme des cellules et leur mode d'association sont observés et notés.

Les isolats catalase (+) sont repiqués de façon alternée sur milieu YEAST EXTRACT PEPTONE DEXTROSE (YEPD) liquide et solide OGA la purification. A chaque fois, 7 à 10 colonies représentatives bien isolées sont prélevées du milieu OGA solide et transférées sur YPD liquide et vice versa. La pureté de la souche est vérifiée par une observation microscopique l'aspect des colonies (forme, couleur, taille).



**Figure 12** : Fermentation du blé et technique d'écrasement

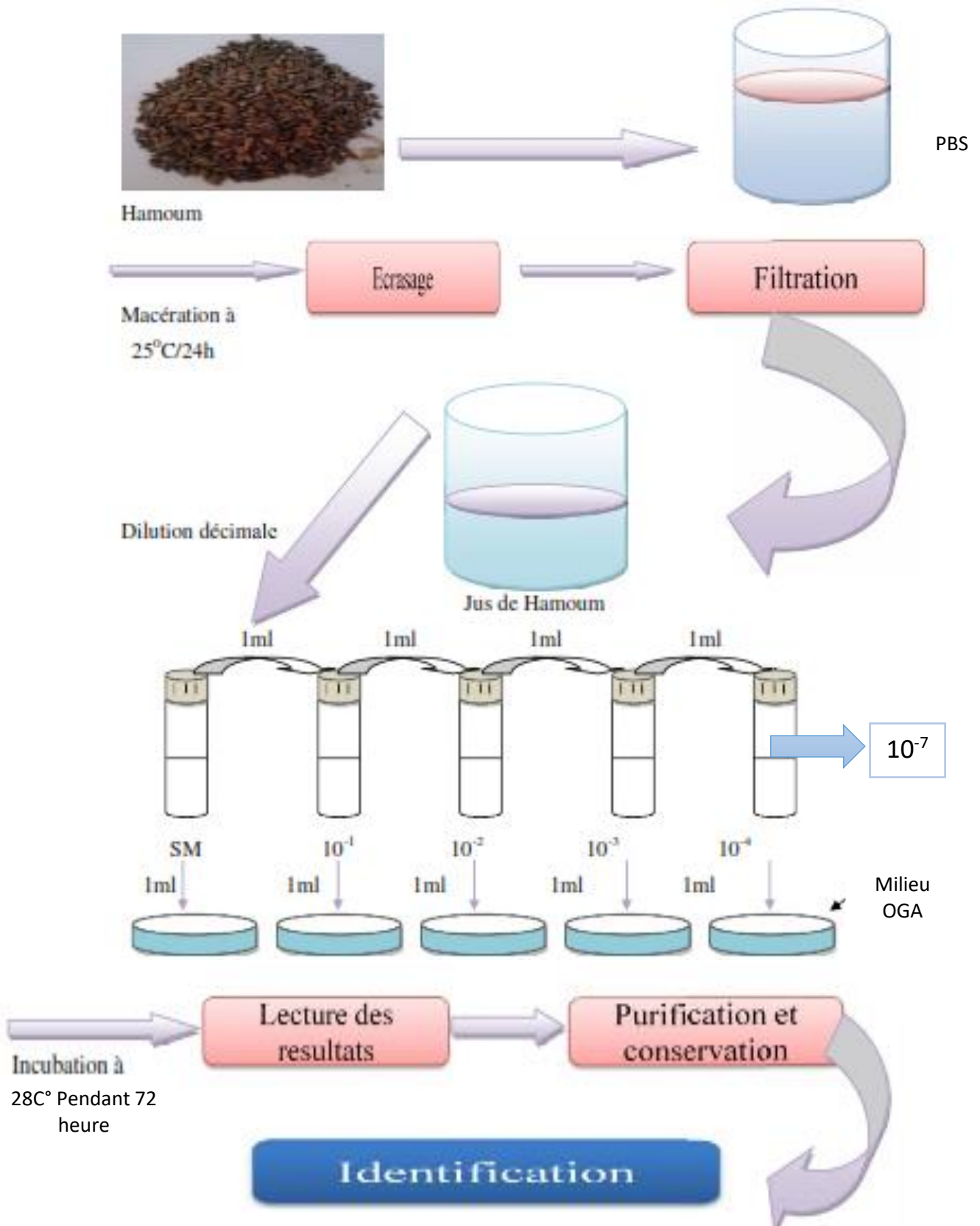


Figure 13 : Protocole d'isolement des levures à partir du BFH

## 1.6. Identification physiologique et biochimique des isolats

L'identification a été établie en se basant sur des caractères morphologiques et divers caractères biochimiques : température de croissance, production de gaz carbonique, fermentation de divers sucres.

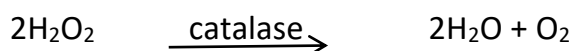
### 1.6.1 Pré-identification des isolats

#### 1.6.1.1 Observation macroscopique

Une description des colonies observées sur les différents milieux a été effectuée. Cela concerne leur taille, leur couleur, leur forme, leur contour, leur viscosité, leur aspect etc. (**Badis et al., 2004**).

#### 1.6.1.2 Test de catalase

Pendant leur respiration aérobie certaines levures produisent du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction :



Une colonie est mise en suspension avec une ou deux gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène (10 volumes) sur une lame. La réaction positive se traduit par un dégagement immédiat de bulles de gaz ( $O_2$ ) (**Marchal et al., 1991**).

#### 1.6.1.3 Observation microscopique

##### Coloration de gram

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au *violet de gentiane* ; il est ensuite rincé rapidement à l'eau courante, traité pendant une minute par une solution de *Lugol*, et de nouveau rincé rapidement. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%. Il s'agit de l'étape critique la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 2 à 3 secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du

frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau courante. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 30 secondes à la *fushine* pour colorer les cellules présentes. Après un bref rinçage, on sèche le frottis au buvard et on l'examine à l'objectif à immersion (grossissement X 1000) (**Singleton, 1999**).

Cette coloration permet de différencier leur morphologie cellulaire et leur mode d'association dont les souches testées sous forme cellule en train de faire des bourgeonnements.

## 1.7 Identification partielle (Tests biochimiques)

### 1.7.1 Test de Croissance à différentes températures

Les souches primaires de levure ont étéensemencées dans des bouillons OGA (pH 6,8) et testées leurs croissances à différentes températures (30C°, 44C°et 37 C°). Le développement des souches était apprécié après une semaine d'incubation pour les cultures à 04 C° et après 24 à 72 heures pour les autres cultures, par comparaison avec un tube de milieu OGA solide nonensemencé. L'apparition des colonies indique la croissance des souches (**Larpent, 1996**).

### 1.7.2 TSI (Gélose Glucose-Lactose-Saccharose-H<sub>2</sub>S)

La gélose TSI (**Triple Sugar Iron**) permet la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

Les fermentations sucrées se traduisent par une acidification qui fait virer au jaune le rouge de phénol (indicateur pH).

- Pour faciliter la détection des germes qui fermentent uniquement le glucose, la concentration de ce sucre a été abaissée au 1/10ème de celle du lactose ou du saccharose, de telle façon que la faible quantité d'acide produite sur la pente pendant la fermentation s'oxyde rapidement, ce qui entraîne un retour rapide à la coloration rouge ou bien à une ré-alcalinisation plus prononcée. Par contre, la réaction acide (couleur jaune) est maintenue en profondeur dans le culot du tube.

- Les souches qui fermentent le lactose ou le saccharose font virer au jaune la pente du tube.
- Les levures ne fermentant aucun des trois sucres ne modifient pas la couleur du milieu.
- La production de sulfure d'hydrogène se manifeste dans le culot par l'apparition d'une coloration noire de sulfure de fer qui est due à la réduction du thiosulfate en présence de citrate ferrique.
- La production de gaz (hydrogène, dioxyde de carbone) résultant des fermentations sucrées se traduit ou bien par l'apparition de bulles ou bien par la fragmentation de la gélose.

À l'aide d'une anse contenant des colonies prélevées, on ensemence la pente puis le culot d'un tube par piqûre centrale. L'incubation se fait à 28°C pendant 48 à 72 h.

- ✓ Une coloration jaune de la pente indique un lactose positif.
- ✓ Une coloration jaune du Culot montre un glucose positif.
- ✓ Coloration jaune de la zone intermédiaire indique un saccharose positif.

Ce test permet également la production de H<sub>2</sub>S (noircissement de la zone joignant la pente et le culot) et de Gaz (bulles dans la gélose) (**Giraud, 2003**).

### 1.7.3. Test Mannitol-Mobilité

Des souches ainsi que la fermentation du mannitol sont étudiées sur le milieu Mannitol- Mobilité. La technique consiste à ensemencer le milieu cité ci-dessus maintenu dans des tubes à essai en une seule piqûre centrale. L'incubation est effectuée à 28 °C pendant 24 h. La fermentation du mannitol est traduite par un virage au jaune du milieu de culture (**Guiraud, 2003**).

#### 1.7.4. Test de citrate de Simmons

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone : le citrate ; seules les bactéries possédant une citrate-perméase sont capables de se développer sur ce milieu. La pente du milieu estensemencée selon une strie longitudinale au moyen d'une anse contenant une colonie et incubé à 28 °C pendant 5 jours.

- ✓ Citrate-positive : culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).
- ✓ Citrate négative : pas de culture (coloration verte de milieu inchangée) (**Marchal et al., 1991**).

#### 1.7.5 Test de l'indole

Certaines levures dégradent le tryptophane grâce à une tryptophanes en formant de l'indole, de l'acide pyruvique et de l'ammoniac. Après addition du réactif de Kovacs, Le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, et forme un composé coloré en rouge. L'indole peut être mis en évidence en utilisant le milieu urée-indole ou L'eau peptone exempte d'indole ; c'est un bouillon qui ne contient pas d'indole, mais il contient du tryptophane pour que certaines entérobactéries puissent le dégrader en indole.

#### 1.8 Tests de fermentation des sucres

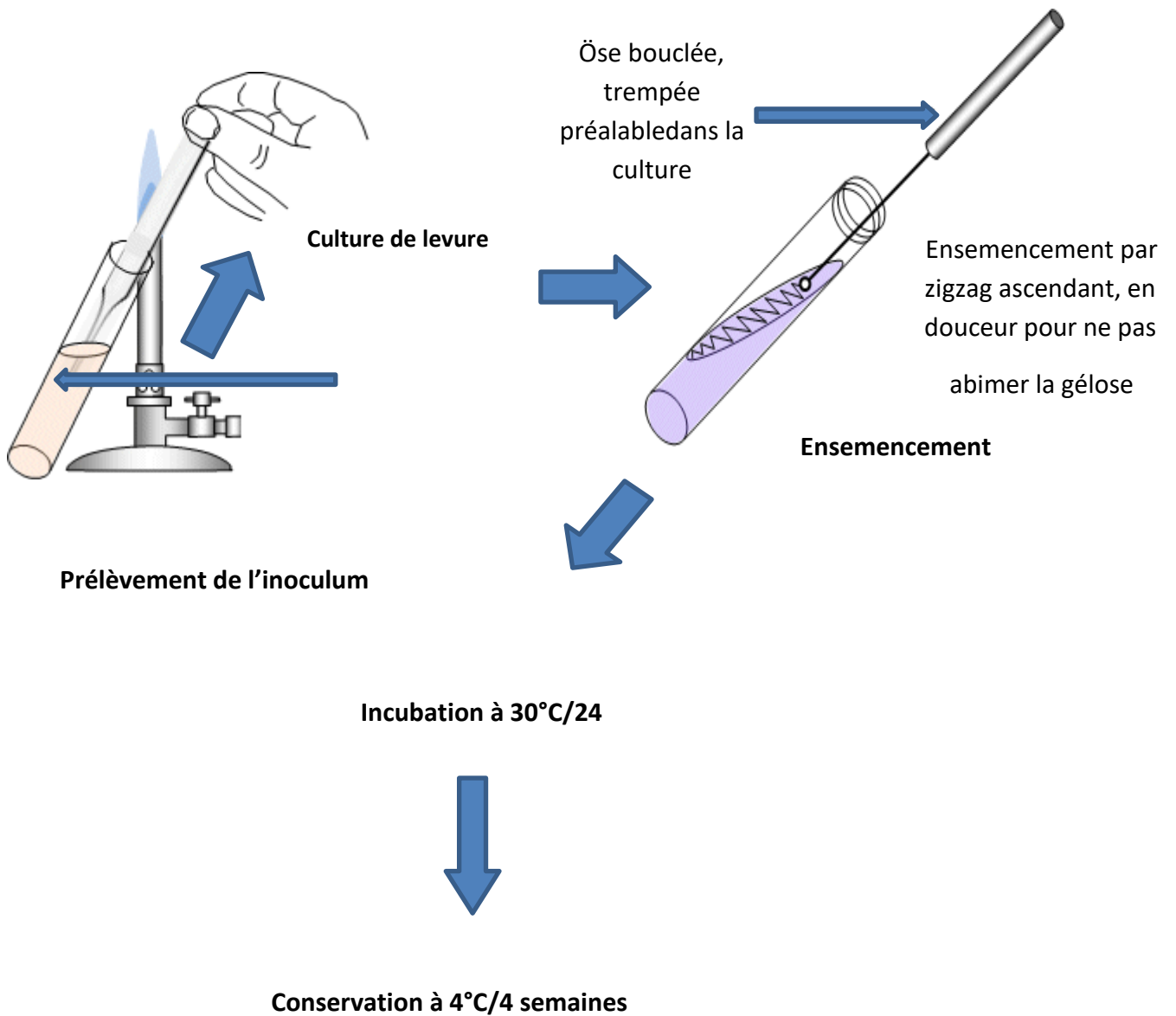
Il s'agit d'apprécier l'aptitude des souches à métaboliser divers substrats carbonés en particulier les sucres. Ce test est réalisé en galeries classiques par des tubes de bouillon OGA sans glucose sans agar, [selon **Leveau et al., (1991)**], additionné d'un indicateur de pH (pourpre de bromocrésol à 0.024 g/l), le glucose du milieu OGA sans agar sans sucre est remplacé par le sucre à tester, les solutions de sucres (glucose, sorbitol, mannitol, sucrose, mannose, sorbose, ribose, galactose, cellobiose, saccharose et fructose) sont stérilisées par tyndallisation et après ils ont introduit dans le milieu avec une concentration finale de 1%.

Un 100 ul de suspension de levure estensemencé dans 2ml du OGAc-ev-BCP-sucres avec l'ajout d'une couche mince d'huile de paraffine (V/V) stérilisé pour assurer l'anaérobiose (**Samelis et al., 1994**).

Après incubation pendant 48h à 72h, le développement de la culture et le virage au jaune de l'indicateur coloré dû à l'acidification du milieu traduit la fermentation du sucre à tester (**Guessas et Kihal, 2004**).

### 1.9 Conservation des souches

La conservation des souches pures est faite selon une formule : à court terme. La conservation à court terme des souches pures est effectuée sur milieu OGA solide incliné. Après croissance à la température optimale, les cultures sont maintenues à +4°C et leur renouvellement se fait par repiquage toutes les 4 semaines (**Devoyod et Muller, 1969**).



**Figure 14** : Schéma de conservation courte durée des levures purifiées (Source : *Badis, 2005*).



A decorative graphic on the left side of the page consists of a thick, dark blue vertical bar. A horizontal arrow, colored in a lighter shade of blue, points to the right from the top of this bar.

# *Résultats*

## Résultats

### 1. Isolement et Identification des levures

#### 1.1. Pré-identification des souches

La morphologie des levures est un critère important pour leur identification dont les dimensions, le contour, la couleur, la viscosité, la pigmentation et l'opacité sont des caractères précieux qui permettent une première approche assez globale vers l'identification

Après la purification des isolats, On a obtenu 10 souches catalase positive dont nous avons réalisé des examens macroscopiques et microscopiques.

##### 1.1.1. Test de catalase

L'étude de catalase a montré que toutes les souches isolées sont catalase positive (un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse, traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester **(Bekhouché Farida, 2006)**).

##### 1.1.2. L'examen macroscopique

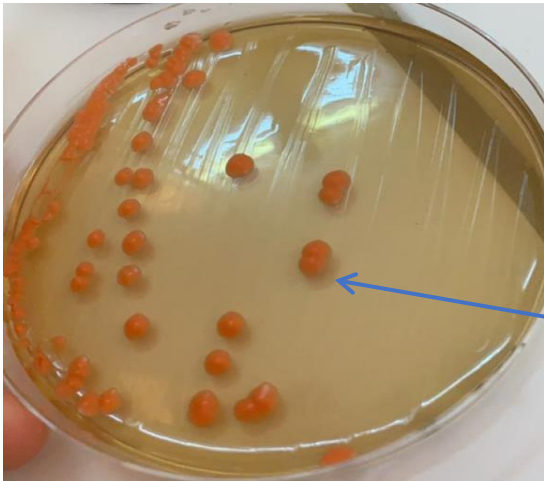
Après incubation, l'examen macroscopique sur la gélose OGA montre des colonies bien isolées avec un relief bombé ou plat, régulières ou irrégulières, de couleur blanchâtre ou rose, d'aspect crémeuse lissante, leur taille est d'environ 0,5mm à 4mm de diamètre.

Le résultat de l'examen macroscopique est illustré dans le tableau 06

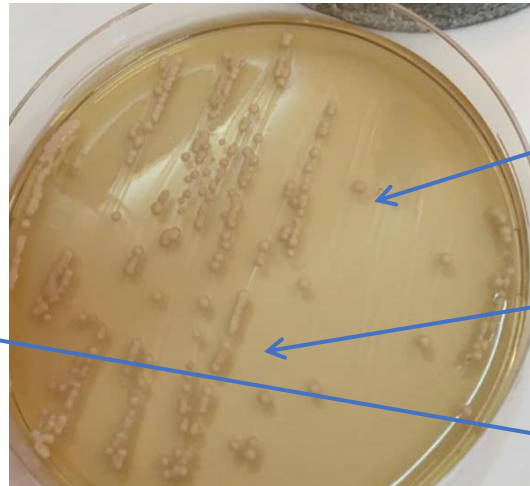
La Pureté des 10 souches est révélée par des colonies homogènes ayant le même aspect extérieur (couleur blanchâtre, petite taille et forme ronde) **(Guiraud, 2003, Idoui et al., 2009)**.

**Tableau05 : Résumé de l'observation macroscopique des souches isolées du BFH.**

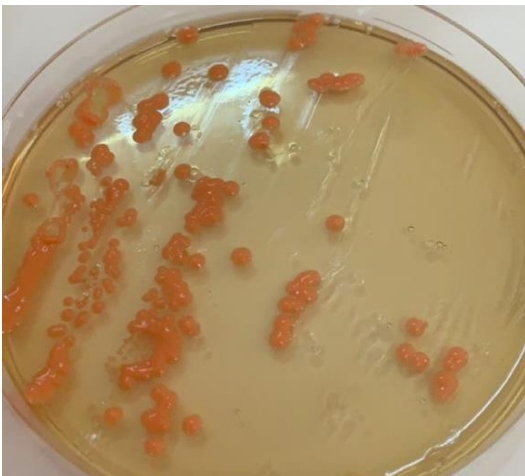
La souche	Catalase	La forme	La couleur	L'aspect	Le diamètre
LEV <sub>BFH1</sub>	+	Régulier	Blanchâtre	Crémeuse	3-4 mm
LEV <sub>BFH2</sub>	+	Régulier	Blanchâtre à bord net	Crémeuse	3-4 mm
LEV <sub>BFH3</sub>	+	Irrégulier	Blanchâtre à bord net	Crémeuse	1-3 mm
LEV <sub>BFH4</sub>	+	Irrégulier	Blanchâtre A bord net	Crémeuse	2-3 mm
LEV <sub>BFH5</sub>	+	Irrégulier	Blanchâtre lissante	Crémeuse	1-2 mm
LEV <sub>BFH6</sub>	+	Régulier	Blanchâtre Lissante	Crémeuse	1-2 mm
LEV <sub>BFH7</sub>	+	Régulier	Rose claire	Crémeuse	0,5-1 mm
LEV <sub>BFH8</sub>	+	Régulier	Rose claire	Crémeuse	0,5-1 mm
LEV <sub>BFH9</sub>	+	Irrégulier	Blanchâtre	Crémeuse	1-2 mm
LEV <sub>BFH10</sub>	+	Irrégulier	Blanchâtre Lissante	Crémeuse	1-3 mm



**Lev<sub>BFH1</sub>**



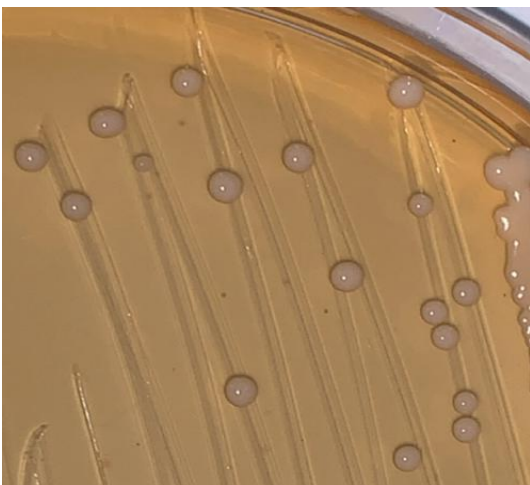
**Lev<sub>BFH2</sub>**



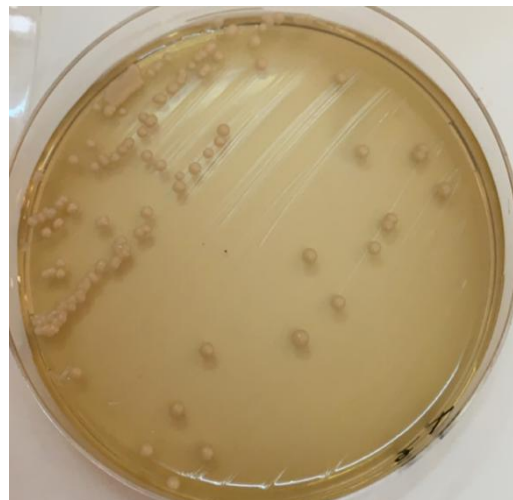
**Lev<sub>BFH3</sub>**



**Lev<sub>BFH4</sub>**



**Lev<sub>BFH5</sub>**



**Lev<sub>BFH6</sub>**

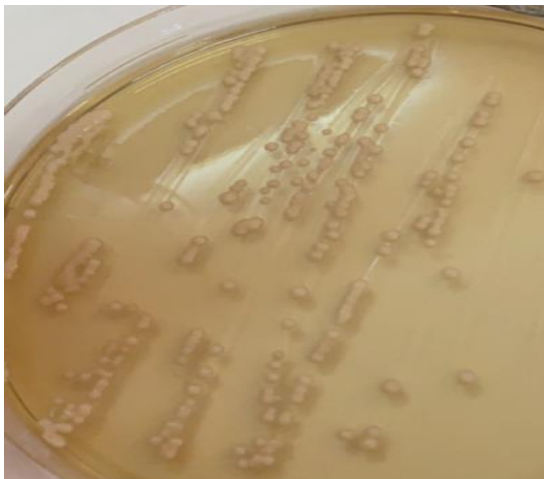
Milieu  
OGA  
  
Colonie  
LEV<sub>BFH2</sub>  
  
Colonie  
LEV<sub>BFH1</sub>



**Lev** BFH7



**Lev** BFH8



**Lev** BFH9



**Lev** BFH10

**Figure 15.** Aspect macroscopique des souches de levure isolées à partir de Hamoum après 72h d'incubation à 28<sup>0</sup> C.

### 1.1.3. Examen microscopique

Au cours de la purification des levures, on a retenu 10 souches catalase positive, ovoïdes ou rond cylindrique

**Tableau 06** : Résumé de l'observation microscopique des souches isolées du BFH.

La souche	Forme	Arrangement
LEV <sub>BFH1</sub>	Ovoïde	Associées grandes de taille
LEV <sub>BFH2</sub>	Ovoïde	Associées grandes de taille
LEV <sub>BFH3</sub>	Rond cylindrique	Associées grandes de taille
LEV <sub>BFH4</sub>	Rond cylindrique	Associées
LEV <sub>BFH5</sub>	Rond cylindrique	Associées chainettes
LEV <sub>BFH6</sub>	Allongé	Isolées
LEV <sub>BFH7</sub>	Ovoïde	Associées
LEV <sub>BFH8</sub>	Ovoïde	Associées petites de taille
LEV <sub>BFH9</sub>	Rond	Isolées petit taille
LEV <sub>BFH10</sub>	Rond cylindrique	Associées grandes de taille

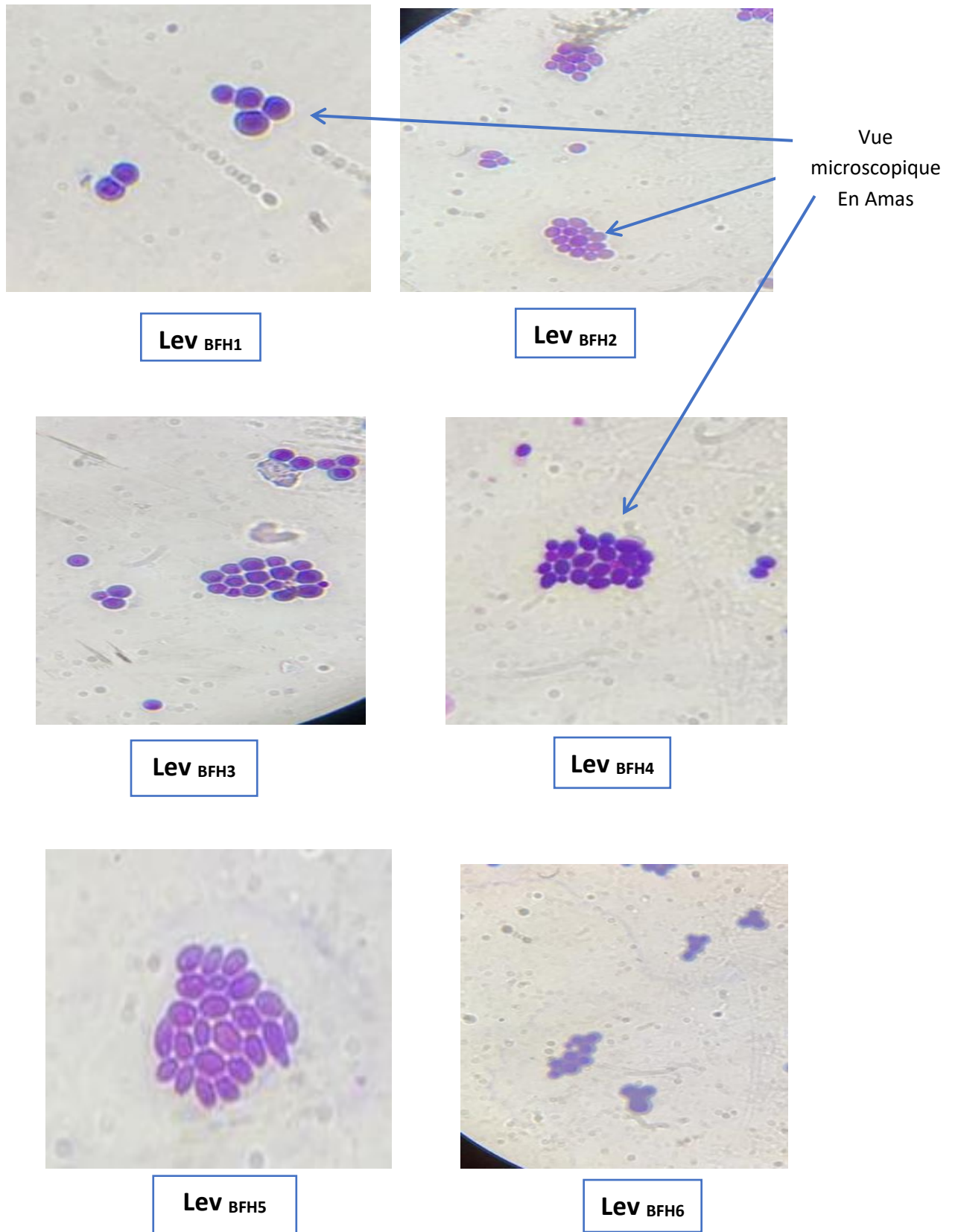
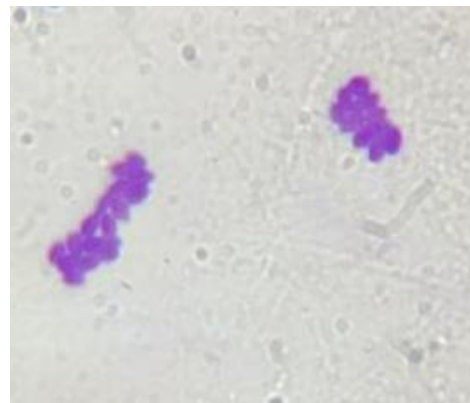


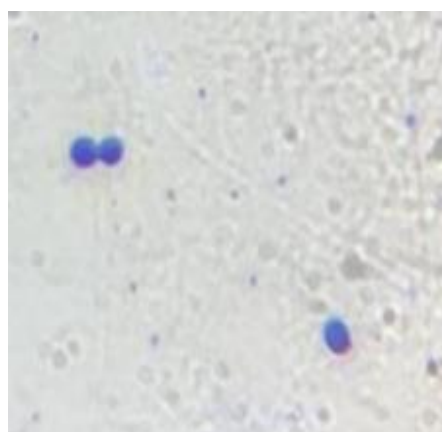
Figure 16 A. Observations microscopiques des levures avec un grossissement (G 10x100).



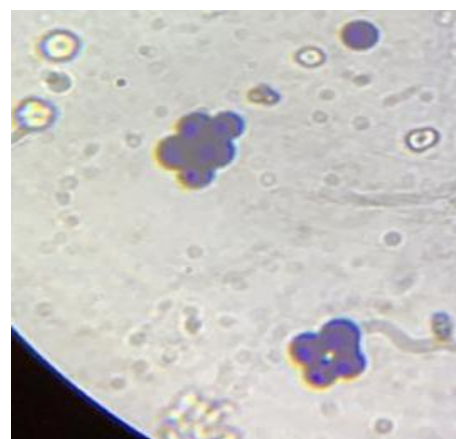
**Lev** BFH7



**Lev** BFH8



**Lev** BFH9



**Lev** BFH10

**Figure 16 B.** *Observations microscopiques des levures avec un grossissement (G 10x100).*



### 1.1.4 Dénombrement Flore fongique

Les dénombrements des levures fait par une méthode de contage  $\frac{1}{4}$  de la chaque boite après on le multiplie par 4, unité est par UFC/ml.

En effet, l'échantillons de BFH positives aux dénombrements sont ceux prélevés à partir de la surface. Par ailleurs, sont caractérisés par la présence totale des levures. L'identification, basée sur les caractéristiques macroscopiques et microscopiques, des différentes colonies isolées est mentionnée dans les (tableaux 05 et 06) résultats de dénombrement montre dans le tableau 08.

*Tableau 08 : résultat dénombrement des colonies de levure*

Lev <sub>BFH1</sub>	Lev <sub>BFH2</sub>	Lev <sub>BFH3</sub>	Lev <sub>BFH4</sub>	Lev <sub>BFH5</sub>	Lev <sub>BFH6</sub>	Lev <sub>BFH7</sub>	Lev <sub>BFH8</sub>	Lev <sub>BFH9</sub>	Lev <sub>BFH10</sub>
132×10 <sup>6</sup>	1.2×10 <sup>6</sup>	100×10 <sup>6</sup>	80×10 <sup>6</sup>	100×10 <sup>6</sup>	70×10 <sup>6</sup>	24×10 <sup>6</sup>	1.3×10 <sup>6</sup>	1.2×10 <sup>6</sup>	55×10 <sup>6</sup>
UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml

## 1.2. Identification partielle (Tests biochimiques)

### 1.2.1. Croissance à différentes températures

Après incubation à 44°C, 30°C et 37°C, les souches (**Lev<sub>BFH1</sub>**, **Lev<sub>BFH3</sub>**, **Lev<sub>BFH5</sub>**, **Lev<sub>BFH6</sub>**) sont capables de se multiplier dans les 03 températures, comparativement aux autres souches.

**Tableau09** : Résultat de la croissance des souches isolées à différentes températures :44°C ,30°C, 37°C.

Souches	Lev <sub>BFH1</sub>	Lev <sub>BFH2</sub>	Lev <sub>BFH3</sub>	Lev <sub>BFH4</sub>	Lev <sub>BFH5</sub>	Lev <sub>BFH6</sub>	Lev <sub>BFH7</sub>	Lev <sub>BFH8</sub>	Lev <sub>BFH9</sub>	Lev <sub>BFH10</sub>
30°C	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
44°C	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-

### 1.2.2. Dégradation du citrate de Simmons

Préséance de trois levures (**Lev<sub>BFH3</sub>**, **Lev<sub>BFH4</sub>**, **Lev<sub>BFH9</sub>**), et l'acidification du milieu (Milieu changé) (**Figure 10**) indique que les levures utilisent le citrate comme seule source de carbone donc **citrate (+)**, et les l'autre 7 souches de levure testées ne possèdent pas de citrate perméase **Citrate (-)**.

**Tableau 10** : Résumé résultat du teste citrate de Simmons après 72.

Souches	Lev <sub>BFH1</sub>	Lev <sub>BFH2</sub>	Lev <sub>BFH3</sub>	Lev <sub>BFH4</sub>	Lev <sub>BFH5</sub>	Lev <sub>BFH6</sub>	Lev <sub>BFH7</sub>	Lev <sub>BFH8</sub>	Lev <sub>BFH9</sub>	Lev <sub>BFH10</sub>
Teste Citrate	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-

### 1.2.3.TSI (Gélose Glucose-Lactose-Saccharose-H2S)

La gélose TSI (Triple Sugar Iron.) permet la mise évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène représente les résultats après l'incubation de 24 h sous une température de 28 °C. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 11** : Les résultats des souches de teste TSI après 72h a 28C°.

Souches / Teste	Lev BFH1	Lev BFH2	Lev BFH3	Lev BFH4	Lev BFH5	LevBFH6	Lev BFH7	Lev BFH8	Lev BFH9	Lev BFH10
Glucose	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gaz	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
H2S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

### 1.2.4. Tests d'indole

La présence d'indole se matérialise par un anneau rouge, après addition du réactif de Kovacs. Les souches testées ne présentent pas cet anneau par ce que ces levures ne dégradent pas le tryptophane indole, elles sont tout indole négatif.

**Tableaux 12** : Résumé résultat du teste Indole après 72h.

Souches	Lev BFH1	Lev BFH2	Lev BFH3	Lev BFH4	Lev BFH5	Lev BFH6	Lev BFH7	Lev BFH8	Lev BFH9	Lev BFH10
Teste Indole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

### 1.2.5. Test de Mannitol- Mobilité

C'est une gélose molle conditionnée en tubes et qui permet d'étudier la fermentation du mannitol et la mobilité des germes. Certaines souches ont fermenté le mannitol dont la fermentation de ce dernier a été matérialisée par un virage du milieu au jaune, par contre d'autres levures n'ont pas utilisé le mannitol.

En ce qui concerne la mobilité les levures qui poussent seulement dans la zone de piqûre elles sont dites Mobilité (-) et une observation d'une croissance autour de la piqûre dites Mobilité (+) **Tableau 13**.

**Tableau 13** : Les résultats des souches de teste Mannitol Mobilité après 72h.

Souches	Lev <sub>BFH1</sub>	Lev <sub>BFH2</sub>	Lev <sub>BFH3</sub>	Lev <sub>BFH4</sub>	Lev <sub>BFH5</sub>	Lev <sub>BFH6</sub>	Lev <sub>BFH7</sub>	Lev <sub>BFH8</sub>	Lev <sub>BFH9</sub>	Lev <sub>BFH10</sub>
<b>Teste Mannitol</b>	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
<b>Teste Mobilité</b>	Mobile	Mobile	Immobile	Immobile	Mobile	Mobile	Immobile	Immobile	Immobile	Immobile

## Résultats

**Tableau 14 :** Tableaux général Caractéristique physiologique et biochimiques des souches levurienne isolés à partir d'échantillon de Tiaret.

Souches		Lev <sub>BFH1</sub>	Lev <sub>BFH2</sub>	Lev <sub>BFH3</sub>	Lev <sub>BFH4</sub>	Lev <sub>BFH5</sub>	Lev <sub>BFH6</sub>	Lev <sub>BFH7</sub>	Lev <sub>BFH8</sub>	Lev <sub>BFH9</sub>	Lev <sub>BFH10</sub>
Tests											
Catalase		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrate		-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Indole		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol		+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
Mobilité		Mobile	Mobile	Immobile	Immobile	Mobile	Mobile	Immobile	Immobile	Immobile	Immobile
Glucose		+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
Lactose		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gaz		-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
H2S		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Température	44°C	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-
	30°C	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

### 1.3. Fermentation des sucres

En observant les résultats de test de fermentation des sucres obtenus, on remarque que les souches isolées **Lev<sub>BFH8</sub>**, **Lev<sub>BFH10</sub>** cinsault sont capables de fermenter tous les sucres testés (tableau 15) Observation des milieux ensemencés par les souches après l'incubation à 30°C pendant 72 heures. (Glucose, fructose, saccharose, sucrose, maltose, cellobiose, Galactose, ribose, sorbose, mannose, sorbitol, mannitol). Cette fermentation est observée par un dégagement de gaz après incubation des souches du levure.

*Le tableau 15 : Montre les résultats obtenus pour la fermentation des différents sucres.*

Souche	Lev <sup>BFH1</sup>	Lev <sup>BFH2</sup>	Lev <sup>BFH3</sup>	Lev <sup>BFH4</sup>	Lev <sup>BFH5</sup>	Lev <sup>BFH6</sup>	Lev <sup>BFH7</sup>	Lev <sup>BFH8</sup>	Lev <sup>BFH9</sup>	Lev <sup>BFH10</sup>
Sucre										
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Sorbose	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+
Sorbitol	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
Mannose	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
Mannitol	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Fructose	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+

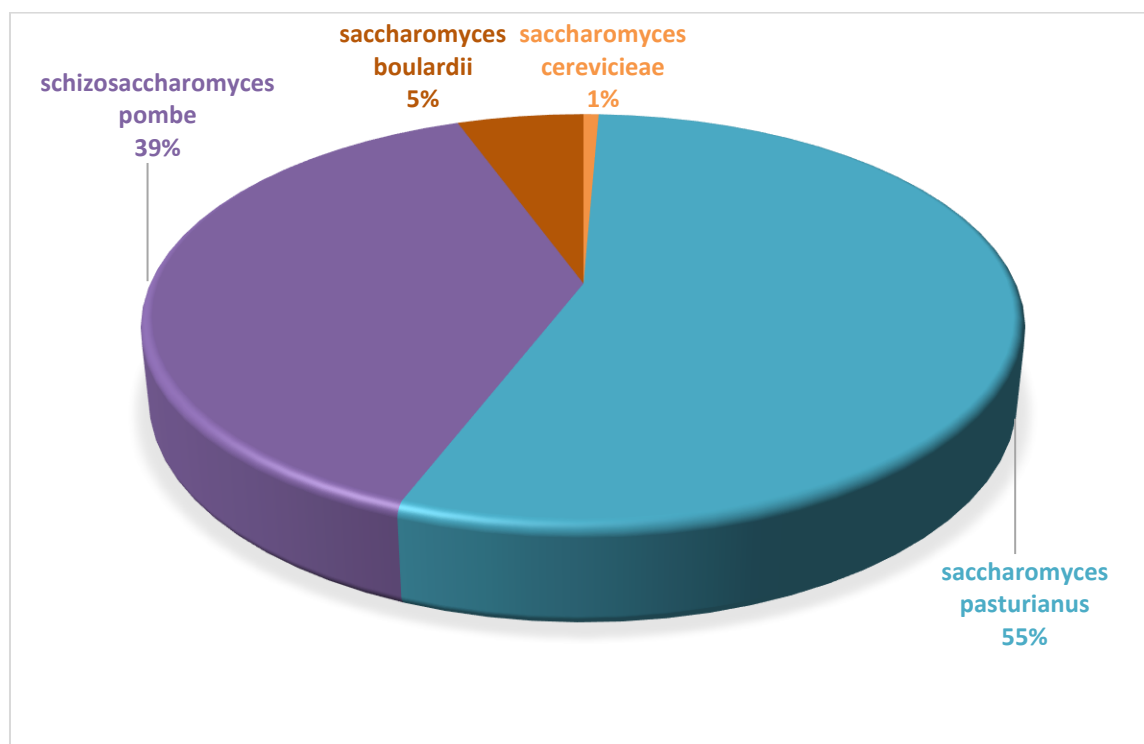


### 1.4. Répartition des souches

L'étude des caractères cultureux physiologiques, biochimiques des 10 souches des levures isolées est basée sur des critères d'identification préconisés par;(Hadad Youssef et *al.*,2015, Minh tri, 2015, MJ McCullough et *al.*, 1998) nous avons pu identifier nos souches et les répartir comme suit :

**Tableau 16** : Répartition des souches isolées à partir de blé fermenté type BFH.

Souche	Genre	Espèce	Pourcentage
Lev <sub>BFH3</sub>	Saccharomyces	Saccharomyces Pastorianus	55%
Lev <sub>BFH5</sub>	Saccharomyces	Saccharomyces Boulardii	05%
Lev <sub>BFH6</sub>	Schizosaccharomyces	Schizosaccharomyces pombe	39 %
Lev <sub>BFH9</sub>	Saccharomyces	Saccharomyces cerevisiae	01%



**Figure 17** : Répartition des souches lactiques au niveau du genre.

Après tous ces résultats, nous avons pu identifier ses 04 souche :

La souche Lev<sub>BFH3</sub> ***Saccharomyces pastorianus*** représente 55% de l'ensemble des souches identifié dans notre échantillon BFH.

La souche Lev<sub>BFH5</sub> présente les caractéristiques de ***Saccharomyces Boulardii*** avec une proportion de 05% par rapport à l'ensemble des souches de notre BFH.

La souche Lev<sub>BFH6</sub> ***Schizosaccharomyces pombe*** représente 39% de notre échantillon BFH.

La souche Lev<sub>BFH9</sub> ***Saccharomyces cerevisiae*** représente 01% de l'ensemble des souches identifié dans notre échantillon BFH.

A decorative graphic on the left side of the page. It consists of a thick, dark blue vertical bar extending from the top to the bottom. A lighter blue horizontal arrow points to the right, overlapping the vertical bar in the upper portion of the page.

# *Discussion*

Les souches de levures du BFH ont été isolées et identifiées par les techniques microbiologiques classiques surtout basées sur les substrats des sucres comme apports nutritionnels essentiels dans les milieux de cultures sélectifs et électifs (milieu OGA). Étant donné que notre matériel végétal qu'est le blé fermenté type Hamoum (BFH) est un produit alimentaire naturel du terroir et il n'a jamais été intéressé par des études nutritionnelles, nous nous sommes intéressés en premier lieu sur les techniques classiques avant l'application des outils moléculaires comme la PCR et/ou la technique de MALDI TOF (ARN<sub>R</sub> 16S) et ensuite la phylogénie et la métagénomique.

Jusqu'à présent, aucune étude n'a été réalisé quant à l'identification des levures dans le BFH. Ce dernier possède des propriétés nutritionnelles et médicinales jadis raconté par nos ancêtres en Algérie et d'autres pays du Maghreb. En outre, certains travaux réalisés par notre équipe de recherche ont prouvé l'efficacité du BFH contre certaines complications physiopathologiques digestives comme la translocation bactérienne intestinale en situation de malnutrition protéique. D'autres travaux de recherches ont déjà fait l'objet sur la caractérisation de la flore bactérienne endogène du BFH. Il a été montré que le BFH renferme une flore bactérienne lactique comme *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasiae*, *Lactobacillus pentosus*, *Pentococcus sp* et *Streptococcus sp* (**Benakriche M et al., 2016**).

Des efforts considérables ont été consacrés au cours de ces cinquante dernières années pour affermir la compréhension de la physiologie, de la biochimie et de la génétique des levures et des bactéries. Toutes ces recherches ont permis aux microbiologistes et aux industriels de choisir les meilleures souches et d'améliorer la productivité, la qualité et la sûreté des produits finis.

Nous avons relevé dix colonies de levures vraisemblablement des souches avec genres et espèces dans notre échantillon. Elles ont été cultivées et isolées sur milieu OGA. Du fait des exigences nutritionnelles des levures, le milieu de culture doit être très riches en sucres, en matières azotées et surtout en facteurs de croissances (**Pilet M F. et al., 2005**). La diversité et la prédominance des levures isolées des produits fermentés dépend relativement et principalement de la nature du matériel biologique, de la technique d'isolement et d'identification ainsi que le choix judicieux du milieu de culture qui doit être sélectif et électif (**Fitzsimmons S C et al., 1999 ; Bissonnette s et al., 2000**).

La présence de divers genres de levures dans le BFH était prévisible car les levures sont présentes tous les produits alimentaires fermentées. Les résultats de l'identification montrent une présence de levures différentes les unes des autres par leurs aspects macroscopiques et microscopiques. D'après l'observation microscopique, nous avons remarqué des colonies de forme ronde cylindrique et ovoïdes avec une proportion de 40% par rapport aux colonie ronde et allongé avec une proportion de 10%.

Il a été montré que les levures sont très peu représentées dans le microbiote intestinal animal puisqu'elles représentent moins de 0,1% du contenu commensal, *Candida albicans* étant le plus représentée (**Czerucka D et al, 2007**).

La souche **Lev<sub>BFH3</sub> *Saccharomyces pastorianus*** représente 55% de l'ensemble des souches identifié dans notre échantillon BFH.

Elles sont utilisées comme modèle de compétence technologique basé sur les caractéristiques génotypiques et phénotypique comme étant très performant dans le processus de fermentation dans la fabrication du vin avec une saveur de bonne qualité nutritionnelle et commerciale.

Nous avons trouvé que la Levure ***Schizosaccharomyces pombe* Lev<sub>BFH6</sub>** représente 39% de notre échantillon BFH. Dans la littérature, elle est appelée également levure fissipare, elle ne se multiplie pas par bourgeonnement, mais par fission transversale. Dans un milieu favorable et une température de 35°, la levure *Schizosaccharomyces Pombe* se divise toutes les 3 heures environ. Les cellules issues d'une division mesurent

6 à 7 microns ; elles grandissent ensuite par leurs deux extrémités et entrent en division lorsque leur taille atteint 13 à 14 microns. La division cellulaire s'effectue par apparition d'une cloison au milieu de la cellule. L'entrée en division en fonction de la taille est une caractéristique héréditaire (**Iris L et al.,2018**).

Ses propriétés génétiques et métaboliques lui confèrent un avantage de fermentation avec un gain de temps qui pourrait jouer en faveur de la disponibilité et de la quantité du produit alimentaire qui l'héberge dans sa flore microbienne.

La souche **Lev<sub>BFH5</sub>** présente les caractéristiques de ***Saccharomyces Boulardii*** avec une proportion de 05% par rapport à l'ensemble des souches de notre BFH.

*Saccharomyces boulardii* (*Sb*) est une souche de levure d'origine naturelle isolée pour la première fois par Henri Boulard en 1923 en Indochine à partir de la peau de litchis et de mangoustans (**Buts j p et De Keyser, 2006 ; McFarlane MG, 2010**).

Cette levure commercialisée sous le nom d'Ultra-levure est utilisée depuis plus de 30 ans dans la prévention et le traitement des désordres gastro-intestinaux (**Kelesidis et Pothoulakis,2012**). En effet, de nombreuses études cliniques démontrent l'efficacité de la souche *Sb*CNCM I-745 lyophilisée (Bio codex) dans diverses pathologies gastro-intestinales associées à une diarrhée. 14 études sur 17 montrent que *Saccharomyces Boulardii* prévient la diarrhée associée aux antibiotiques. Elle peut également réduire la colite associée à *C. Difficile* ou la diarrhée du voyageur (**Moré M et Swidsinski A, 2015**).

L'effet des probiotiques à base de ***Saccharomyces cerevisiae* Lev<sub>BFH9</sub>** dans la diminution de la douleur et de l'inconfort intestinal. « Utilisé comme probiotique, le composé CNCM I-3856, sélectionné dans la collection de levures de Lesaffre, atténue les douleurs abdominales, et les ballonnements au bout de cinq jours », certifie le spécialiste. Son traitement, préconisé pour trois mois, permettrait de réhausser le seuil de douleur toléré par les patients. Un véritable antalgique naturel spécifique du tube digestif (**Shuxun L et al.,2021**).

Plusieurs études cliniques ont été menées avec *Saccharomyce boulardii* dans le traitement et la prévention de diverses formes de diarrhée. Des perspectives de recherche prometteuses se sont ouvertes en termes de traitement d'entretien des maladies inflammatoires de l'intestin. Le mécanisme d'action de *S. boulardii* a été partiellement élucidé.

Un cas d'usage intéressant où les levures sont opérantes, est celui des diarrhées infectieuses à *Escherichia coli*. « Les levures comme *Saccharomyces boulardii*, sont capables de se fixer sous forme sphérique autour de ces bactéries pathogènes et d'enrayer ainsi leur prolifération, souligne le gastro-entérologue. Les levures peuvent également tapisser directement les cellules épithéliales intestinales, bloquant ainsi toute cible d'attache des bactéries. » D'où une neutralisation des infections bactériennes à l'origine des diarrhées infectieuses. **(Shuxun L et al.,2021)**

*Saccharomyces boulardii* est une souche de levure qui a été largement étudiée pour ses effets probiotiques. L'activité clinique de *S. boulardii* est particulièrement pertinente pour la diarrhée associée aux antibiotiques et les infections intestinales récurrentes à *Clostridium difficile*. Des études expérimentales démontrent clairement que *S. boulardii* possède des propriétés probiotiques spécifiques, et des données récentes ont ouvert la porte à de nouvelles utilisations thérapeutiques de cette levure comme « immunobiotique » **(CZERUKA D et al.,2007)**.

*Schizosaccharomyces pombe* était initialement considéré comme une levure de détérioration en raison de la production de métabolites indésirables tels que l'acide acétique, le sulfure d'hydrogène ou l'acétaldéhyde, mais il semble actuellement avoir une grande valeur en enlogée. *Schizosaccharomyces* peut réduire la totalité de l'acide malique.

L'utilisation pour assurer la sécurité du vin. *Schizosaccharomyces* également beaucoup plus de potentiel que de simplement réduire la teneur en acide malique, comme augmenter le niveau d'acide pyruvique. Dans cette étude, des *Sc* sélectionnées et sauvages *des souches pombe* ont été utilisées avec une souche de *Saccharomyces*

*cerevisiae* pour fermenter le moût de raisin rouge. Cependant, il présente également certains inconvénients tels que sa faible vitesse de fermentation ou le développement d'arômes et de saveurs indésirables. Dans ce chapitre, les principales utilisations œnologiques de *Schizosaccharomyces pombe* qui ont été proposées ces dernières années seront passées en revue et discutées. (Tim M *et al.*, 2017, Samuel P M 2014).

L'identification génotypique est indispensable pour confirmer la classification phénotypique de nos souches. On rappelle que notre identification est basée sur des critères préconisés par (bergey's, 1984. Axelsson, 2004 ; Bjorkroth et Holzapfel, 2006 ; Hammes et Hertel, 2006 ; Teuber et Geis, 2006 et Guiraud, 2003 ; Bridget *et al.*, 2011 ; Guessas *et al.*, 2012).



A decorative graphic on the left side of the page, consisting of a thick dark blue vertical bar and a lighter blue arrow pointing to the right, positioned in the upper left quadrant.

## ***Conclusion et perspectives***

## CONCLUSION

Actuellement, les levures présentent un grand intérêt pour leurs valeurs nutritionnelles et thérapeutiques dans les industries agroalimentaires et pharmaceutiques.

Le BFH est un produit alimentaire jadis utilisé comme aliment pour remédier à certaine complication physiopathologique. Il possède de nombreuses vertus nutritionnelles et sanitaires et pourrait être promu plus largement dans l'alimentation courante. Suite à l'émergence de certaines maladies métaboliques dans la société actuelle (diabète, surpoids, allergie alimentaire etc.), il est préconisé de recourir aux aliments fermentés du terroir car ils renferment des microorganismes à caractère probiotiques. C'est le cas de notre échantillon, le blé fermenté type Hamoum (BFH).

Certains travaux ont montré que la BFH renferme des bactéries *lactiques* qui ont prouvé leurs efficacités dans certaines situations de malnutrition protéique. Cependant, l'exploration de la flore levurienne n'a pas été élucidé jusqu' à présent, et le but de notre travail.

Nos résultats ont montré l'existence de quatre souches de levure à savoir *Saccharomyces pastorianus* **Lev<sub>BFH3</sub>**, *Schizosaccharomyces pombe* **Lev<sub>BFH6</sub>**, *Saccharomyces Boulardii* **Lev<sub>BFH5</sub>**, *Saccharomyces cerevisiae* **Lev<sub>BFH9</sub>** D'après la littérature, ces souches renferment des potentialités technologiques, nutritionnelles et industrielles. Ainsi que leur utilisation comme modèle de micro-organismes de référence dans le domaine de la biologie moléculaire et de la génétique.

D'autres travaux à venir pourront nous orienter vers la découverte d'autres souches de levures avec l'aide des outils moléculaires. En perspective, il serait essentiel de promouvoir la fermentation contrôlée au Matmora et d'évaluer les potentialités technologiques et nutritionnelles de chaque levure à des fins commerciales et de santé publique chez des patients atteints de complications digestives.

A decorative graphic element consisting of a dark blue vertical bar on the left side of the page, with a lighter blue arrow pointing to the right, extending from the bar.

*Référence bibliographique*

## A

1. **Alais C, Linden G and Micho.** (2003). Biochimie Alimentaire. 5ème ed. Dunod, Pp : 131.
2. **Albarello L, Bourgeois E and Guyot J** (2010). Un outil pour les praticiens chercheurs. Statistique descriptive.
3. **Allioui N** (1997). Effet de quelques altérations physiologiques et biochimiques causées par la rouille brune du blé. Thèse Magister. Univ. Annaba.
4. **Alvarenga, Raquel M, Carrara, Andrea G, Silva, Crislane M and Oliveira (2011).** Potentiel application of *Saccharomyces cerevisiae* strains for the fermentation of banana pulp ; African. Journal of Biotechnology.10(18) ;3608-3615.
5. **Alves L and Xavier M.** (2002). Les Céréales Cours de Bromatologie. Lyon Ecole nationale vétérinaire. En ligne <[http://WWW.vet.lyon.fr/ens/nut/Web Bromato/cours/cm grain/preseces.html](http://WWW.vet.lyon.fr/ens/nut/Web_Bromato/cours/cm_grain/preseces.html).
6. **Veilleux S, Meléndez M, Sturm E, Gracia-Carpio J, Fischer J, González-Alfonso E, Contursi A, Lutz D, Poglitsch A, DaviesR** (2013). Fast molecular outflows in luminous galaxy mergers : evidence for quasar feedback from *herschel*. The astrophysicale journal.776(27) :21.
7. **Ampe f, Ben omar c, Moizan c, Wachter and Guyot j p.** (1999). Polyphasic Study of the Spatial Distribution of Microorganisms in Mexican Pozol, a Fermented Maize Dough, Demonstrates the Need for Cultivation-Independent Methods To Investigate Traditional Fermentations. Applied and Environmental Microbiology 65 : 5464–5473.
8. **Andrieu J and Demarquilly C** (1980). Préviation de la valeur nutritive des aliments des ruminants. Institut national de la recherche agronomique, ISBN/2-85340 -357 0. Paris : 448.

## B

9. **Badis A and Kihal M** (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques a partie du lait cru de chever de deux population caprine locale arabia et kabyle. J. Sciences & Technologie C – N°23 :30-37.
10. **Badis A, Guetarni D, Moussa Boudjema B, Henni D E and Kihal M** (2004). Identification and technological properties of lactic acide bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiology, 21 : 579-588.
11. **Bandana B and Hemantaranjan A.** (2008). Développements en physiologie, biochimie et biologie moléculaire des plantes. Vol 2. Nouvelle agence d'édition de l'Inde, 369 P.
12. **Barron C and Surget A** (2005). Histologie du grain de blé. Industrie des céréales ; 145 :4-7.
13. **Bartali E H, Parsons E and Vertraeten Ch** (1994). La conservation des denrées : cas des céréales In : agronomie moderne bases physiologique et agronomique de la production végétale T E Ameziane et person (eds). Hatier-Aupelf-Uref (ed) : 465-486.
14. **Battais F, Richard C andLeduc V** (2007). Les allergènes du grain de blé. Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique ; 47 :171–174.
15. **Bauer Werner J, Badoud Raphaël, Löliger Jürg, and Etournaud Alain.** (2010). Sciences et technologies des aliments. Principe de chimie des constituants et de technologie des procédés. Presses polytechniques ; 720p.
16. **Bekhouché F** (2006). Bactéries lactiques du lait cru de vache et microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes :1Isolement et identification biochimique. Evaluation et optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase, Thèse de doctorat d'état : 272-829.
17. **Bekhouché f, Merabti Rand and Bailly j d** (2013). Traditional Couscous maNufacture from fermented wheat (Algeria) : investigation of the process and estimation of the Technologicaland Nutritional Quality. Afr J Sci Technol : 167–175.

18. **Benakriche M B, Ahmed M, Djilali B** (2016). Lactic acid bacteria diversity in the fermented wheat Hamoum in West Algeria. *J. Pakistan journal of nutrition* 15 (7) :639-648.
19. **Benbelkacem A.** (2007). Les triticales : cultures performances et différentes possibilités d'utilisation en Algérie. Journée technique sur la culture du triticale en zone semi-aride et son utilisation par les animaux domestique : Oum El-bouagui-Elkhroub. 17-18 Juin 2007.
20. **Blandino A, al-aseeri M E, Pandiella S, Cantero D and Webb C.** (2003). Cereal-based fermented foods and beverages. *Food research international* 36 : 527–543.
21. **Bonneau L.** (2003). Information technique sur le blé Boulangerie. < Http : /WWW. Boulangerie. Net/ MP/ Infoblefar. Html.
22. **Botton B.** (1990). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson, Paris.
23. **Bousbahi S, Benakriche B M, Gérard Kherouaa O and Chekroun A.** (2017). Nutrition Clinique et Métabolisme. Translocation bactérienne intestinale chez des rats malnutris : effet d'un blé fermenté traditionnel en phase de réalimentation ; 50 :31.
24. **Benakriche BM, Yssad D, Gérard P, Pochat P and Kheroua O** (2017). Fermented Wheat Hamoum improves the recovery of intestinal mucosal and the short-chain fatty acids profile of colonic bacterial flora in malnourished rats. *Journal by Innovative Scientific Information & Services Network* ,17(2) :1166-1175.
25. **Breno P de Paula ,Heitor de S L Laís F, Wilson José Fernandes L J, Mariana Ferreira Dutra Corrêa, André Fioravante Guerra, Karen Signori Pereira and Maria Alice Zarur Coelho** (2021). Caractéristiques technologiques de *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* pour le développement potentiel de la bière de blé probiotique ; *J LSIVER*.135 :60.
26. **Brooker D B, Bakker-Arkema F W and Hall Carl W** (1992). Séchage et stockage des céréales et des oléagineux. Springer ; 468P.

## C

27. **Carmen C , Ananda K. Nanjundaswamy, Victor Njiti , Qun Xia and Franklin Chukwuma (2016).** Développement de probiotiques à valeur ajoutée par fermentation à haute teneur en solides de patate douce avec *Saccharomyces boulardii*. Journal food and nutrition ,5 :633-638.
28. **Carr F J, Chill D and Maida N (2002).** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. Critical Reviews in Microbiology, 28(4): 281-370
29. **Carre e, suzanne lafon-lafourcade and Bertrand a (1983).** Désacidification biologique des vins blancs secs par fermentation de l'acide malique par les levures. Cours de la libération.
30. **Chavan R S (2011).** Sourdough Technology—A Traditional Way for Wholesome Foods : A Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 10 : 169–182.
31. **Cruz JF, Troude T, Griffon D, and Hebert JP. (1988).** Conservation des grains dans les régions chaudes. 2<sup>eme</sup> Ed Paris France. Techniques rurales en Afrique. Ministère de la coopération et du développement, pp : 545.
32. **Czeruka d, Piche t and Rampal p (2007).** La levure comme probiotique *Saccharomyces boulardii*. J Alimentary Pharmacology and Therapeutics.26(6) :767-778.

## D

33. **De Vuyst I, Van kerrebroeck, Harth H, Huys h.m daniel and Weckx s. (2014).** Microbial ecology of Sourdough fermentations : diverse or Uniform ? Food Microbiology 37 : 11–29.
34. **De Melo Pereira G V, Ramos C L, Galvão C, Souza Dias E, Schwan R F (2010).** Use of specific PCR primers to identify three important industrial species of *Saccharomyces* genus : *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus* and *Saccharomyces pastorianus*. Journal of Applied Microbiology., 51(2) : 131-137.
35. **Devoyod J J and Muller M. (1969).** - La flore microbienne du fromage

36. **Doumandji A, Doumandji-mitiche B and Salaheddine D.** (2003). Cours de technologie des céréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires, pp : 1-22.
37. **Druvefors UÅ** (2004). Yeast Biocontrol of Grain Spoilage Moulds Mode of Action of *Pichia anomala*. Doctoral thesis. University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, Department of Microbiology. Agraria 466 : 44.
38. **Dunford N T** (2012). Food and industrial bioproducts and bioprocessing. Wiley-Blackwell : 392.

## F

39. **Farombi EO.** (2003). African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. African Journal of Biotechnology.
40. **Feillet P** (2000). Le grain du blé : composition et utilisation. INRA Paris 196-198. ISBN 2-7380-0896-8 : 55-75.
41. **Fitzsimmons S C, Allen H F, Reall G R** (1999). Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus. American journal of medicine open 45(1).
42. **Fleet G H** (1997). The microbiology of alcoholic beverages. In microbiology of fermented foods (B. J. B. Wood, ed.), pp. 217–262. Springer.
43. **Foster M S and Bills G F.** (2004). Biodiversity of fungi : inventory and monitoring methods. Academic press.

## G

44. **Giban M, Minier B and Malvosi R** (2003). Stades du blé ITCF ARVALIS. Institut d'Élevage. Pp : 68.
45. **Gildo P** (2006). Précis de phytothérapie. Edition Alpen, p : 3 -4.



46. **Giraud** (2003). Microbiologie alimentaire, Technique et ingénierie, Dunod, série Agroalimentaire, Paris, 2003; 652.
47. **Guarro, j, Gené j and. Stchigel a.m** (1999). Developments in fungal taxonomy. Clinicalmicrobiology reviews 12 : 454–500.
48. **Guessas B and Kihal M** (2004). Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goat's milk. African. Journal of Biotechnology 3(6): 339-342
49. **Guignard JL and Dupont F** (2004). Botanique Systématique moléculaire. 13 Ed révisée Masson Paris, Pp : 116-117.
50. **Guiraud JP** (2003). Microbiologie alimentaire : Série agro-alimentaire. Ed Dunod : 696.
51. **Guyot j p** (2010). Fermented Cereal Product. In fermented foods and beverages of the world p. 448. Cr press/Taylor & francis, boca raton, usa.
52. **Golden D and willam G (1991)**. Spectres vibratoires Raman et infrarouge d'amas de fullerènes C<sub>60</sub> et C<sub>70</sub> séparés par chromatographie. Lettres de Physique Chimique, 179 :181-186.
53. **Gouet PH, Fatianoff n, Zelter S Z, Durand R M and Chevalier** (1965). Influence de l'élévation du taux de matière sèche sur l'évolution biochimique et bactériologique d'une luzerne conservée par ensilage. Annal de biologie animale biochimie biophysique ,5(1) :79-100.



## H

54. **Hadad Y** (2015). Isolement et identification des levures de la canne a sucre « saccharum officinarum » de la region de vakinankaratra ;25.
55. **Hadria R** (2006). Adaptation et spatialisation des modèles stricts pour la gestion d'un périmètre céréalier irriguée en milieu semi-aride. Thèse de doctorat. Univ Cadi Ayad Samlalia- Marrakech.
56. **Hammes w p, brandt MJ, francis kl, Rosenheim J, seitter M.F.H and vogelmann S.A**(2005). Microbial ecology of cereal fermentations. Trends in food science & technology 16 : 4–11.

57. **Hemery Y, Rouau X, Lullien-Pellerin V, Barron C and Abecassis J** (2007). Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. *Journal of Cereal Science* ; 46 : 327 -3 47.
58. **Heredia N, Wesley Irène and Garcia Santos** (2009). *Aliments microbiologiquement sûrs*. John Wiley ; 596P.

## J

59. **Jeanet R, Croguennec T, PSchuck P, and Gerard B** (2007). *Science des aliments : Biochimie Microbiologie. Procédés produits*, pp : 138- 159.
60. **Jespersen L.** (2003). Occurrence and taxonomie characteristics of strains of predominant in African indigenous fermented foods and beverages. *FEMS Yeast Research* 3 :191–200.

## K

61. **Kamal-Eldin A** (2012) b. Fermented cereal and legume products. In *fermentation : effects on food properties*. Cr press.
62. **Kofi EA and Nout AJ** (2010). *Functional Yeasts and Molds in Fermented Foods and Beverages*. In *Fermented foods and beverages of the world*. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton.

## L

63. **Larpent JP** (1996). Les bactéries lactiques. In : *Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires*, tome 2. Second Edition. (Eds : Bourgeois CM, and Larpent JP) Ed : Tec et Doc Lavoisier Paris : 6-33.
64. **Lei V and Jakobsen M** (2004). Microbiological caractérisation and probiotic potential of koko and koko sour water, African spontaneously fermented millet porridge and drink. *Journal of Applied Microbiology* 96 : 384–397.
65. **Leveau J-Y, Bouix Mrielle and De Roissart H** (1991). La flore lactique In *Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire*. Bourgeois C.M., Leveau J-Y. Tec & Doc, Lavoisier, pp : 152-186.

66. **Lhuillier A (2007)**. Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook. Fex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), Tambourissa.

M

67. **M. Hutzler, Geiger E, Jacob F (2010)**. Utilisation de la PCR-DHPLC (Polymerase Chain Reaction—Denaturing High Performance Liquid Chromatography) pour la différenciation rapide des souches industrielles de *Saccharomyces pastorianus* et *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of the institute of brewing ;116 : (464-474).
68. **ManayShakuntala N and Shadaksharaswamy amy M (2001)**. Food : Facts and principles, Second Edition. New Age International Publishers.
69. **Marchal (1991)**, Guiraud,2003. Marchal N., Bourdon JL, Richard CL. -Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 -ème Edition Doin éditeurs, Paris, 1991.
70. **Marchal N, Bourdon J.L et Richard CL (1991)**. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed., Doin éditeurs, Paris.
71. **Martin S et Andrantsitohaina R (2002)**. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie,5(6) :303-403.
72. **Matz S A (1991)**. The Chemistry and technology of cereal as food and feed. Second.
73. **Mebarkia A , Yvan R, Guechi A, Bouras A, Makhlouf M (2005)**. Susceptibility of twelve soft wheat varieties (*Triticum aestivum*) to *Sitophilus granarius*. Agriculture and biology journal of north america,1(4) :571-578.
74. **Minh Tri (2015)**. Identification Des Levures Et Moisissures. J Nouvelle riserie du nord ;1.

75. **Mitsuhiro Yanagida** (2003). The model unicellular eukaryote, *Schizosaccharomyces pombe*. JOURNAL OF Genome Biology ;3(3).
76. **McCullough MJ, Clémons KV, Mc Cusker JH and Stevens DA** (1998). Identification de l'espèce et attributs de virulence de *Saccharomyces boulardii* (nom. Inval.). J National Library of Médecine. 36(9) : 2613-7.
77. **Mokhtari M, and Nadia M** (2012). Electronique Appliquée, Electromécanique sous Simscape & SimPowerSystems (Matlab/Simulink). Electronique Appliquée, Electromécanique sous Simscape & SimPowerSystems (Matlab/Simulink). XIV, 664.
78. **Molinié A and Pfohl-Leszkowicz A** (2003). Les mycotoxines dans les céréales : les points importants de contrôle de la production au stockage, le devenir dans les produits dérivés. Laboratoire de Toxicologie et sécurité alimentaire-Auzeville-Tolosane. Note de l'ASEDIS- SO N° spécial Mycotoxines : 9.
79. **Mosiniak M, Prat R, and Roland JC** (2001). Du blé Au pain. Copyright "Biologie et Multimédia", source Internet.
80. **Moré M and Swidsinski A** (2015). *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 supports regeneration of the intestinal microbiota after diarrheic dysbioses – a review.8 :235-257.
81. **Mugula jk, nnko s a m, narvhus j a and sørhaug T** (2003). Microbiological and fermentation characteristics of togwa, a Tanzanian fermented food. International Journal of Food Microbiology 80 : 187–199.
82. **Muyanja B K, narvhus JA, Treimo J and Langsrud t** (2003). Isolation, characterisation and identification of lactic acid bacteria from bushera : à Uganda traditional fermented beverage. International journal of food microbiology 80 : 201–210.
83. **Mylona A E, Del Fresno M, Palomero F, Loira I, Bañuelos MA, Morata A, Calderón F, Benito S, Suárez-Lepe J A** (2016). Use of *Schizosaccharomyces* strains for wine fermentation—Effect on the wine composition and food safety. International Journal of food Microbiology ;232 :63-72.

## N

84. **Narayanasamy P.** (2006). Pathogènes post-récolte et gestion des maladies. John Wiley ; 672 p.
85. **Nout MJR** (2009). Rich nutrition from the poorest-Cereal fermentations in Africa and Asia.
86. **Nout MJ.** (2009). Rich nutrition from the poorest – cereal fermentations in africa andasia. Food microbiology 26 : 685–692.

## O

87. **Olmedo AO and cantrell rg.** (1995). Recurrent selection for grain yield in Durum Wheat. Crop Scid N° 35, Pp : 714-719. IN : Evaluation de la qualité d'un germoplasme du blé dur (*Triticum durum Desf*) appréciation de l'aptitude technologique et biochimique. Ait Kaki S. (2001). Mémo de Mag. Univ Badji Mokhtar. Annaba.
88. **Osborne T B** (1924). The vegetables proteins 2<sup>nd</sup> Edition. Longmans, Green & Co-edition London, England ;154p.
89. **Ouoba L I, Diawara B, Annan NT, Poll L and Jakobsen M** (2005). Volatile compounds of Soumbala, a fermented African locust bean (*Parkia biglobosa*) food condiment, Journal of Applied Microbiology ; 99 : 1413-1421.

## P

90. **Paul R, Morgan S and Hill C** (2002). Preservation and Fermentation : present and future, Journal of Food. Microbial ; 79 : 3– 16.
91. **Pomeranz Yeshajahu** (1987). Cereal Crops general. In Modern cereal science and technology Pomeranz Y (eds), VCH Publishers, Inc., New York : 14-23p.
92. **Prats J and Grandcount MC.** (1971). Les céréales 2<sup>ème</sup> éd Coll. d'enseignement Agricole, pp : 288 P.
93. **Prückler M, Cindy L, Akihito E, Manuel K, Klaus D.K, Francisco S, Eric A and**

**Wolfgang K** (2015). Comparison of homo- and hetero fermentative lactic acid bacteria for implementation of fermented wheat bran in bread ; 211-219.

## R

94. **Railany V, Daiane C, Ana C, Josemar G, Adrielle B, Thayanara M, Fabiano G and Mariana B** (2020). Paramètres de qualité et profil sensoriel du jus de cajou clarifié « Cerrado » supplémenté en *Saccharomyces boulardii* et différents édulcorants Elsevier ;128 :500.
95. **Reed C** (1992). Development of storage techniques: A historical perspective. In Storage of Cereal Grains and Their Products. Chapter 4: 143-156.
96. **Robert J** (1980). Valeur nutritive des aliments, Alimentation des ruminants, Ed INRA Publication (Route de Saint Cyr) 78000 Versailles dépôt légal n°1281, ISBN 2.85340-288-6 : 557.
97. **Robert J** (1980). Valeur nutritive des aliments, Alimentation des ruminants, Ed INRA Publication (Route de Saint Cyr) 78000 Versailles dépôt légal n°1281, ISBN 2.85340-288-6 : 557.
98. **Roudaut H and Lefranc E** (2005). Alimentation théorique : Sciences des aliments. **Samelis J, Maurogenakis F and Metaxopoulos J** (1994). Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami, Inter. J. Food. Microbiol., 23: 179-196.

## S

99. **Samuel Plante M** (2014). Caractérisation des transporteurs de cuivre chez la levure *Schizosaccharomyces pombe* en différenciation méiotique. Mémoire présenté à La Faculté de médecine et des sciences de la santé En vue de l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.) en biochimie.
100. **Selmi R.** (2000). Fin du mythe de l'autosuffisance alimentaire et place aux avan tages comparatifs. Revue Afrique Agriculture. N° 280, Pp : 30-23. IN : Evaluation de la qualité d'un germoplasme de blé dur (*Triticum durum Desf*): appréciation de l'aptitude.
101. **Shuxun L, Paulina H, Maarit H, Alexis M, Xueying M, Baoru Y and Oskar L** (2021). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces*

pombe strains on chemical composition and sensory quality of ciders made from Finnish apple cultivars. *Journal Food Chemistry* ;345.

102. **elselet-Attou G** (1991). Technologie des céréales et produits dérivés. Institut de Technologie Agricole-Mostaganem. Document à l'usage des étudiants, option : Technologie Agro- alimentaire ; 147p.

103. **Singleton P** (1999). Bactériologie. 4ème Edition. Dunod, Paris : 317.

104. **Soltner D.** (2005). Les grandes productions végétales. 20ème Ed CCTA, Pp : 20

105. **Songré-Ouattara LT, Mouquet R, Icard V, Rochette I, Diawara B and Guyot J.P** (2009). Potential of amylolytic lactic acid bacteria to replace the use of mal for partial starch hydrolysis to produce African fermented pearl millet gruel for thickened with groundnut, *International Journal of Food Microbiology* ;130 : 258-264.

106. **Surget A and Barron C.** (2005). Histologie du grain de blé, Industrie des céréales .145 : 4-7.

## T

107. **Tamang j P.** (2010) c. Diversity of fermented beverages and alcoholic drinks. In *fermented foods and beverages of the world* p. 448. CRC press/Taylor & Francis, Boca Raton, USA.

108. **Tim M,** Mathias H, Maximilian M, Frank-Jürgen and Mand F J (2017). The Importance of a Comparative Characterisation of *Saccharomyces Cerevisiae* and *Saccharomyces Pastorianus* Strains for Brewing. *Journal of Fermentation* ;3(3) :41.

109. **Tsao R** (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. Guelph Food Research Centre, Agriculture et Agri-Food Canada. *Nutrients* ; 2 : 1231-1246.

## V

110. **Vensel W H, Tanaka C K, Cai N, Wong J.H, Buchanan B.B and Hurkman W.J** (2005). Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm. *Proteomics* ; 5 :1594-1611.

111. **Vierling E** (2008). Aliments et Boissons : Filière et Produits. Doin éditeurs. 3ème édition ; 277p.

## Y

112. **Yao A A, Egounlety M, Kouame L.P and Thonart P** (2009). Les bactéries lactiques dans les aliments ou Boissons amylicés et fermentés de l'Afrique de l'Ouest : leur utilisation actuelle. Ann1. Méd. Vét ; 153 : 54-65.

113. **YoungKim J, Chunghee C and Byung NamC** (2010). Plasmid DNA of high quality purified by activated charcoal. Journal of Bioscience and Bioengineering.,110(5) : 608-613.

114. **Yuqi z and Howard b. Lieberman** (1995). *Schizosaccharomyces pombe* : A Model for Molecular Studies of Eukaryotic Genes. Journal Dna and Cell Biology.14(5) :359-371.



# Annexe

## Annexe I : Composition milieu pré enrichissement

### ✓ Milieu PBS :

Phosphate dispotassique d'hydrogène.....	1.1g
D'hydrophosphate de potassium.....	0.23g
Chlorure sodique.....	8.5g

## Annexe II : Composition milieu enrichissement

### ✓ Milieu YPD 500 ml eau distillée :

Peptone.....	10g
Glucose.....	10g
Extraie de levure.....	5g

## Annexe III : Composition des milieux de cultures (g/l)

### • Milieux solides

#### ✓ OGA oxytetracycline glucose agar

Glucose .....	20g
Extrait de la levure .....	5g
Agar .....	15g
Eau distillé q.s.p .....	1000 ml
PH=7±0.2 à 37°C	

#### ✓ Milieu TSI

Peptone.....	20g
Saccharose .....	10g
Extrait de viande .....	3g
Glucose .....	1g
Extrait de la levure .....	3g
Na CL .....	5g
Rouge de phénol .....	0.024mg
Sulfate ferreux ammoniacal.....	0.2g
Thiosulfate de sodium.....	0.3g

Agar .....13g  
Eau distillé q.s.p .....1000 ml  
pH=7±0.2 à 37°C

- **Milieux liquides**

- ✓ **OGA-Bouillon**

Extrait de levure .....5g  
Glucose .....20g

- ✓ **Milieu indole**

Tryptone.....2.5g  
Di sodium phosphate.....0.5g  
Nitrate de potassium.....0.25g  
Glucose .....0.25g  
Agar .....13g  
Eau distillé q.s.p .....250 ml  
PH=7±0.2 à 37°C

- **Conservation des souches**

- On prend des colonies bien séparées d'un milieu OGA et les verse dans 6ml de bouillon OGA liquide avec une incubation de 72 heures.
- On met 03 ml dans un cryotube
- On fait une centrifugation 3000 tours/min pendant 10 min à 4°C
- On jette le surnageant et on garde le culot
- On ajoute au culot 1ml BHI + 500 µl de glycérol 80% puis on vortexe avant de congeler à -20°C