

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par

HAMED Djahira

CHERCHEB Nourhene

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER II EN BIOLOGIE

Spécialité : Nutrition et santé

THÈME

**Elaboration d'un milieu de culture à base de lentille,
fruits et noyaux de dattes substitut du MRS**

Soutenu publiquement le 22/05/2017

DEVANT LE JURY D'EXAMEN COMPOSÉ DE

Présidente: **Y. Boufadi**

MCA Univ. Mostaganem

Examineur: **A. Chaalel**

MCB Univ. Mostaganem

Promotrice: **S. Keddari**

MCA Univ. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de LMBAFS

Année Universitaire : 2016/2017

REMERCIEMENT

Ce travail a été réalisé au Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la santé-LMBAFS- dirigé par le Professeur A. RIAZI. Dont on lui adresse une profonde reconnaissance.

On remercie particulièrement la directrice de notre mémoire, Mme S KEDDARI qui a bien voulu diriger cette recherche et nous a constamment éclairé par ses connaissances. On tiens à lui adresser toute notre gratitude, pour sa disponibilité et pour la confiance qu'elle nous a témoigné en nous donnant une liberté d'action dans la réalisation de ce travail de recherche. On a pu apprécier pendant notre master sa grande qualité scientifique, humaine et culturelle.

On souhaite témoigner nos remerciements tout aussi sincères aux nombre de notre jury :

A Mme Y. BOUFADI, maître de conférences à l'université de Mostaganem, d'avoir accepté de présider notre jury. Qu'elle trouve ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A Mr M. CHAALAL, maître de conférences à l'université de Mostaganem, qui a bien voulu prendre le temps d'examiner et de juger ce travail. Les critiques scientifiques valorisent certainement ce travail.

On tiens à remercier chaleureusement nos enseignant, Mr DJIBAOUI, Mr CHERIGANE et Mme CHOGRANI pour leur aide et leur conseils qui ont contribué à notre formation.

On voudrait enfin associer à ces remerciements toute l'équipe du laboratoire (LMBAFS) en particulièrement Mme Y. BOUFADI.

DEDICACE

Je dédie ce mémoire à :

Mes très chers parents

Mon mari qui n'arrête pas de me soutenir

Mes très chers enfants

Mes chers frères.

Mes chères sœurs,

Mes amis et mes collègues de travail particulièrement

LATIFA BENDJERMIKH

Enfin à tous qui me sont chers.

Sans oublier la promotion de Nutrition et santé 2016/2017

DJAHIRA HAMED

DEDICACE

*C'est avec tous mes sentiments que je dédie ce modeste travail:
à mes très chers parents qu'ils m'ont donné la vie, le symbole de tendresse,
qui ont sacrifiés pour mon bonheur et ma réussite durant toutes les années
des études.*

Que dieu les gardes et les protèges.

à mes adorables sœurs Nihed et Djihane .

à mon frère Zine Eddine.

à mes chère (e) ami (e)

CHÉRCHÉB Nourhene

Résumé:

Dans cette étude trois milieux de culture ont été développés (PD, ND et NL) à base de matières végétales disponibles localement avec une faible valeur marchande, il s'agit de (datte sèche Mech Dagla) et un déchet agro-industriels (noyaux de datte). Les lentilles ont été additionnées aux milieux de culture afin de pallier la carence protéique. Cette étude a permis de valoriser ces déchets d'une part et l'obtention d'un milieu de culture moins onéreux par rapport au milieu de référence MRS qui est un milieu favorable pour la croissance des bactéries lactiques d'autre part. Quatre souches bénéfiques lactiques ont été exploitées (Lb-P, Lb-A, Bb12 et Bb443). Sur le plan de leur cinétique de croissance, il n'existe pas une différence significative ($p > 0,05$) entre PD et MRS. La biomasse la plus importante est obtenue sur les milieux MRS et PD avec une valeur de 14,39 et 17,35 log UFC/ml respectivement, faible sur milieu NL et négligeable sur milieu ND. Les quantités en sucres totaux ainsi qu'en protéines des milieux fermentés ont été satisfaisantes. Selon la cinétique d'évaluation du pH, les deux milieux ND et MRS sont similaires et toutes les souches testées ont un pouvoir acidifiant rapide sur ces milieux.

Mots clés: Datte, Bactéries lactiques, Valorisation, Fermentation, Biomasse.

Abstract:

In this study, three culture media were developed (PD, ND and NL) based on locally available plant materials with a low market value, namely (Mech Dagla dry date) and agro-industrial waste (nuclei of date). The lenses were added to the culture media in order to overcome the protein deficiency. This study made it possible to upgrade these waste on the one hand and to obtain a culture medium less expensive compared to the reference medium MRS which is a favorable medium for the growth of lactic acid bacteria on the other hand. Four beneficial lactic strains were used (Lb-P, Lb-A, Bb12 and Bb443). In terms of their growth kinetics, there is no significant difference ($p < 0.05$) between PD and MRS. The most important biomass is obtained on the MRS and PD media with a value of 14.39 and 17.35 log CFU / ml respectively, low on NL medium and negligible on ND medium. The amounts of total sugars and proteins in the fermented media were satisfactory. According to the pH evaluation kinetics, the two media ND and MRS are similar and all the strains tested have a fast acidifying capacity on these media.

Key words: Dates, Lactic acid bacteria, Valorisation, Fermentation, Biomass.

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau01	Teneur en eau de quelques variétés de dattes de la région Fliache (Biskra), en % d'après (Noui, 2007)	03
Tableau02	Teneur en sucres de quelques variétés algériennes d'après (Belguedj, 2001)	04
Tableau03	Composition en matières protéines (% MS) du noyau de dattes.	08
Tableau04	Composition en éléments minéraux du ND de différentes variétés.	09
Tableau05	Taux de fibres dans quelques variétés du noyau de dattes.	10
Tableau06	La teneur en g/100g des sucres présente dans les noyaux de dattes.	10
Tableau07	Composition en acides aminés des lentilles (Boye et al., 2010b)	14
Tableau08	La couleur des différents milieux préparés.	27
Tableau09	Estimation du cout des milieux développés et le milieu MRS	28
Tableau10	Caractérisation physico-chimique des milieux de cultures	29
Tableau11	Probabilité « p » de l'analyse de comparaison des moyennes de la biomasse (Bb 443)	31
Tableau12	Probabilité « p » de l'analyse de comparaison des moyennes de la biomasse (Bb 12)	33
Tableau13	Probabilité « p » de l'analyse de comparaison des moyennes de la biomasse (Lb – A)	33
Tableau14	Probabilité « p » de l'analyse de comparaison des moyennes de la biomasse (Lb – P)	35
Tableau15	Evolution de Δ pH de chaque culture bactérienne	36
Tableau16	Consommation en sucres totaux et protéines sur les milieux	39

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure01	Morphologie et anatomie du fruit et de la graine du dattier (MUNIER, 1973)	02
Figure02	Datte Mech-Degla.	16
Figure03	Noyau de datte.	17
Figure04	Lens culinaris.	17
Figure 05	Les étapes de préparation du milieu de culture PD.	18
Figure 06	Les étapes de préparation du milieu de culture ND.	19
Figure 07	Les étapes de préparation du milieu de culture N+L.	20
Figure 08	Technique détermination de la teneur en eau.	21
Figure09	Technique de dilution et de dénombrement par des spots (Guiraud, 1998).	24
Figure10	La technique de dénombrement sur milieu MRS solide par méthode des spots (Guiraud, 2003).	25
Figure11	Coloration de Gram de différentes souches testées.	26
Figure12	Dénombrements sur milieu MRS solide par méthode des spots (Guiraud, 1998).	30
Figure13	La courbe de croissance de la souche Bb443 sur différents milieux de pendant 72heures à d'incubation à 37°C.	31
Figure14	La courbe de croissance de la souche B12 sur différents milieux de culture pendant 72heures à d'incubation à 37°C.	32
Figure15	La courbe de croissance de la souche Lb-A sur différents milieux de culture sur milieu pendant 72heures à d'incubation à 37°C.	34
Figure16	La courbe de croissance de la souche Lb-p sur différents milieux de culture pendant 72 heures à d'incubation à 37°C.	35
Figure17	Les courbes d'évaluation de pH des souches Lb-A et Lb-p au cours de la fermentation des différents milieux de culture (N, PD, NL, MRS)	37
Figure 18	Les courbes d'évaluation de pH des souches Bb 443 et Bb12 au cours de la fermentation des différents milieux de culture (N, PD, NL, MRS)	38
Figure 19	Pourcentage de la Consommation en sucres totaux.	40
Figure 20	Pourcentage de la Consommation en protéines totaux.	40

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
FAO	Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
FD	fibres diététiques
FB	fibres brut,
LEN	Lentille
CO2	Dioxyde de carbone
PD	Poudre de datte
ND	Noyau de datte
Cr	Chrome
Lb-p	<i>lactobacilles plantarum</i>
Bb12	<i>Bifidobacterium animalis subsp lactis</i>
Bb443	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
Lb-A	<i>lactobacillus acidophilus</i>
UFC	Unité formant colonies
BAS	Albumine de sérum bovin

SOMMAIRE

Remerciement	
Dédicace	
Resumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1
CHAPITRE I: Les différents substrats fermentescibles	
I.1. Les dattes:.....	2
I.1.1 Aspect botanique	2
I.1.2. Les différentes variétés de dattes	3
I.1.3. Production des dattes dans le monde et en Algérie.....	3
I.1.4. Composition physicochimique des dattes :.....	3
I.1.4.1. La teneur en eau :.....	3
I.1.4.2 Le pH :.....	4
I.1.5 - Composition biochimique :	4
I.1.5.1. Les sucres totaux et réducteurs :	4
I.1.5.2. Les acides aminés	4
I.1.5.3. Les Pigments	5
I.1.5.4.Les fibres.....	5
I.1.5.5. Les enzymes	5
I.1.5.6. Les composés phénoliques	5
I.1.5.7. Les lipides	5
I.1.5.8. Les minéraux	5
I.1.5.9. Les vitamines	6
I.1.6. Classification des dattes.....	6
I.1.7.La biovalorisation des déchets de dattes.....	6
I.1.8. Usage médicinal des dattes.....	7
I. 2. Noyaux de dattes	7
I.2.1. Caractéristiques physico-chimiques de noyau de dattes	7
I.2.2. Composition chimique de noyau de dattes	8
I.2.2.1. Composition en matière protéique.....	8
I.2.2.2. Composition en éléments minéraux.....	8
II.2.2.3. Les fibres.....	9
I.2.2.4. Les sucres.....	10

I.2.2.5. Teneur en polyphénols.....	11
I.2.3. Actions pharmacologiques.....	11
I.2.3.1. Fonction antiseptique.....	11
I.2.3.2. Fonction cosmétologique.....	11
I.2.3.3. L'activité antivirale.....	11
I.2.4. Différentes utilisations du noyau de datte.....	12
I.2.4.1. Alimentation animale.....	12
I.2.4.2. Fabrication de charbon actif.....	12
I.2.4.3. Autres utilisations.....	13
I.3. Les lentilles (<i>Lens culinaris</i>).....	13
I.3.1. Classification de l'espèce <i>Lens culinaris</i>	13
I.3.2. Propriétés physico-chimiques des protéines de lentilles.....	14
I.3.2.1. Composition en acides aminés.....	14

CHAPITRE II: Matériels et Méthodes

II.1. Matériels.....	15
II.1.1. Matériel biologique.....	15
II.1.2. Origine et entretien des souches.....	15
II.2. Méthodes.....	15
II.2.1. Revivification des souches.....	15
II.2.1.1. Etude macroscopique.....	15
II.2.1.2. Etude microscopique.....	15
II. 2.2. Sélection des substrats utilisées	16
II.2.2.1 Sélection de dattes	16
II.2.2.2. Sélection de noyaux de dattes.....	17
II.2.2.3. Sélection de lentille.....	17
II.2.3. Préparation des milieux cultures naturelles.....	17
II.2.3.1. Préparation du milieu de culture a base de la poudre de datte.....	18
II.2.3.2 Préparation du milieu de culture a base de noyau de datte.....	19
II.2.3.3 Préparation du milieu de culture a base de lentille et du noyau de datte.....	20
II.2.3.4 Préparation des milieux de culture de référence MRS	21
II.2.4. Caractérisation chimique des milieux de culture liquides.....	21
II.2.4.1. Détermination de la teneur en eau.....	21
II.2.4. 2. Mesure du pH (AFNOR, 1986).....	22
II.2.4.3. Dosage des sucres totaux.....	22

II.2.4.4. Dosage protéine :	23
II.2.5. Ensemencement des milieux de culture.....	23
II.2.5.1. Préparation d'inoculum.....	23
II.2.5.2. Détermination de la cinétique de croissance et suivi de pH.....	23
II.2.5.2.1 : Dénombrement direct des bactéries.....	24
II.2.6. Etude statistique.....	25
III.1. Vérification de la pureté des souches.....	26
III.1.1. Caractères microscopiques des souches étudiées	26
III.2. Description des milieux de cultures.....	27
III.2.1. La couleur des différents milieux préparés est mentionnée dans le tableau 09...	27
III.2.2. Estimation du cout des milieux développés.....	28
III.2.3. Caractérisation des milieux des cultures.....	28
III.3. Conduit des fermentations.....	30
III.3.1 La souche Bb443.....	30
III.3.2 La souche Bb12.....	32
III.3.3. La souche Lb-A.....	33
III.3.4. La souche Lb-P.....	34
III.4.Détermination de la cinétique d'acidification.....	35
III.5. Estimation de la consommation en sucres totaux et en protéines à l'issue de la fermentation liquide.....	39
Conclusion et perspectives	41
Références Bibliographiques.....	43

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction :

Les bactéries lactiques occupent une place importante dans l'alimentation. Elles sont responsables de la fermentation de produits alimentaire, qu'ils soient d'origines laitières, carnées ou végétales. La flore lactique naturellement présente dans les matières est maintenant remplacée par les mélanges commerciaux de différentes souches. L'utilisation de ces ferments, appelés aussi « cultures starter » permet une meilleure maîtrise de la fermentation (Garry, 1999). La culture de ces bactéries est réalisée principalement sur le milieu de culture MRS (Du Man, Rogosa et Sharpe)

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est la plus importante culture des zones arides et semi-arides. Il joue un rôle important dans la vie économique et social des populations de ces régions (Sedra, 2003).

La datte fait l'objet d'un commerce intérieur important, surtout la variété Deglet-Nour. Les autres variétés, même si elles ne sont pas largement commercialisées sur les marchés, peuvent être transformées en divers produits alimentaires tel que: les farines de dattes, le sirop de dattes et le jus de dattes (Touzi, 2005).

La valorisation de ces dattes par les procédés biotechnologiques permet la production de biomasse et de différents métabolites. Cette production de biomasse constitue la base de nombreuses activités industrielles : production de levain, production de levures diététique, etc...

Les sous produits du palmier dattier (feuilles, tronc, noyaux, pédicelles, etc...) ont diverses utilisations dans les régions sahariennes. Les noyaux de dattes, en particulier, sont destinés à l'alimentation de bétail quand ils ne sont pas carrément jetés.

De nombreux travaux de recherche sont consacrés à la valorisation du noyau de dattes sous différentes formes : charbon actif (Girgis *et al.*, 2002 ; El Nemr *et al.*, 2007; Alhamed *et al.*, 2009), supplément en alimentation de bétail (Hussein et Alhadrami, 2003), en médecine traditionnelle (Hamada *et al.*, 2002) et pour ses propriétés antimicrobienne et antivirale (Mossa *et al.*, 1986 ; Sabah *et al.*, 2007) préparation de l'acide citrique et de protéines (Al-Ogaidi *et al.*, 1988).

Les dattes sont connues pour leur valeur nutritionnelle. Bien qu'elles soient riches en certains sels minéraux (Abou-Zeid *et al.*, 1991), vitamines (Abou-Zeid *et al.*, 1991) et acides

organiques (Youssef et al., 1992), c'est surtout leur teneur en sucres qui en fait un aliment de premier choix. Les dattes et les noyaux de dattes par leur grande richesse en sucres et leur conservation relativement longue, offrent de nombreuses possibilités technologiques suivant le traitement auquel elles sont soumises.

Notre objectif est la biovalorisation d'un produit végétal de faible valeur marchande (datte de variété Mech Dagla), ainsi qu'un déchet de l'industrie agro-alimentaire (noyaux de dattes) pour l'obtention des milieux de culture moins onéreux par rapport au milieu MRS qui est un milieu de culture favorable pour la croissance des bactéries lactiques. Les lentilles ont été additionnées aux milieux de culture afin de pallier la carence protéique

Les matières premières végétales ont été choisies en fonction de :

- Leur disponibilité localement ;
- Leur richesse en élément nutritifs (Richesse en sucre / azote / éléments minérale);
- Leur faible cout et faible valeur marchande.

CHAPITRE I

Les différents substrats fermentescibles

I.1 Les dattes

En Algérie, le palmier dattier est cultivé au niveau de 17 wilayas seulement pour une superficie de 120 830 hectares (Messaid, 2008). La palmeraie algérienne héberge un matériel génétique très riche et diversifié avec 940 cultivars recensés (Hannachi *et al.*, 1998).

I.1.1 Aspect botanique :

La datte (Fig 01), fruit du palmier dattier, est une baie généralement de forme allongée, oblongue ou arrondie (Espiard, 2002), avec des dimensions très variables de 2 à 8 cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés (Djerbi, 1994). La datte renferme un seul grain appelé noyau, sa partie comestible dite, chair ou pulpe est constituée d'un :

- Péricarpe ou enveloppe cellulosique fine dénommée peau.
- Mésocarpe généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucre et de couleur soutenue.
- Endocarpe de teinte plus claire et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau (Espiard, 2002).

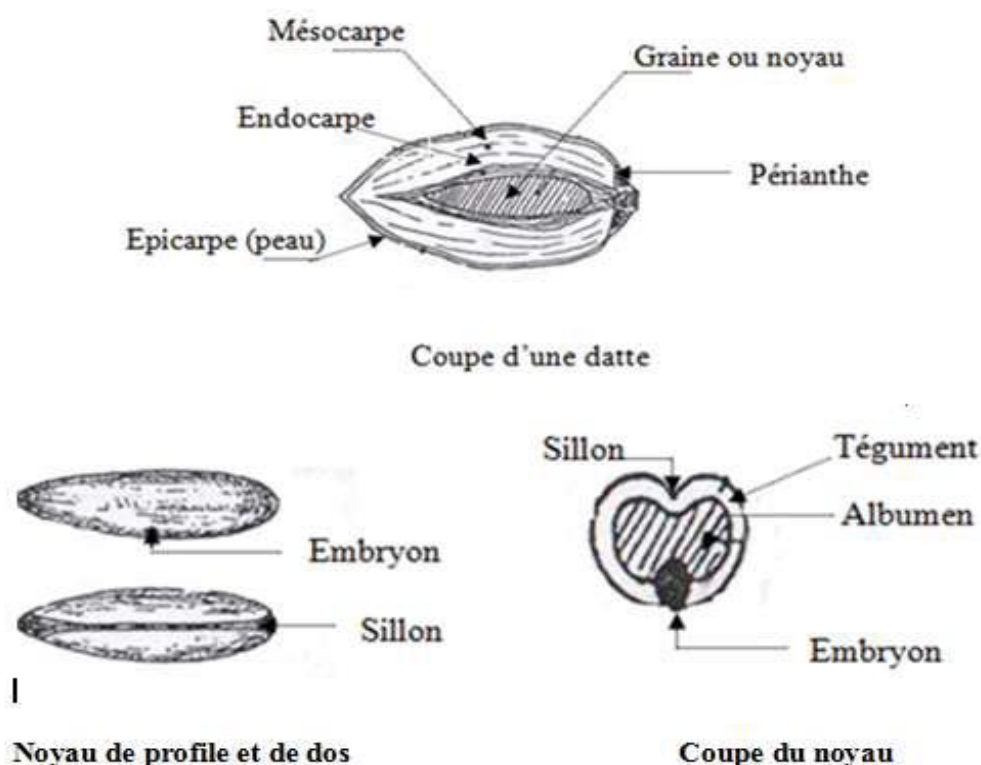


Fig 01: Morphologie et anatomie du fruit et de la graine du dattier (Munier, 1973)

I.1.2. Les différentes variétés de dattes :

Elles sont très nombreuses et se différencient par leurs saveurs, consistances, formes, couleurs, poids et dimensions (Buelguedj, 2001).

Les principales variétés cultivées sont :

➤ Variété d'excellence:

Deglet-Nour, C'est une datte demi-molle, considérée comme étant la meilleure variété de datte du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur. A maturité la datte est d'une couleur brune ambrée avec un épicarpe lisse légèrement plissé et brillant, le mésocarpe présentant une texture fine légèrement fibreuse.

➤ Variétés communes :

Ces variétés sont de moindre importance économique par rapport à Deglet-Nour. Les plus répandues sont : Ghars, Degla-Beïda et Mech-Degla.

I.1.3. Production des dattes dans le monde et en Algérie :

La production mondiale de dattes se situe entre 5,5 et 6 millions de tonnes/an dans 34 pays parmi les plus importants : l'Egypte, l'Iran, l'Arabie Saoudite, les Emirats arabes, l'Irak, le Pakistan et l'Algérie. Selon les données de la FAO, l'Algérie serait le cinquième producteur mondial de dattes avec une production annuelle de 300.000 à 320.000 tonnes (Acourène et Tama, 1997).

I.1.4. Composition physicochimique des dattes :

I.1.4.1 La teneur en eau :

La teneur en eau est en fonction de la variété, du stade de maturation et du climat. Elle varie entre 8 et 30 % du poids de la chaire fraîche avec une moyenne d'environ 19 % (Noui, 2007). (Tableau 1)

Tableau 1 : Teneur en eau de quelques variétés de dattes de la région Fliache (Biskra), en % d'après (Noui, 2007)

Variété	Consistance	Teneur en eau
Deglet-Nour	Demi-molle	22.60
Mech-Degla	Sèche	13.70
Ghars Molle	Molle	25.40

I.1.4.2 Le pH :

Le pH de la datte est légèrement acide, il varie entre 5 et 6. Ce pH est préjudiciable aux bactéries mais approprié au développement de la flore fongique (Reynes *et al*, 1994). L'acidité de la datte est faible et varie entre 2,02 et 6,3 g d'acide/Kg (Bessas, 2008).

I.1.5 - Composition biochimique :

I.1.5.1 - Les sucres totaux et réducteurs :

Les sucres sont les constituants majeurs de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélé essentiellement trois types : saccharose, fructose et glucose (Estavove, 1990; Acourene *et Tama*, 1997). Ceci n'exclue pas la présence d'autres sucres en faible proportion tels que : le galactose, le xylose et le sorbitol (Favier *et al.*, 1993; Siboukeur, 1997).

La teneur en sucres totaux est très variable, elle dépend de la variété et du climat. Elle varie entre 70 et 90 % du poids de la matière sèche (Tableau 2) (Belguedj, 2001).

Tableau 2 : Teneur en sucres de quelques variétés algériennes d'après (Belguedj, 2001)

Constituant par rapport à la matière sèche %	Datte molle (Deglet Nour)	Datte demi (Ghars)	Datte sèche (Mech Degla)
Sucres totaux	85.28	71.37	80.07
saccharose	80.68	22.81	20.00
Sucre réducteur	04.37	46.11	51.40

I.1.5.2 - Les acides aminés :

Les dattes sont caractérisées par une faible teneur en protéines. Elle varie entre 0,38 et 2,5 % du poids sec. Malgré cette faible teneur, les protéines de la datte sont équilibrées qualitativement (Yahiaoui, 1998). La composition en acides aminés des protéines de la pulpe de datte révèle la présence de 6 à 8 acides aminés indispensables pour l'homme (Bessas *et al*., 2008).

I.1.5.3- Les Pigments :

Les principaux pigments identifiés dans les dattes sont : les caroténoïdes , les antocyanines , les flavones, les flavonols , les lycopènes , les carotènes et les flavoxanthines (Bousdira, 2007).

I.1.5.4- Les fibres :

La datte est riche en fibres (6,4 à 11,5%) du poids sec (Al-Shahib et Marshall, 2003). Les constituants pariétaux de la datte sont : la pectine, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Ce sont des agents qui interviennent dans la modification de la fermeté de la datte (Benchabane, 1996).

I.1.5.5- Les enzymes :

Les enzymes jouent un rôle important dans les processus de la conversion qui a lieu pendant la formation et la maturation du fruit. Parmi ces enzymes, on peut citer l'invertase, les polygalacturonases et pectinesterases, les polyphénoloxydases et les peroxydases (Bousdira, 2007).

I.1.5.6- Les composés phénoliques :

La datte renferme des substrats dits composés phénoliques .L'analyse qualitative des composés phénoliques de la datte a révélé la présence d'acide cinnamique, des flavones, des flavanones et des flavonols (Bousdira ,2007).

I.1.5.7- Les lipides :

La datte renferme une faible quantité de lipides. Leur taux varie entre 0,43 et 1,9 % du poids frais. Cette teneur est en fonction de la variété et du stade de maturation (Djouab, 2007). Les dattes contiennent comme acides gras saturés l'acide caprique, l'acide laurique, l'acide palmitique et l'acide stéarique, et comme acides gras insaturés, l'acide fétique , l'acide oléique et l'acide linoléique (Al-Shahib et Marshall, 2003).

I.1.5.8- Les minéraux :

L'étude de 58 variétés de dattes cultivées dans la région des Zibans faite par (Acourene et al., 2001), montre que le taux de cendres est compris entre 1,10 et 3,69 % du poids sec.

I.1.5.9- Les vitamines :

La datte n'est pas une source importante de vitamines. Les plus dominantes sont la vitamine A et les vitamines B1 et B2 qui sont en proportions appréciables. Les vitamines C et D sont quasiment inexistantes (Al-Shahib et Marshall, 2003; Bousdira ,2007).

I.1.6- Classification des dattes :

D'après Espiard, (2002), la consistance de la datte est variable. Selon cette caractéristique, les dattes sont réparties en trois catégories : dattes molles, dattes demi-molles et dattes sèches de consistance dure.

I.1.7- La biovalorisation des déchets de dattes:

Les dattes abîmées et de faible valeur marchande peuvent être utilisées en raison de leur forte teneur en sucre pour la production de :

- *La biomasse et protéines unicellulaires* : la production de protéines reste un objet essentiel afin de subvenir aux besoins mondiaux. A cet égard, des essais de production de protéines d'organismes unicellulaires par culture de la levure *Saccharomyces cerevisiae* sur un milieu à base de dattes ont été réalisés.

- *Les alcools* : Les dattes constituent un substrat de choix pour la production de l'alcool éthylique. Selon Touzi (2005), l'alcool éthylique a été produit au laboratoire avec un rendement de 87 %.

- *Les vinaigres* : Les dattes peuvent être utilisées pour l'élaboration de nombreux produits alimentaires parmi lesquels le vinaigre (Ould El Hadj et al., 2001). Ce dernier a été produit par culture de la levure *Saccharomyces uvarum* sur un extrait de datte (Boughnou, 1988).

- *Les aliments de bétail*: les rebuts et les noyaux de dattes constituent des sous produits intéressants pour l'alimentation du bétail. La farine des noyaux de dattes peut être incorporée avec un taux de 10 % dans l'alimentation des poulets sans influencer négativement leurs performances (Gualtieri et Rappaccini, 1994).

- *Autres produits* : la datte constitue un substrat de choix pour la production de nombreux autres produits tels que le vin (Espiard, 2002) et le jus de datte (Siboukeur, 1997).

I.1.8 - Usage médicinal des dattes

Riches en fibres, les dattes facilitent le transit intestinal et exercent un rôle préventif des cancers colorectaux, des appendicites, de la diverticulose, des varices et des hémorroïdes.

Elles ont également un effet hypocholestérolémiant (Albert, 1998 ; Jaccot et Campillo, 2003). Energétique et riche en minéraux, le fruit permet de lutter contre l'anémie et les déminéralisations, il est donc recommandé aux femmes qui allaitent. Les dattes pilées dans de l'eau soignent les hémorroïdes, constipations et aussi l'ictère (jaunisse). Quant aux diarrhées, elles sont traitées par les dattes vertes tonifiantes. Calmantes sous forme de sirop très concentré, le robb, cette préparation apaise et endort les enfants.

Elle est aussi utilisée pour les maladies nerveuses et dans les affections broncho-pulmonaires, en décoction ou en infusion, les dattes traitent les rhumes, en gargarisme, elles soignent les maux de gorge (Benchelah et Maka, 2008).

I.2 Noyau de dattes

Le noyau est entouré d'un endocarpe parcheminé ; il est de forme allongée, plus ou moins volumineux, lisse ou pourvu de protubérances latérales en arêtes ou ailettes, avec un sillon ventral; l'embryon est dorsal, sa consistance est dure et cornée (Fig 01) (Dammak et al., 2007). Le noyau possède un albumen (endosperme) dur et corné dont l'embryon dorsal est toujours très petit par rapport à l'albumen (2 à 3 mm) (Darleen et al., 1985).

I.2.1. Caractéristiques du noyau de dattes

Selon Acourene et Tama (1997), une différence significative entre arbres a été relevée sur le diamètre, le poids, la longueur du noyau même si les palmiers pris en compte proviennent d'une même exploitation.

De plus, ces différences peuvent être induites par les types de pollen utilisés par les phoeniculteurs (Khalifa, 1980). Ce dernier auteur a démontré l'effet significatif des pollens sur les caractères morphologiques du noyau.

Les études effectuées par Acourene et Tama (1997), ont montré que le poids du noyau de dattes algériennes (Ziban) peut varier d'un cultivar à un autre selon différents paramètres: Poids : 0,6 – 1,69 g, diamètre : 0,58 – 1 cm et longueur: 2,9 – 3,15 cm.

I.2.2. Composition chimique du noyau de dattes

I.2.2.1. Composition en matière protéique

Plusieurs auteurs ont déterminé la composition en protéine du noyau de dattes de différentes variétés (Sawaya et al., 1984 ; Besbes et al., 2004a ; Aldhaheri et al., 2004 ; Al-Farsi et al., 2007). Les données moyennes (tableau 03) des analyses montrent que les noyaux de dattes sont riches en protéines qui représentent une biosubstance de valeur.

Tableau 03 : Composition en matières protéines (% MS) du noyau de dattes.

Variété	protéines (quand ce n'est pas spécifié : moyenne de plusieurs variétés)	Références
<i>Oman</i>		
Mebseeli	3,92	Al-Farsi et al., 2007
Om-Salah	5,40	Al-Farsi et al., 2007
Shahal	2,29	Al-Farsi et al., 2007
Autres	7,08	Rahman et al., 2007
<i>A. saoudite</i>	6,50	Khiyami et al., 2008
<i>Egyptienne</i>	6,00	El-shazly et al., 2009
<i>EAU</i>	6,00	Aldhaheri et al., 2004

I.2.2.2. Composition en éléments minéraux

L'analyse des éléments minéraux révélée par Chaira et al. (2007), Besbes et al. (2004b) et Devshony et al. (1992) montre que le potassium est le plus abondant dans le noyau de dattes, suivi par le phosphore, le magnésium puis le calcium. Ce dernier avec le phosphore sont deux minéraux souvent en carence dans la nourriture (Chaira et al., 2007). Le sodium vient en dernier. Alors que parmi les micro-éléments, le fer a la teneur la plus élevée suivie par le zinc.

Le (tableau 04, p 09) résume les compositions en éléments minéraux des noyaux des dattes des différentes variétés selon les auteurs cités précédemment.

Tableau 04: Composition en éléments minéraux du ND de différentes variétés.

	Chaira et al. (2007) (Variétés tunisienne)	Besbes et al. (2004a) (Variétés tunisienne)	Devshony et al. (1992) (Variétés palestiniennes) (%)
K	0,23 – 0,28% (MS)	229 – 293**	25,4 – 28,9
Ca	0,026 – 0,034% (MS)	28,9 – 38,8**	1,35 – 1,87
Mg	0,048 % (MS)	51,7 – 58,4**	-
P	0,058 – 0,07% (MS)	68,3 – 83,6**	6,74 – 9,36
Na	9,57 – 10,37*	10,4 – 10,25**	0,38 – 1,48
Fe	1,76 – 1,88*	2,3 – 2,21**	0,22 – 1,68
Zn	1,17 – 1,36*	-	-
Cu	1,04 – 1,12*	-	0,07 – 0,2
Mn	0,27 – 0,35*	-	0,06 – 0,09

* mg 100.g-1 de MS ;

** mg / 100g

I.2.2.3. Les fibres

Pour l'ensemble des cultivars étudiés par différents auteurs, les noyaux de dattes ont un taux en fibres (brut et diététiques) variant de 71 – 94 % (tableau 5, p10). Les valeurs en : pectine soluble (0,67 %), acide de pectine brute (3,12 %), prépectine (1,43 %) et la pectine totale (3,21%) sont supérieures à celles de la pulpe de dattes (respectivement: 0,51% ; 2,65 % ; 1,02 % ; 2,77 %) (Barreveld, 1993).

Tableau 5 : Taux de fibres dans quelques variétés du noyau de dattes.

Les variétés	Composition en fibres (en % (m ND))	Références
Oman		
Mabsili	79,84 ± 1,85	Al-Farsi et al., 2007
Om-sellah	80,15 ± 3,19	
Shaha	77,75 ± 1,97	
Oman		Al-Farsi et al., 2008
Mabsili	81 – 94	
EAU	FB : 13,5 FD : 58,3	Aldhaheri et al., 2004

FB : fibres brut,

FD : fibres diététiques.

I.2.2.4. Les sucres

La teneur en sucres totaux (tableau 06) ainsi que la proportion en sucres réducteurs et de saccharose du noyau de dattes varient selon les variétés (Bennamia et Messaoudi, 2006) dans les limites de 4,4 à 4,6 % pour les sucres totaux, et de 2,2 % du poids du noyau en sucres réducteurs (Chaira et al., 2007).

Les teneurs en gramme en mannose, glucose, allose, galactose, arabinose, xylose, rhamnose et en fructose du noyau de dattes sont de 20,9 ; 2,01 ; 1,96 ; 0,35 ; 0,99 ; 0,48 ; 0,03 ; 0,01 respectivement (Aldhaheri et al., 2004).

Tableau 06: La teneur en g/100g des sucres présente dans les noyaux de dattes.

Les variétés	Composition en sucres	Références
<i>Tunisienne</i> Allige	5,44 ± 0,05	Chaira et al., 2007
<i>Algérienne</i> Deglet Nour	5,65 ± 0,18	
Egyptienne	2,22 - 3,99	Ibrahim et al., 1999

I.2.2.5. Teneur en polyphénols

L'étude de la composition du noyau de dattes en polyphénols a attiré l'intérêt de beaucoup d'auteurs (Besbes *et al.*, 2004b, 2005 ; Dammak *et al.*, 2007; Khanavi *et al.*, 2010).

➤ Besbes (2004b) et ses collaborateurs ont mené une étude sur des variétés des noyaux de dattes récoltées sur des palmeraies tunisiennes. Les différentes variétés analysées ont présenté un contenu phénolique dans la gamme de 215 et 526 mg / kg de matières sèches.

➤ Mansouri (2005) et ses collaborateurs ont mené une étude sur des variétés de dattes mûres récoltée sur des palmeraies de *Ghardaia*. Les différentes variétés analysées ont présenté un contenu phénolique dans la gamme 2,49 - 8,36 mg/100 g du poids à l'état frais. Ces résultats ont prouvé que la datte a un contenu phénolique bas comparé à d'autres fruits.

I.2.3. Actions pharmacologiques

I.2.3.1. Fonction antiseptique

Selon Al-Qarawi *et al.* (2005), les extraits des noyaux de dattes ont l'aptitude de reconstituer les fonctions normales des foies empoisonnés. Ils les protègent également contre l'hépatotoxicité (Jassim et Naji, 2010).

I.2.3.2 Fonction cosmétologique

Selon Bouza *et al.* (2007) cités par Chaira *et al.* (2007) l'extrait du noyau de dattes abaisserait clairement et rapidement les rides du visage.

I.2.3.3. L'activité antivirale

L'utilisation du noyau ou des grains de différents fruits et légumes est connue depuis l'antiquité comme un complément alternatif dans la médecine. Selon Jassim et Naji (2007), les noyaux/pépins possèdent des actions bénéfiques contre le stress et les symptômes secondaires. Ils ont souligné l'exemple de la poudre des noyaux d'abricots employée par les mexicains comme un remède traditionnel dans le traitement du cancer ce qui est connu aussi en Russie dès 1845.

Les études réalisées par Jassim et Naji (2007) montrent qu'une faible concentration d'un extrait acétonique (100 – 1000 µg/ml) du noyau de dattes (variété *Abu Dhabi*) est capable d'inhiber les états infectieux.

I.2.4 Différentes utilisations du noyau de dattes

I.2.4.1. Alimentation animale

Pour augmenter le taux de croissance chez les animaux, la poudre du noyau de dattes est additionnée à l'alimentation de bétail, elle a une action qui contribue à une augmentation des oestrogènes et /ou testostérones dans le plasma (Jassim et Naji, 2007).

L'utilisation des sous produits de dattes dans l'alimentation du bétail a été étudiée pour la première fois par (Ali et al., 1956) et dans l'alimentation des poissons par (Youssif et al., 1996). De son coté, (Osman et al., 1999) ont signalé les effets semblables des noyaux et des pulpes de dattes dans l'alimentation des poissons et des animaux laitiers.

Actuellement, les noyaux de différentes variétés de dattes sont principalement utilisés dans l'alimentation du bétail (bovin, mouton, chameaux, et les volailles) (Al-Farsi, 2008 ; Rahman et al., 2007).

I.2.4.2. Fabrication de charbon actif

La propriété principale des charbons actifs semble liée à la présence de micropores responsables de leur pouvoir adsorbant tandis que les macropores et les mésopores s'apparentent à des conducteurs de fluides vers la surface interne (Addoun et al., 2000).

Les précurseurs du charbon peuvent être d'origine botanique (les noyaux de fruits entre autres), minérale (charbon par exemple) ou issus de matériaux polymères (caoutchouc notamment) (Banat et al., 2003). Selon Garcia (2002) environ 50% de charbon actif utilisé dans la pratique industrielle sont d'origine botanique.

Les déchets agricoles lignocellulosiques (substances organiques et inorganiques) contiennent des valeurs élevées en carbone (Banat et al., 2003) sont considérés comme une bonne source de production du charbon actif (Haimour et Emeish, 2006). D'après Addoun et al. (2000), les résultats obtenus, montrent que la carbonisation de noyaux de dattes ; peuvent conduire à l'obtention de charbon actif, qui pourrait avoir des applications diverses : purification des gaz, élimination des phénols, traitement des eaux polluées et dans la pharmacologie (Bouchelta et al., 2008).

Le charbon actif produit par les noyaux de dattes a une capacité d'adsorption élevée il permet d'éliminer le chrome (Cr) toxique de différentes solutions, due à sa caractéristique physico-chimique, (El Nemer et al., 2007). Leur processus a été employé pour évaluer la capacité maximum d'adsorption.

I.2.4.3. Autres utilisations

Les noyaux sont un sous produit intéressant de dattes. En effet, de ces derniers, il est possible de fabriquer de l'acide citrique et des protéines à l'aide des microorganismes suivants : *Candida lipolytica*, *Aspergillus oryzae* et *Candida utilis* (Jassim et Naji, 2007).

Selon Rahman et al. (2007), le noyau de dattes torréfié peut être additionné à un boisson traditionnelle décaféinée qui peut substituer le café quand la caféine est une contrariété.

D'autres études révélées par Al-Turki (2008) et Rahman et al. (2007), indiquent qu'une telle boisson est aussi utilisée depuis longtemps dans le monde arabe, un mélange de poudre de noyau de dattes grillées de manière semblable avec la poudre du café comme une boisson chaude, cette dernier permet de réduire la caféine.

I.3. Les lentilles

Les lentilles (**Lens culinaris**) sont l'une des espèces végétales appartenant à la famille des légumineuses les plus importantes au monde en raison de leur qualité nutritionnelle (Costa et al., 2006). Elles sont composées de fibres alimentaires (8-9%), de glucides complexes (43-45%), d'une faible teneur en gras (1-1,5%) et d'une grande quantité de protéines dont le taux varie de 17-30%.

Elles apportent également des vitamines du groupe B, des minéraux tels que le calcium, le phosphore, le potassium et le magnésium (Martin-Cabrejas et al., 2009).

I.3.1. Classification de l'espèce Lens culinaris

(Lentille cultivée) appartient au genre Lens, classé dans la tribu des Viciae. Lors d'une révision récente du genre Lens, 4 espèces sont retenues :

- *Lens culinaris*, *Lens ervoides*, *Lens nigricans* et *Lens lamottei* (Brink et Belay, 2006).

La lentille cultivée est classée en deux groupes selon la taille de la graine.

-Le groupe macrosperma prédominant principalement en Afrique du Nord, en Europe et en Amérique (diamètre supérieur à 6 mm).

-Le groupe microsperma (diamètre inférieur à 6 mm) domine en Asie, en Egypte, et en Ethiopie (Brink et Belay, 2006).

I.3.2. Propriétés physico-chimiques des protéines de lentilles

I.3.2.1. Composition en acides aminés :

Les acides aminés principaux des protéines de lentilles sont l'acide glutamique, l'acide aspartique, l'arginine, la leucine et la lysine. Par contre la méthionine, la cystine et le tryptophane sont présents dans des concentrations relativement inférieures (Wang et Daun, 2006) (Tableau 07).

Tableau 07: Composition en acides aminés des lentilles (Boye et al., 2010)

Acides aminés	Lentilles (<i>Lens culinaris</i>)	
	Référence A	Référence B
Isoleucine	5.06	9.58
Leucine	8.09	15.86
Lysine	5.69	12.64
Méthionine	1.18	1.63
Phénylalanine	5.55	10.64
Thréonine	5.62	7.57
Valine	7.24	11.64
Arginine	9.10	14.04
Histidine	6.84	3.95
Alanine	21.32	39.81
Acide aspartique	11.17a	26.10 a
Cystine	0.44	0.39
Acide glutamique	24.22 b	42.27 b
Glycine	10.22	12.66
Proline	8.88	11.36
Serine	11.20	15.60
Tyrosine	5.05	7.53

- A (mg/g) sur base sèche.
- B (g/16g N) sur base sèche.
- a Acide aspartique + asparagine.
- c Acide glutamique + glutamine

CHAPITRE II

Matériels et Méthodes

II.1. Matériels

II.1.1. Matériel biologique

Notre travail a été effectué au sein du Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS) de l'université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem. Il consiste à valoriser des produits végétaux de faible valeur marchande et des déchets d'industries agro-alimentaires utilisés comme substituant pour la fermentation des bactéries bénéfiques.

II.1.2. Origine des souches

Les souches utilisées dans ce travail comportent des souches bénéfiques lactiques et bifides qui proviennent de la collection du laboratoire LMBAFS.

Les souches lactiques : il s'agit de *Lactobacillus acidophilus* LbA-CECT 4523, *Lactobacillus plantarum* LbP-CECT 748.

Les souches bifides sont représentées par *Bifidobacterium animalis subsp lactis*, codée Bb12 et *Bifidobacterium bifidum* codée par Bb443

II .2. Méthodes

II.2.1 Revivification des souches

Les souches conservées à -20°C dans du glycérol, ont été réactivées sur milieu MRS liquide et incubées en anaérobiose à 37°C pendant 24 à 72 heures.

Des ensemencements sur milieu MRS gélosé ont été effectués, suivis par des repiquages par stries d'épuisement de colonies obtenues afin de vérifier la pureté de la souche.

Les boîtes ensemencées par des monocultures ont été incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies ont été soumises à des observations macroscopiques et microscopiques.

II.2.1.1 Etude macroscopique

Ce type d'observation directe s'effectue à l'œil nu, et se base sur les caractères morphologiques (forme et la taille des colonies, la chromogènes, l'opacité, l'élévation, l'aspect de la surface et du contour, ainsi que la consistance) des colonies obtenues sur milieu solide MRS.

II.2.1.2 Etude microscopique:

La pureté de la souche est vérifiée sous microscope photonique en utilisant frottis frais et frottis fixé coloré par méthode de Gram.

II.2.2. Sélection des substrats utilisés:

Le choix de bases des matières premières utilisées pour la préparation des milieux de culture a été fait essentiellement en raison de certains critères qui sont.

- Leur disponibilité localement.
- Leur richesse en élément nutritifs (Richesse en sucre / azote / éléments minérale).
- Leur faible cout et faible valeur marchande.

II.2.2.1 Sélection de dattes :

La variété de datte retenue dans cette étude est très répandue dans les palmeraies de la région Sud-Est. C'est la variété sèche : **Mech-Degla** (Fig02).

La datte Mech-Degla est de forme sub-cylindrique, légèrement rétrécie à son extrémité. A maturité, la datte est plutôt beige clair teinté d'un marron peu prononcé. L'épicarpe est ridé, peu brillant et cassant. Le mésocarpe est peu charnu de consistance sèche et de texture fibreuse (Belguedj, 1996).

Le choix de cette variété se justifie par son abondance au niveau national, sa faible valeur marchande, sa facilité de conservation (datte sèche) et sa composition : Il s'agit de sa richesse en sucres, un milieu favorable pour la croissance et le développement des bactéries lactique.



Fig 02: Datte Mech-Degla

II.2.2.2 Sélection de noyaux de dattes:

Le noyau de datte présente 7 à 30 % du poids de la datte (fig03). Il est composé d'un albumen blanc, dur et coré protégé par une enveloppe cellulosique. Les noyaux constituent un sous produit intéressant. De ces derniers, il est possible d'obtenir une farine dont la valeur fourragère est équivalente à celle de l'orge (Djouab, 2007).



Fig 03 Noyau de datte

II.2.2.3 Sélection de lentille:

Les lentilles utilisées sont des variétés communes lentilles vert disponible sur le marché Algériens (fig04)



Fig 04 : Lens culinaris

II.2.3. Préparation des milieux de cultures naturels:

On a essayé de développer trois milieux naturels

- (PD) milieu de culture à base de poudre de datte.
- (ND) milieu de culture à base de poudre de noyau de datte.
- (NL) milieu de culture à base de poudre de lentille et de noyau de datte.

II.2.3.1 Préparation du milieu de culture à base de la poudre de datte:

- Lavage de pulpe fraîche de la datte obtenue à l'eau ;
- Elimination des loges capillaires et les noyaux des dattes ;
- Découpage de la pulpe en petit morceau
- séchage à température de 60 °C pendant 72 H
- Broyage à l'aide d'un broyeur puis tamisage avec un tamis d'un diamètre de 250 µm de porosité
- Conservation de la poudre à l'abri de l'humidité

Le milieu liquide (PD), est obtenu par la dilution de la poudre de datte à raison de 5 % (P/V) dans l'eau distillée. Après, on agite pendant 30 min, la solution est centrifugée à 6000 tpm pendant 10 min, le filtrat obtenu en utilisant papier filtre Wattman est autoclavé à 120 °C pendant 20 min, après ajustement de pH à $6,5 \pm 0,1$ (fig05)



Fig 05 : les étapes de préparation du milieu de culture PD

II.2.3.2 Préparation du milieu de culture à base de noyau de datte (ND)

Les noyaux de dattes ont été séchés au four pasteur à une température de 104°C pendant 5 h; Après refroidissement, broyage et tamisage (250µm de porosité) la poudre est conservée à l'abri de l'humidité.

Le milieu liquide est préparé par dilution de la poudre du (ND), à raison de 5 % (P/V) dans l'eau distillée. Après agitation pendant 30min, on centrifuge à 6000 tpm pendant 10 min et filtration à l'aide d'un papier filtre. Le pH du milieu est ajusté, ce dernier autoclave à 120 °C pendant 20 min et enfin on conserve ce milieu de culture à une température de + 4°C (fig06)



Fig 06: Les étapes de préparation du milieu de culture ND

II.2.3.3 Préparation du milieu de culture à base de la lentille et du noyau de datte

Pour la préparation de la poudre de lentilles on suit les étapes suivantes :

- Sécher les lentilles dans l'étuve a température 60 °C pendant 72 H.
- Broyer à l'aide d'un broyeur.
- Passer le broyat a un tamis de 250 µm de porosité.
- Conserver la poudre à l'abri de l'humidité.

Le milieu liquide (NL), préparé par dilution de la poudre de lentille à raison de 2,5 % (P/V) additionné à la poudre de noyaux de datte à raison de 2,5 % (P/V), dans l'eau distillée. Le mélange est agité pendant 30 min et centrifugé par la suite à 6000 tpm pendant 10 mn et le surnageant est filtré par papier wattman. Le milieu NL est ajusté à un pH $6,5 \pm 0,1$ et autoclave à une température de 120 °C pendant 20 min (fig 07)



Fig 07 : Les étapes de préparation du milieu de culture NL

II.2.3.4 Préparation des milieux de culture de référence MRS

Dans le présent travail, le milieu de culture MRS est utilisé à l'état liquide ou solide après addition de 2% d'agar-agar. La composition du milieu de culture est la suivant (g/L) : Glucose 20, Extrait de viande 8, Extrait de levure, peptone 10, sulfate de manganèse 0.05, Citrate d'ammonium 2, Acétate de sodium 5.0, Tween 80 1.0 ml, hydrogénophosphate de potassium 2,0 g, sulfate de magnésium 0.2, sulfate de manganèse 0.05 pH = 6,50.

II.2.4. Caractérisation chimique des milieux de cultures liquides

Les différents paramètres suivis ont été déterminés avant et à la fin de la fermentation

II.2.4.1. Détermination de la teneur en eau

Principe: La teneur en eau est déterminée sur une partie aliquote de 5 g d'échantillon étalé dans une capsule en porcelaine puis séché dans une étuve, à la pression atmosphérique et à une température de 103 ± 2 °C.

Mode opératoire: on suit les étapes suivantes:

- Sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 mn à 103 ± 2 °C.
- Tarer les capsules après refroidissement dans un dessiccateur.
- Peser dans chaque capsule 5 g d'échantillon à une précision de $\pm 0,001$ g, et les placer dans l'étuve réglée à $103^{\circ}\text{C} \pm 2$ °C.
- Retirer les capsules de l'étuve, après refroidissement, les peser. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant. (Fig 08)

la teneur en eau est égale à la perte de masse subie dans les conditions de la mesure (Audigie et al., 1978).

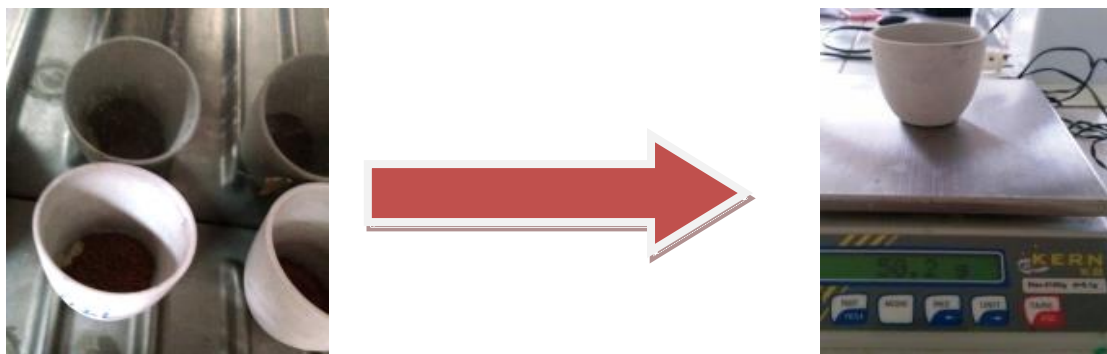


Fig 08: Technique de détermination de teneur en eau

Expression des résultats: Soit :

$$H\% = \frac{M_i - M_f}{P} \times 100$$

H% : Teneur en eau ou humidité.

M_i : Masse initiale « avant séchage » « Matière fraîche + capsule ».

M_f : Masse finale « après séchage » « Matière sèche + capsule ».

P : Masse de la prise d'essai.

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante :

$$\text{Matière sèche}\% = 100\% - \%\text{Humidité}$$

II.2.4.2. Mesure du pH (Afnor, 1986)

L'opération consiste à introduire directement l'électrode du pH-mètre (HANNA, Roumanie) dans un bécher contenant le produit à analyser (le milieu de culture). La valeur du pH est lue directement sur l'écran du pH-mètre.

II.2.4.3. Dosage des sucres totaux:

➤ **Méthode de phénol (méthode Dubois) :**

Principe : La méthode Dubois permet de doser les oses en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré. En présence de ces deux réactifs, les sucres donnent une couleur jaune crème, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des sucres totaux. La densité optique est déterminée à 490 nm (Dubois et al., 1956).

➤ **Mode opératoire**

- Introduire dans un tube à essai 2ml d'échantillon à doser
- Ajouter à la gamme préparée et les tubes d'échantillon :
0,1 ml d'une solution de phénol à 80% et 4 ml d'acide sulfurique concentré ;
- Mélanger lentement et légèrement ;
- Laisser la réaction se faire à une température de 20 - 30°C pendant 15 mn, puis refroidir les tubes pour arrêter la réaction ;
- Faire une lecture dans un spectrophotomètre UV visible à une longueur d'onde de 490 nm.

➤ **Expression des résultats :**

La densité optique est mesurée à 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Réf: JENWAY – 7305 Royaume-Uni) et la concentration des sucres totaux est déterminée

directement à partir de la courbe d'étalonnage préalablement établie avec une solution mère de glucose à 100µg/ ml (**voir le mode de préparation dans l'annexe**)

II.2.4.4. Dosage des protéines : par la méthode de [Bradford \(1976\)](#)

Principe

La méthode de Bradford est un dosage colorimétrique, basé sur le changement d'absorbance (la mesure se fait à $\lambda = 595$ nm), se manifestant par le changement de couleur du bleu de Coomassie après liaison (complexation) avec les acides aminés aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines.

Mode opératoire

- Mettre 20 µl d'échantillon dans un tube à essai.
- Ajouter 1,4 ml de réactif de Bradford (**voir le mode de préparation dans l'annexe**).
- Laisser le tube à l'abri de la lumière pendant 7 à 10 minutes.

Expression des résultats :

La densité optique est mesurée à $\lambda = 595$ nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Réf: JENWAY – 7305 Royaume-Uni) et la concentration des protéines est déterminée directement à partir de la courbe d'étalonnage préalablement établie avec une solution mère de BSA à 2 mg/ ml (**voir le mode opératoire dans l'annexe**).

II.2.5. Ensemencement des milieux de culture

II.2.5. 1. Préparation d'inoculum

L'inoculum a été préparé en transférant 10 µl de culture conservée à 10 ml de bouillon du MRS de chaque bactérie testée et incubée à 37 ° C pendant 24 h. Les cellules ont été récoltées dans un tube stérile (15 ml) puis centrifuger pendant 10 min à 6000 Tpm. Le culot obtenu a été remis en suspension dans de l'eau distillé stérile pour ajuster la densité optique de 0,08 à 0,10 lue à la longueur d'onde de 625 nm qui correspond à 10⁸ UFC/ml ([Kishor, 2005](#)).

Les différents milieux de cultures étudiées sont ensemencés par 200 µl de préculture de chaque bactérie testée soit 1% (V/V) le tout est incubé à 37°C pendant 72h.

II.2.5.2. Détermination de la cinétique de croissance et suivi de pH

La cinétique de croissance des souches bénéfiques des genres *Lactobacilles* sp et *Bifidobacterium* sp a été déterminée par le dénombrement direct sur milieu MRS gélosé. L'acidité développée dans les milieux de cultures a été suivie par la mesure de pH à l'aide d'un pH-mètre

Un échantillon est recueilli au démarrage de la fermentation (0 heure), puis des prélèvements sont effectués régulièrement à l'intervalle du temps 6h, 12h, 24h, 48h et 72h pour suivre la biomasse produite et mesurer le pH.

II.2.5.2.1 : Dénombrement direct des bactéries

Une série de dilutions (10^{-1} , 10^{-2} 10^{-12}) dans 450 μ l de MRS bouillon a été réalisée (Fig 09). Pour la réalisation de ce protocole, chaque boîte contenant MRS solide est divisée en 3 parties; à l'aide d'une micropipette, on dépose 3 spots (10 μ l) d'une dilution dans chaque partie (Fig 10). Après avoir déposé les différents diluants dans toutes les boîtes, on incube le tout dans l'étuve à 37C° (Guiraud, 2003). Les colonies présentes sur les boîtes sont dénombrées après 24h à 48h d'incubation. Uniquement les boîtes contenant 30 à 300 colonies ont été retenues, on utilise pour calculer le nombre UFC (Unités Formant Colonies) / ml la formule suivante:

$N = \Sigma n \text{ colonies} \cdot 1000 \mu\text{l} / 30 \mu\text{l}$: nombre des colonies comptées ;

N: unité formant Colonies (UFC).

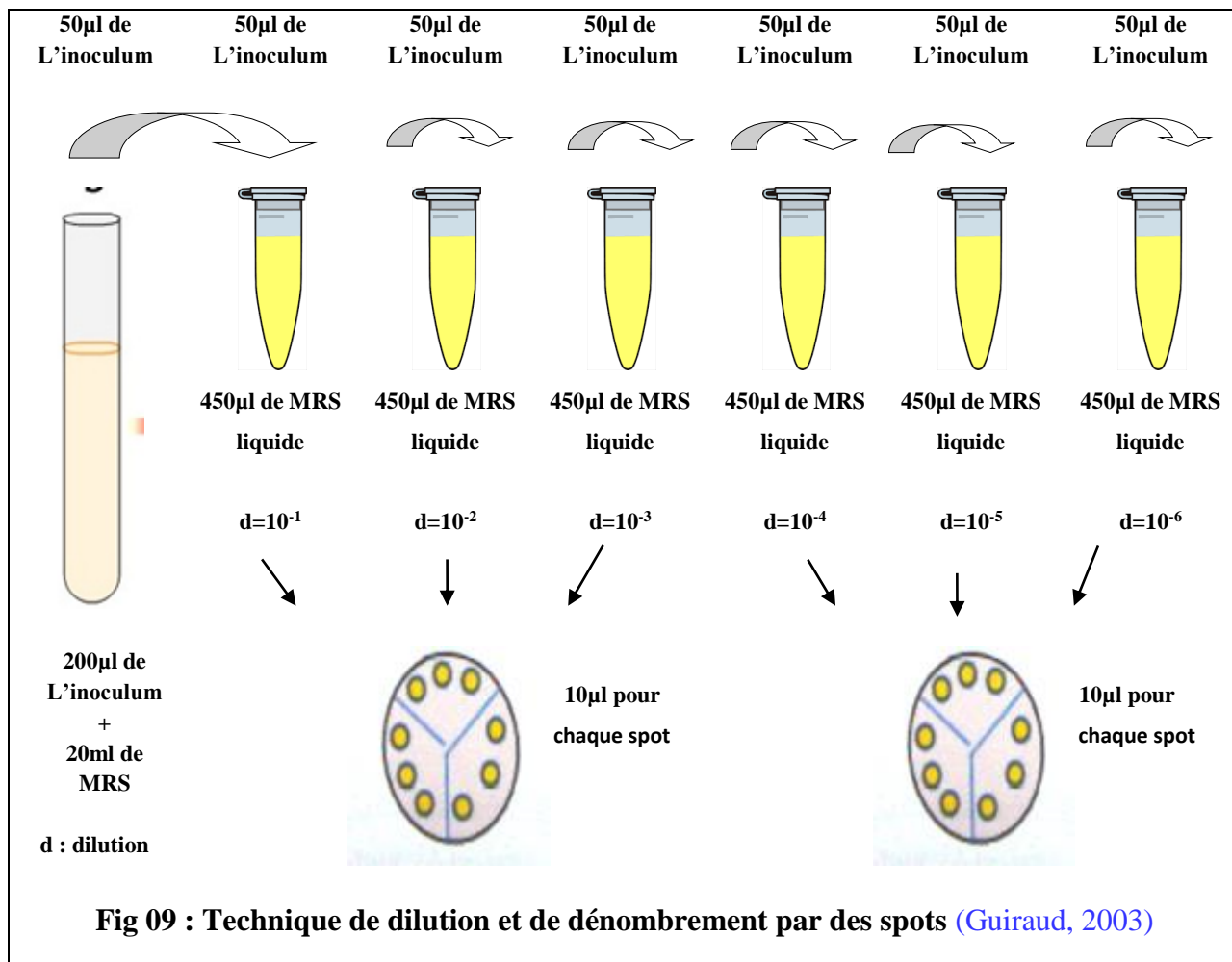


Fig 09 : Technique de dilution et de dénombrement par des spots (Guiraud, 2003)

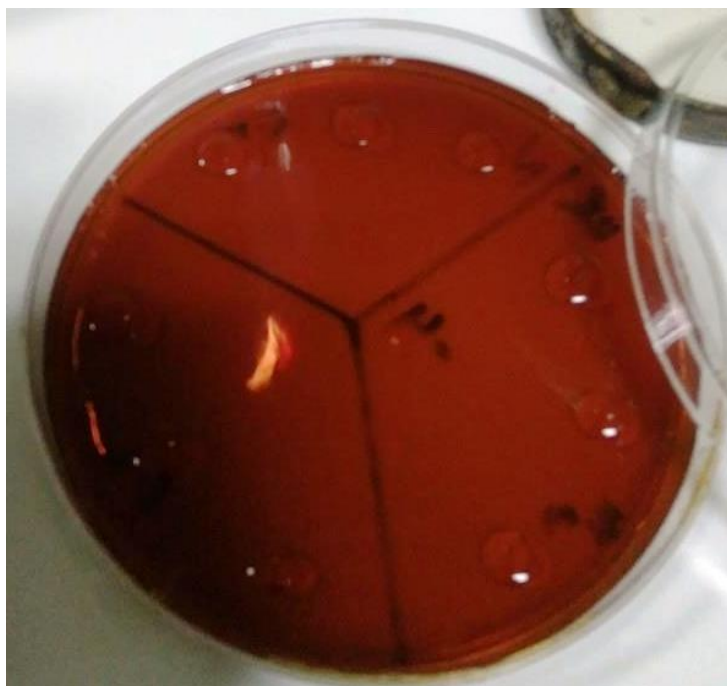


Figure 10 : La technique de dénombrement sur milieu MRS Solide par méthode des spots (Guiraud, 2003)

II.2.6. Etude statistique:

Toutes les mesures sont répétées 3 fois et exprimées sous forme de moyennes \pm l'écart type. La comparaison des moyennes est effectuée par le logiciel **statistica® version (6.0)**. Une différence statistique est considérée significative si $p < 0.05$.

CHAPITRE III

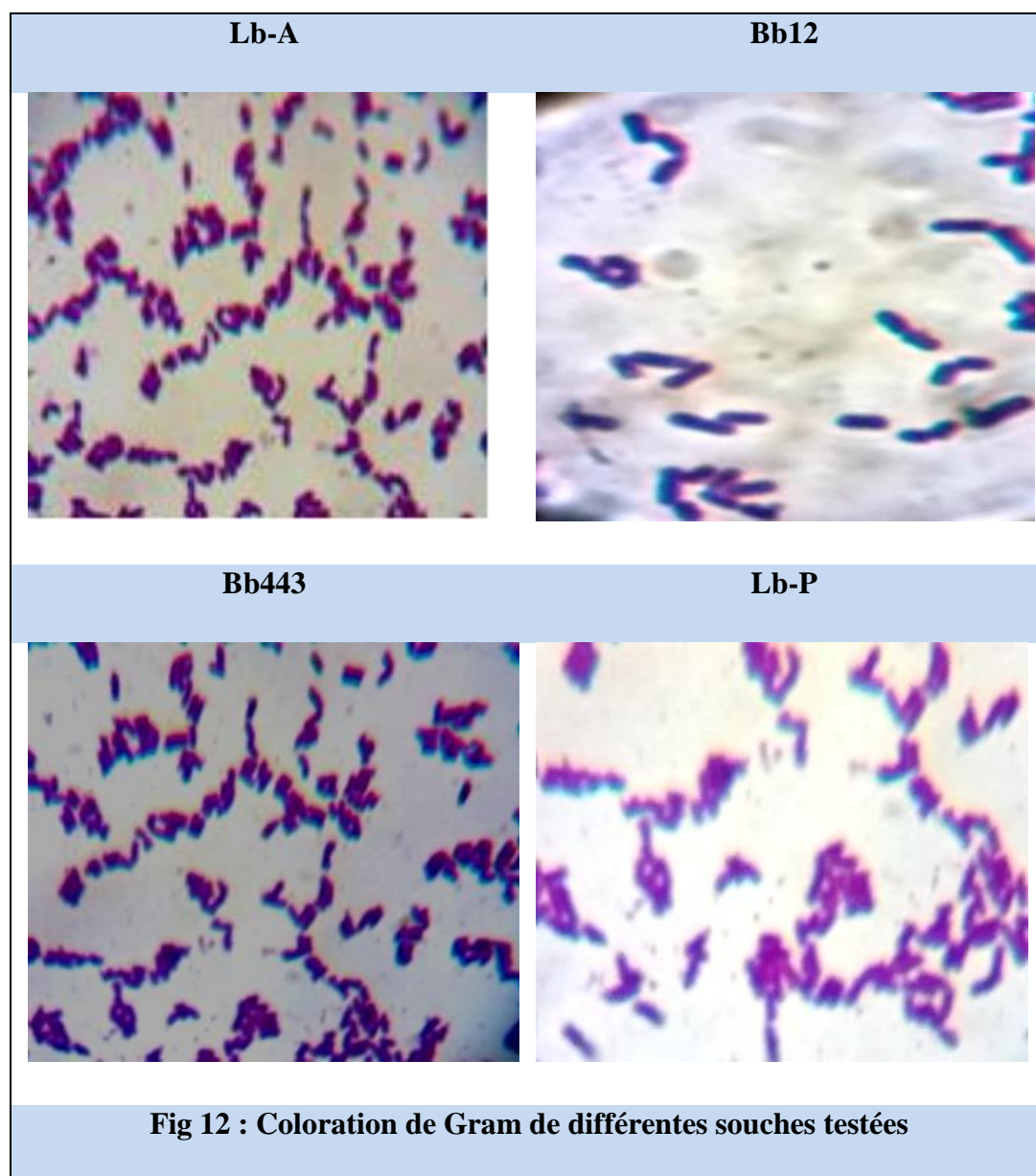
Résultats et discussion

III.1. Vérification de la pureté des souches

Après obtention de culture dense pour les quatre souches testées sur milieu MRS, nous avons obtenus des petites colonies blanchâtres, de surface lisse plus au moins bombées et à contours régulier.

III.1.1. Caractères microscopiques des souches étudiées

L'observation a été effectuée par un microscopique photonique sous l'objectif à immersion (grossissement x 100) après coloration de Gram. Les souches ayant un aspect de bacilles regroupés en petites chainettes ou isolées colorées en violet ce sont des bactéries à Gram positif, ce qui confirme la pureté des souches (fig 11)



III.2. Description des milieux de cultures





Trois milieux de cultures liquides ont été développés à base de matière première végétale et comparés avec le milieu de référence MRS

- Milieu à base de poudre de datte (PD)
- Milieu à base de poudre de noyaux de datte (ND)
- Milieu à base de poudre noyaux de datte et de lentille (NL)

III.2.1. La couleur des différents milieux

Les milieux de culture à préparés et utilisés dans cette méthodologie ont des couleurs différentes qui révèlent la couleur de la matière première utilisée. Cette couleur varie du grenat à jaune claire, dont le milieu ND prend la couleur la plus dense [tableau 08](#)

Tableau 08: la couleur des différents milieux préparés.

MILIEU	ND	PD
Couleur	Grenat	Jaune claire
Image		
MILIEU	NL	MRS
	Jaune claire	Jaune
Image		

III.2.2. Estimation du coût des milieux développés

D'après les coûts des milieux mentionnés dans le [tableau 09](#), tous les milieux développés sont moins onéreux comparés au milieu MRS. Les noyaux de datte (ND) ont un coût nul, les milieux à base de poudre de datte (PD) et le noyau de datte plus lentille (NL) sont moins onéreux avec des coûts 150 fois inférieur à milieu MRS.

Tableau 09: Estimation du cout des milieux développés et le milieu MRS

Milieu	prix de 1 kg en DA
MRS	15000
PD	100
ND	00
NL	100

Les différents substrats sélectionnés ci-dessous constituent une source de matières organiques (sucre et azotée) et/ ou minérale d'une valeur marchande faible, voir nulle pour les déchets agro-industriels (noyau de dattes) disponible localement. Elles sont de ce fait susceptibles de supporter la croissance et la production en masse des bactéries lactiques. Et en permettant la diminution du coût de la production de ces bactéries.

III.2.3. Caractérisation des milieux de cultures

La caractérisation des milieux liquides développés a porté sur la mesure des paramètres suivants.

- pH.
- Pourcentage de la matière sèche.
- Pourcentage de l'humidité.
- Teneur en protéines.
- Teneurs en sucres totaux.

Le milieu conventionnel MRS, utilisé pour la croissance des bactéries lactique a été employé comme milieu de référence pour l'étude des caractères physico-chimique des milieux liquide développés, ([Tableau 10](#)).

Tableau10: Caractérisation physico-chimique des milieux de cultures

Milieux	pH	Teneur en eau (%)	Teneur en Matière sèche (%)	Teneur en protéines (mg/ml)	Teneur en sucres totaux (mg/ml)
MRS	6,50	13,09	86,91	1,27	20,4
PD	5,38	9,40	90,6	1,12	72,1
ND	5,63	8	92	2,06	64,5
NL	6,06	12	88	2,48	40,2

Le pH du milieu conventionnel MRS a été ajusté à 6,50 et le pH de l'ensemble de milieux développés est compris entre 5.38 et 6.06, ce pH est légèrement acide par rapport au milieu MRS. Selon la littérature, le pH optimal de croissance des bactéries lactiques se situe selon les espèces entre 4,5 et 6,4 (Kandler et Weiss, 1986). On constate que les milieux développés ont des pH favorable pour la croissance de ces bactéries.

La teneur en matière sèche de nos milieux est comprise entre 86,91% et 92% et les teneurs en protéines varient de 1,12 et 2,48 mg/ml, Les milieux NL et ND étaient les plus riches en protéines avec des teneurs de 2,48 et 2,06 mg/ml respectivement, suivi par le milieu PD à une teneur de 1,12 mg/ml.

Les deux milieux NL et ND sont riches en protéine par rapport au milieu MRS qui contient 1,20 mg/ml, le PD est le milieu le plus pauvre en protéine avec 1,12mg/ml soit une valeur très faible par rapport à celle rapportée par (Yahiaoui, 1998) 2,2 mg/ml.

La teneur en sucres totaux varie de 40,2 à 72,1 mg/ml, tous les milieux sont plus riches en sucre comparativement au milieu de référence MRS qui a une teneur de 20,4 mg/ml. Par ailleurs, la teneur en sucre totaux est presque similaire par rapport à celle décrite en littérature (Maatalah, 1970; Acourene et Tma, 1997) et (Belguedj, 2001).

III.3. Conduites des fermentations

Les monocultures des quatre souches dont deux lactiques et deux bifides en présence de 4 substrats différents ont été inoculées à des concentrations finales de 1% à 10^8 UFC/ml

III.3.1 La souche Bb443

Les résultats de la cinétique de croissance de la souche *Bifidobacterium bifidum* codée Bb443 en présence des différents substrats étudiés sont illustrés par la (fig 12).

L'allure des courbes de croissance de Bb443 (fig 13), en présence du noyau et fruit de datte est régulière et met en évidence des différences notables en matière d'assimilation des composants présente dans les différents milieux.

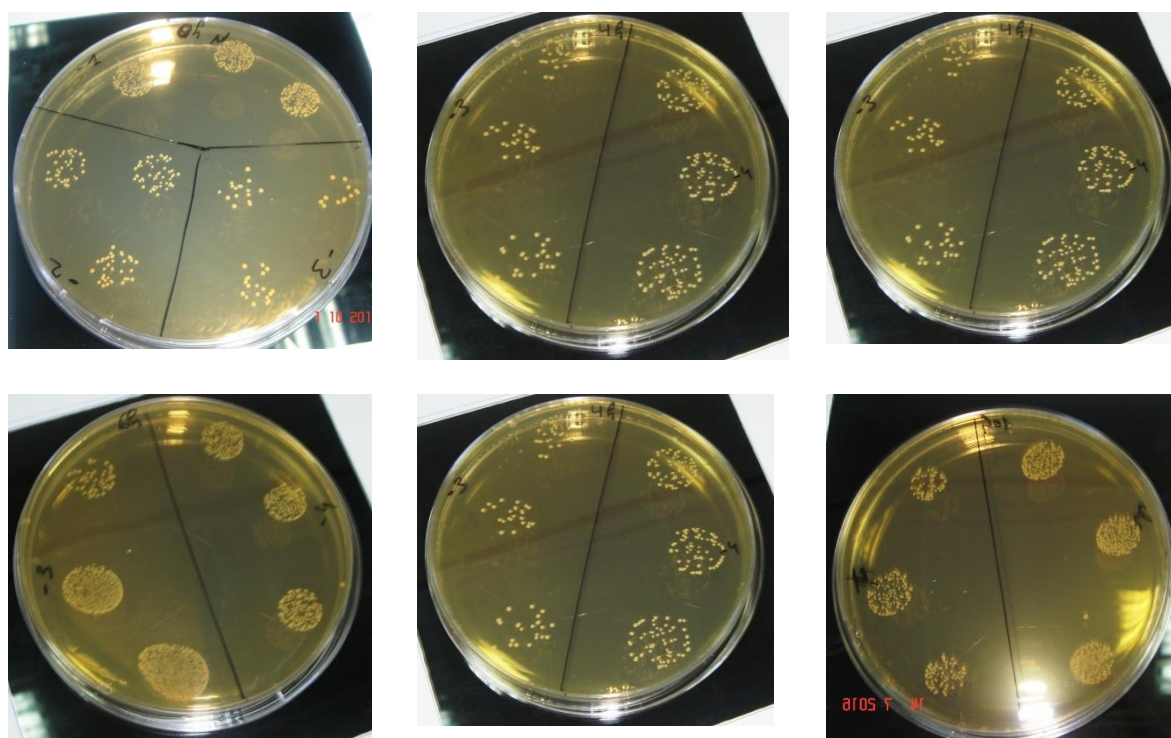


Fig 12 : Dénombrement sur milieu MRS solide par méthode des spots (Guiraud, 2003)

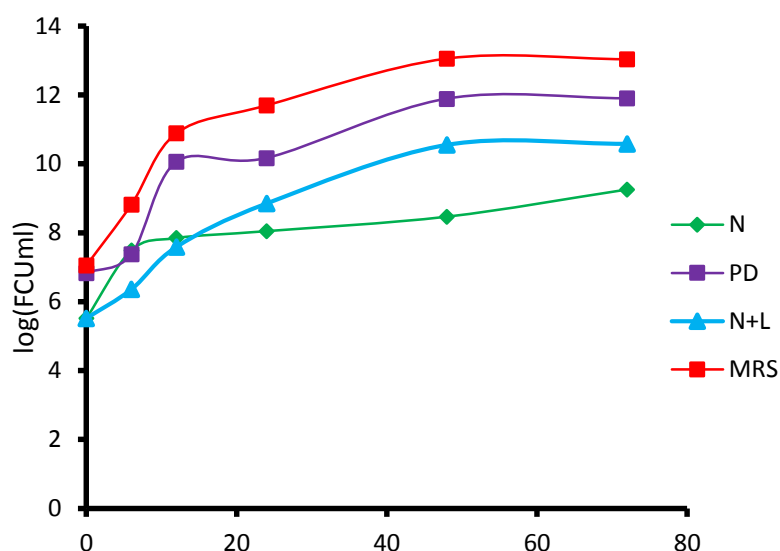


Fig 13 : la courbe de croissance de la souche Bb443 sur différents milieux de culture pendant 72heures d'incubation à 37°C.

On constate que la biomasse la plus importante est obtenue avec le milieu MRS et le milieu PD d'une valeur de 13,04 et 11,9 log UFC/ml respectivement au bout de 72h d'incubation. La biomasse obtenue pour les autres milieux développés était moins importante

Les résultats statistique, ont été confirmé par le test de Student au niveau ($p < 0,05$), la comparaison des moyennes de la biomasse des milieux ND, NL et PD avec le milieu MRS sont hautement significatif ($p < 0,05$) pour ND et NL et non significatif pour le milieu PD ($P > 0,05$) (tableau 11) Cette étude montre que le milieu PD peut remplacer le milieu MRS.

Tableau 11 : probabilité « p » de l'analyse de comparaison des moyennes de la biomasse (Bb 443)

Groupe 1 vs Groupe 2	Test pour des Echantillons Indépendants (Bb 443)			
	Moyenne Groupe 1	Moyenne Groupe 2	DI	Probabilité
MRS vs NL	10,76056	8,073889	34	P=0,000391 ***
MRS vs ND	10,76056	7,770000	34	P=0,000018 ***
MRS vs PD	10,76056	1,472877	34	P=0,149982 Ns

Ns: Non significatif *Significatif **Hautement significatif *** Très hautement significatif

III.3.2 La souche Bb12

La souche *Bifidobacterium lactis* ou Bb12 à statut probiotique établi, a la capacité de dégrader les composants des 4 milieux explorés, mais à degrés différents. (Fig14).

Les quantités de biomasse atteintes en fin de la fermentation sur des différents milieux développés et le milieu conventionnel MRS par la souches Bb12 sont comprises entre 7,44 et 17,35 logs UFC/ml. On constate que la biomasse la plus importante est obtenu par le milieu MRS et le milieu PD d'une valeur de 17,35 et 14,39 log UFC/ml respectivement au bout de 72h d'incubation. La croissance de la souche Bb12 était la meilleur par rapport aux autres souches sur ces deux milieux.

La biomasse obtenue avec les autres milieux développés (ND et NL) était moins importante par rapport au MRS.

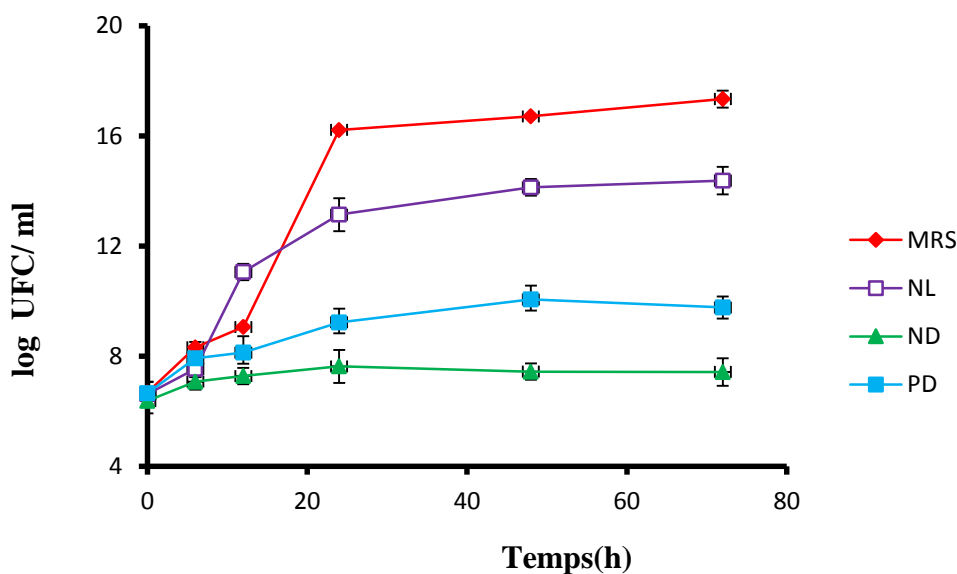


Fig14 : la courbe de croissance de la souche B12 sur différents milieux de culture pendant 72heures d'incubation à 37°C.

La comparaison des moyennes de la biomasse des milieux ND, NL et PD avec le milieu MRS sont hautement significatif ($p < 0,05$) pour le milieu ND, NL et non significatif pour le milieu PD ($P > 0,05$) (tableau 12).

Tableau 12 : probabilité « p » de l'analyse de comparaison des moyennes de la biomasse (Bb12)

Groupe 1 vs Groupe 2	Test pour des Echantillons Indépendants (Bb 12)			
	Moyenne Groupe 1	Moyenne Groupe 2	DI	Probabilité
MRS vs NL	9,502778	7,520000	34	P=0,001620 ***
MRS vs ND	9,502778	7,016111	34	P=0,000079 ***
MRS vs PD	9,502778	8,507778	34	P=0,106226 Ns

Ns: Non significatif *Significatif **Hautement significatif *** Très hautement significatif

III.3.3. La souche Lb-A

La souche *Lb acidophilus Lb-A CECT 4529* effectue l'essentiel de sa croissance au cours des 15 premières heures de la fermentation dont elle atteint une biomasse moyenne de 10 UFC/ml sur milieu PD et MRS

Les résultats relatifs à la cinétique de croissance de ce lactobacille sont illustrés par la (fig. 15) qui montre que le milieu de culture à base de poudre de datte est le plus dégradé après le milieu MRS ($p > 0.05$) (tableau 13). Les deux milieux ND et NL à base de noyau de dattes ne répondent pas aux critères de culture des souches lactiques. Ceci est due probablement à son activité antimicrobienne (Mossa *et al.*, 1986 ; Sabah *et al.*, 2007). Et non au pauvreté de ses composants.

Tableau 13: probabilité « p » de l'analyse de comparaison des moyennes de la biomasse (Lb – A)

Groupe 1 vs Groupe 2	Test pour des Echantillons Indépendants (Lb – A)			
	Moyenne Groupe 1	Moyenne Groupe 2	DI	Probabilité
MRS vs NL	9,502778	7,520000	34	P=0,001620 ***
MRS vs ND	9,502778	7,016111	34	P=0,000079 ***
MRS vs PD	9,502778	8,507778	34	P=0,106226 Ns

Ns: Non significatif *Significatif **Hautement significatif *** Très hautement significatif

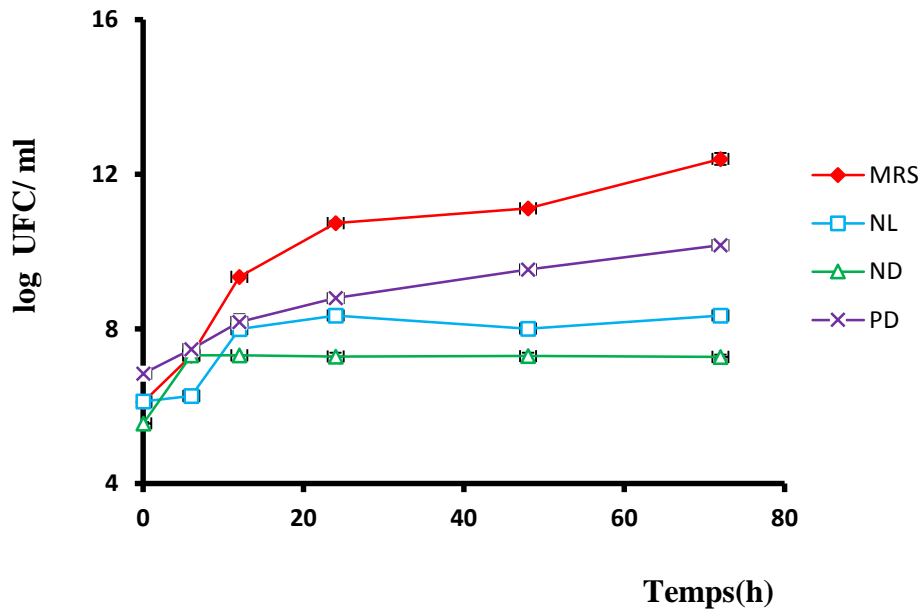


Fig 15 : La courbe de croissance de la souche Lb-A sur différents milieux de culture pendant 72heures d'incubation à 37°C.

III.3.4. La souche Lb-P

La croissance de la souche *Lactobacillus plantarum* en présence de différents composants de dattes est appréciée (fig16) par rapport à celle sur milieu MRS en présence du glucose qui représente un substrat préférentiel universel pouvant servir de référence en matière de développement cellulaire in vitro.

Cette nécessité de dépolymérisation microbienne des sucres complexes pour qu'ils soient assimilés, ralentit quelque peu la croissance in vitro des souches, qui, évidemment croissent mieux et donnent une biomasse plus importante.

La biomasse de la souche Lb-P obtenue sur milieu MRS et milieu à base poudre de datte est similaire est de ordre de 12.58 et 11.13 log UFC/ml respectivement ($p>0.05$).

Le milieu à base de noyau de datte et lentille prend la 3ème position en point de vu biomasse doit elle est estime de 7.48 log UFC/ml à la fin de la fermentation.

Il est à noter que ce lactobacille à été totalement incapable de croitre sur milieu à base de noyau de datte seulement (tableau 14).

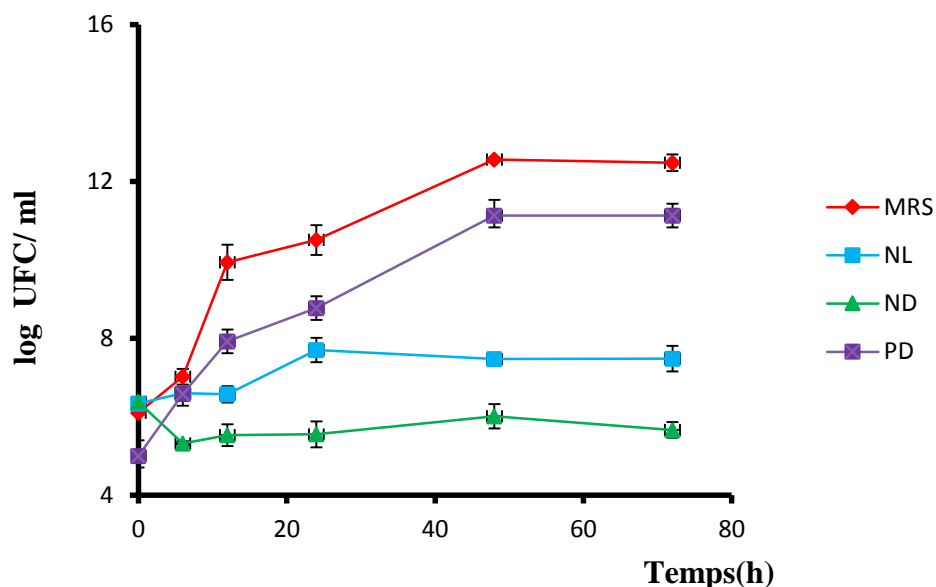


Fig 16: la courbe de croissance de la souche Lb-p sur différents milieux de culture pendant 72 heures d'incubation à 37°C.

Tableau 14 : probabilité « p » de l'analyse de comparaison des moyennes de la biomasse

Groupe 1 vs Groupe 2	Test pour des Echantillons Indépendants (Lb -P)			
	Moyenne Groupe 1	Moyenne Groupe 2	DI	Probabilité
MRS vs NL	9,616111	7,168333	34	P=0,000210 ***
MRS vs ND	9,616111	5,952778	34	P=0,000001 ***
MRS vs PD	9,616111	8,132222	34	P=0,053634 Ns

Ns: Non significatif *Significatif **Hautement significatif *** Très hautement significatif

III.4. Détermination de la cinétique d'acidification

L'évolution du pH des milieux de culture est un indice de fermentation des différents glucides en culture pure. C'est également le résultat de la production d'acides organiques par les souches bactériennes.

Le Δ pH de chaque culture bactérienne, et les résultats sont représentés par le [tableau 15](#)

En principe, l'activité de synthèse d'acides organiques par des bactéries lactiques va de pair avec leur vitesse de croissance. C'est pourquoi que, globalement, les résultats obtenus montrent que les plus fortes activités de synthèse d'acides organiques sont celles de milieu à

glucose MRS, d'abord, et à poudre de dattes ensuite ; C'est ceux la même ou il y a eut forte croissance des souches (fig 17 et 18).

Nos résultats ont révélé que les souches testées ont un pouvoir acidifiant moyen et lent dans les milieux NL et ND, du fait que leurs Δ pH ne dépasse pas 1,5 unités et un pouvoir acidifiant rapide dans le milieu PD et le milieu MRS après 72H d'incubation.

Une différence non significative ($p > 0.05$) du pH des milieux PD et MRS à la fin de fermentation après 72 h, a été remarquée, qui montre le rendement important du milieu PD qui peut être un substitut du MRS.

Tableau 15: Evolution de Δ pH de chaque culture bactérienne.

Souches	Milieu	T= 0	T= 72 H	Δ Ph	Evaluation
Bb12	N	5,86	4,71	1,15	Moyenne
	PD	5,42	3,84	1,58	Rapide
	NL	5, 44	4,22	1,22	Moyenne
	MRS	6,5	3,51	2,99	Rapide
Bb443	N	5,63	4,18	1,45	Moyenne
	PD	5,32	3,74	1,89	Rapide
	NL	5, 63	3,82	1,06	Moyenne
	MRS	6,5	3,71	2,79	Rapide.
Lb-A	N	5,52	5,49	0 ,03	Lente
	PD	5,38	4,11	1,52	Rapide
	NL	5, 39	4,51	0 ,88	Lente
	MRS	6,5	3,70	2,80	Rapide
Lb- P	N	5,63	4,81	0,82	Lente
	PD	5,39	3,85	1,53	Rapide
	NL	5, 38	4,1	1,28	Moyenne
	MRS	6,5	3,59	2,91	Rapide

Δ pH < 1 : acidification lente, $1 < \Delta$ pH < 1,5 : acidification moyenne, Δ pH > 1,5 Rapide

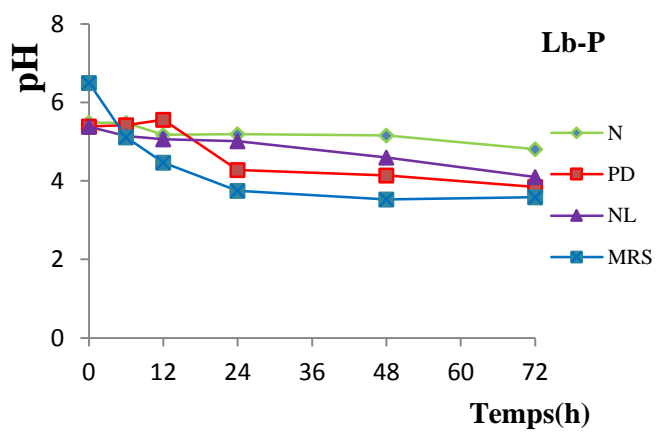
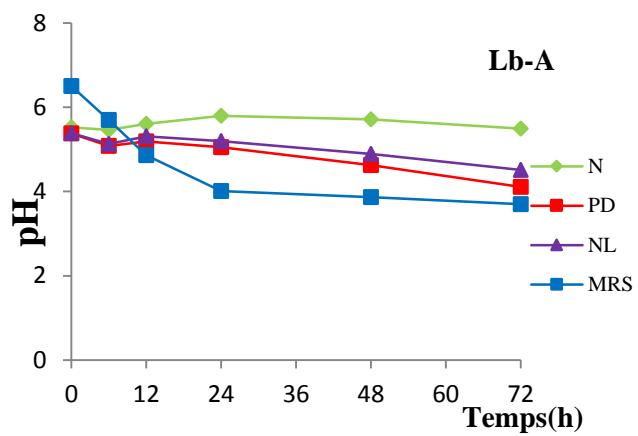


Fig 17 : Les courbes d'évaluation de pH des souches Lb-A et Lb-P au cours de la fermentation sur différents milieux de culture (N, PD, NL, MRS)

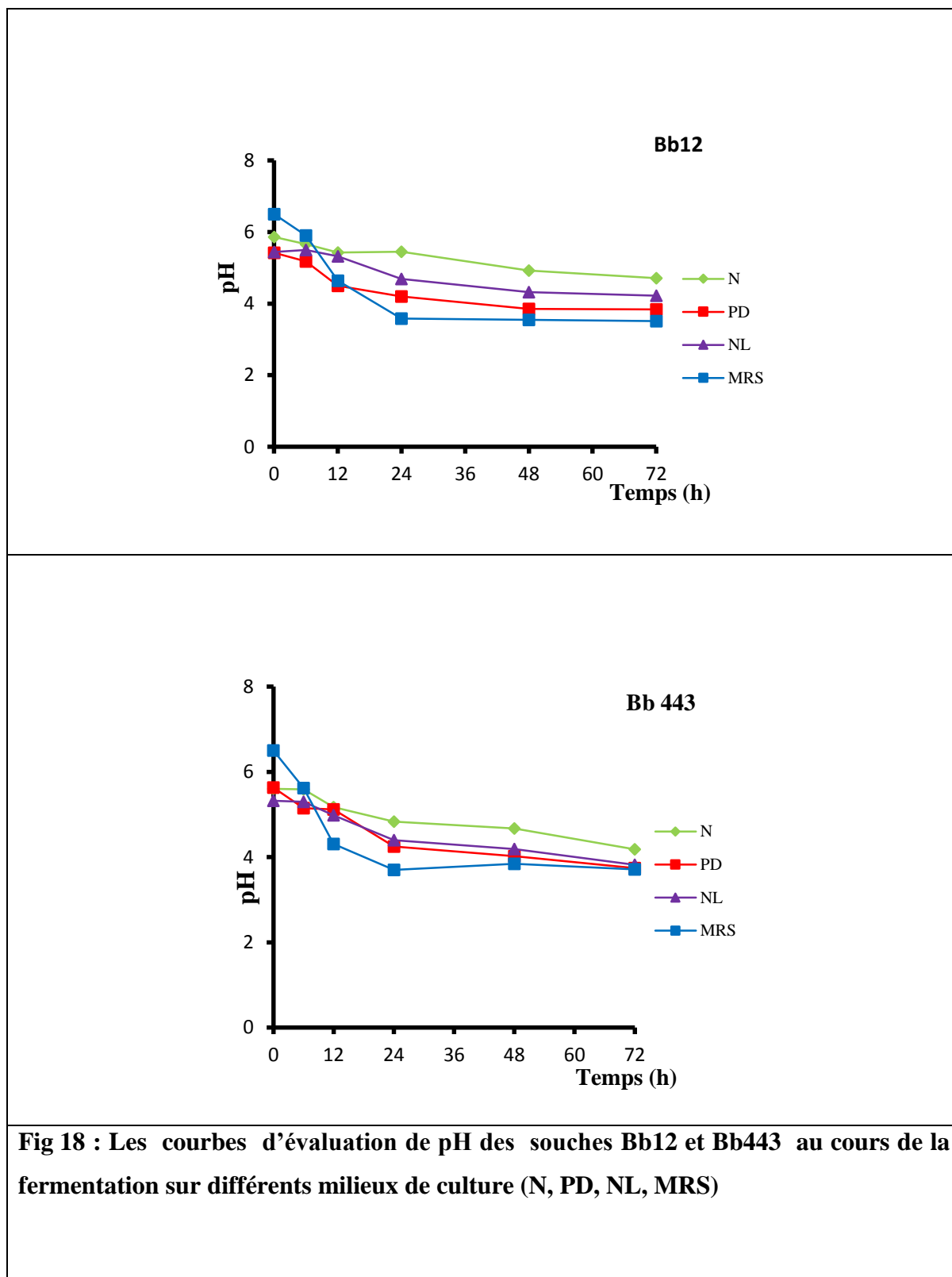


Fig 18 : Les courbes d'évaluation de pH des souches Bb12 et Bb443 au cours de la fermentation sur différents milieux de culture (N, PD, NL, MRS)

III.5. Estimation de la consommation en sucres totaux et en protéines

Les quantités consommées en sucres totaux et en protéines à la fin de la fermentation ainsi que le pourcentage de la consommation par rapport aux quantités initiales sont rapportées dans le (tableau 16 et fig. 19).

Tableau 16: Consommation en sucres totaux et protéines dans les milieux de culture

Milieu		Quantité en Sucre totaux Consommées mg/ml	% de la consommation des sucres totaux	Quantité en protéines totaux consommées mg/ml	% de la consommation des protéines totaux
Lb -P	MRS	18,5	91	1,01	79,52
	PD	51,1	70,87	0,80	71,42
	NL	20,2	50,24	1,22	49,53
	ND	16,5	25,58	0,16	07,76
Lb-A	MRS	18	90	0,98	77,95
	PD	56,1	77,80	0,82	73,79
	NL	18,2	45,27	1,36	55,12
	ND	8,5	13,17	0,19	9,22
Bb12	MRS	19	95	1,09	85,80
	PD	59,1	81,96	0,90	80,90
	NL	20,20	50,24	1,46	58,8
	ND	13,5	20,9	0,18	8,54
Bb443	MRS	19	95	1,06	83,48
	PD	58,1	80,58	0,89	79,46
	NL	22,2	55,22	1,42	57,25
	ND	12,5	19,47	0,19	9,22

Le pourcentage de la consommation des sucres totaux dans le milieu MRS est important par les souches bifides de 95% (Bb12) et 91% (Bb443), suivi par le milieu PD qui a enregistré un pourcentage de 81,96% (Bb12) et 70,87% (Bb443). Pour les autres milieux la consommation est moyenne pour NL et faible pour ND (fig19).

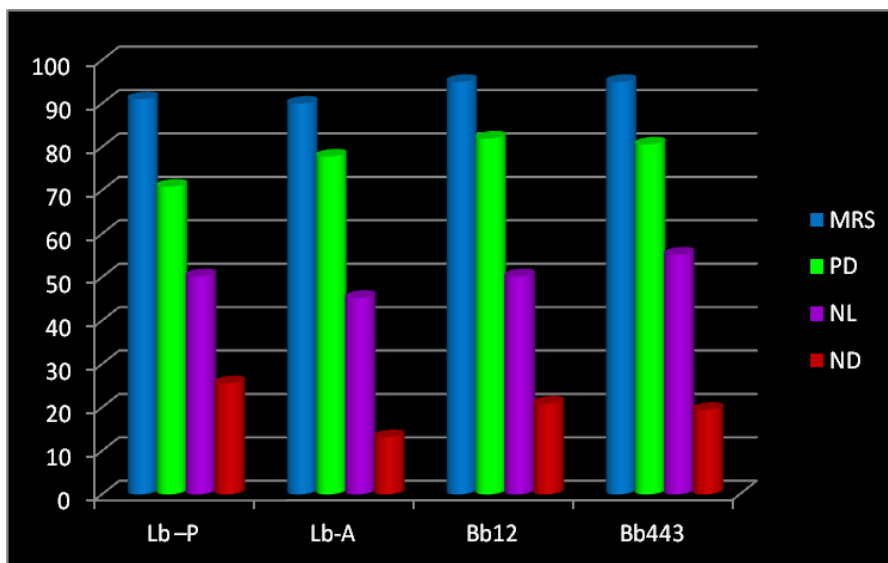


Fig 19 : Pourcentage de la Consommation en sucres totaux.

La consommation en protéines par les souches bifides Bb12 et Bb443 est optimale 85,80% et 83,48% respectivement dans le milieu MRS par rapport aux autres souches et suivi par le milieu PD 80,90% et 79,46% respectivement pour les deux souches. Le pourcentage de la consommation en protéines dans le milieu NL est moyen pour toutes les souches testées de valeur qui varie entre 58,8% et 49,53% et un faible pourcentage de consommation dans le milieu ND (fig 20).

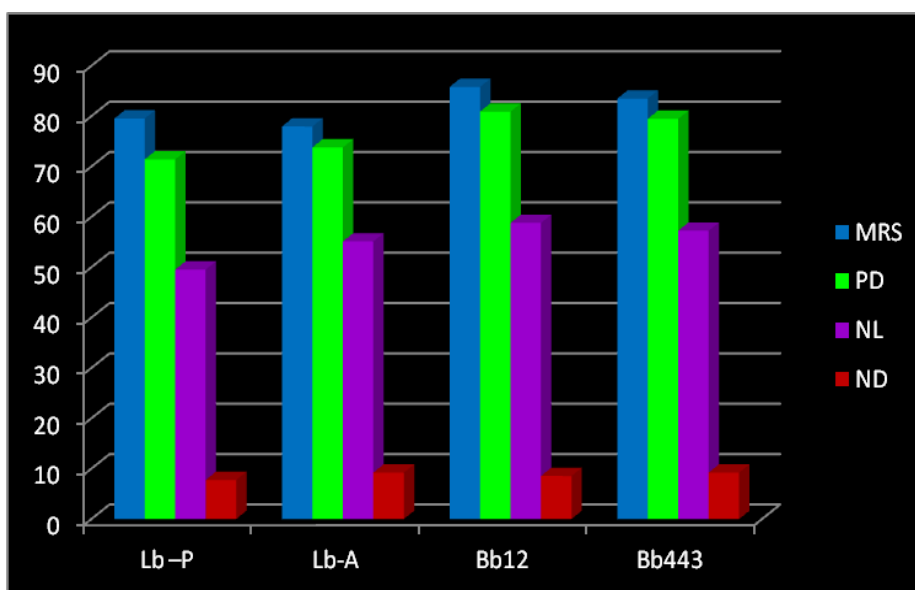


Fig 20 : Pourcentage de la Consommation en protéines totaux.

Conclusion et perspectives

Le but de cette étude est la production de biomasse des bactéries lactiques sur des milieux de cultures moins coûteux. Des déchets agroindustriels (noyaux de datte) et des produits végétaux (dattes de variété Mech Dagla), de faible valeur marchande, ont été utilisés comme substrat. Ceci permet une biovalorisation de ces derniers et la préparation de milieux substitut au milieu MRS, qui est un milieu de culture favorable pour la croissance de ces bactéries.

Cette étude nous a permis la conception de trois milieux de culture liquides et la sélection de 3 substrats-supports pour la fermentation:

- Poudre de dattes variété Mech Dagla (PD);
- Noyaux de datte(ND);
- Mélange de Noyaux de datte et lentilles (NL).

Quatre souches ont été testées, à savoir, *Lactobacillus acidophilus* LbA-CECT 4523, *Lactobacillus plantarum* LbP-CECT 748, *Bifidobacterium animalis subsps lactis* (Bb12) et *Bifidobacterium bifidum* (Bb443).

Comparés au milieu MRS, les milieux de cultures développés au cours de cette étude, sont beaucoup moins onéreux. En effet, le déchet agro-industriel (ND) a un coût nul et les deux autres milieux (PD et NL) sont 150 fois moins chers que le MRS.

L'analyse biochimique révèle une richesse en sucres (source de carbone) pour les trois milieux (PD, ND et NL) avec des teneurs de 72.1, 64.5 et 40.2 mg/ml, respectivement et des teneurs en protéines (source d'azote) respectives de 2.48 et 2.06 mg/ml pour les milieux NL et ND. Par contre, le milieu PD a présenté la plus faible teneur (1,12 mg/ml). Malgré sa carence en protéines, ce dernier reste le milieu le plus proche du milieu MRS en termes de résultats.

En effet, les milieux PD et MRS ont permis à la biomasse de croître jusqu'à 14,39 log UFC/ml et 17,35 log UFC/ml respectivement.

D'autre part, le niveau de production en biomasse dans le milieu ND est très faible pour les quatre souches testées, malgré leur richesse en matières organiques. Cela pourrait être dû à un effet antimicrobien probablement exercé au cours de la croissance et qui par conséquent,

a provoqué un ralentissement aboutissant à une stabilisation de la croissance. Des travaux antérieurs ont d'ailleurs, rapporté que les noyaux de dattes possédaient cette propriété (Mossa *et al.*, 1986 ; Sabah *et al.*, 2007).

Une faible croissance microbienne a été également observée dans le milieu NL. Cela pourrait être lié à un effet antimicrobien, rappelant que celui-ci est fait à base de noyaux de datte et de lentilles.

Concernant la cinétique d'acidification du pH, nos résultats ont révélé que les souches testées ont un pouvoir acidifiant moyen et lent dans les milieux NL et ND, du fait que leurs Δ pH ne dépasse pas 1,5 unités et un pouvoir d'acidifiant rapide dans le milieu PD et le milieu MRS après 72H d'incubation.

Une légère différence de diminution progressive du pH pendant la fermentation dans le milieu PD par rapport au milieu MRS, montre qu'il peut être utilisé comme milieu de culture pour produire des acides organiques.

Les résultats obtenus au cours de ce travail permettent d'envisager plusieurs perspectives d'investigation.

Les principales sont les suivantes :

- Optimisation de milieu de culture à base de poudre de datte (la concentration, utilisation d'un tampon pour le pouvoir de pH, supplémentation d'une source d'azote....).
- L'extraction des différents métabolites des bactéries lactique dans le milieu à base de poudre de datte (les acides organiques, les protéines comme : les enzymes protéolytique, bactériocine, antibiotique).
- Etude des différentes activités biologiques de noyaux de datte (antimicrobienne, anti-inflammatoire anticancéreux ...).

Références Bibliographiques

-A-

Abou-Zeid, A. A., Nabeh, A. & Baghlaf, O. (1991). The formation of oxytetracycline in a date coat medium., *Bioresource Technology* (37):179-184.

Acourene, S. & Tama, M. (1997). Caractérisation physicochimiques des principaux cultivars de dattes de la région de Ziban. *Revue Recherche Agronomique., INRAA Algerie* (1): 59-66.

Addoun, A., Merzoug, Z. & Belhachemi, M. (2000). Préparation et caractérisation de matériaux a Gand pouvoir adsorbant. Thèse magistère.

Aldhheri, A. Alhadrami, G. Aboalnaga, N. Wasfi, I. & Elridi. M. (2004). Chemical composition of date pits and reproductive hormonal status of fed date pits. *Food Chemistry* 86, 93-97.

AFNOR. (1995). Contrôle de la qualité des produits alimentaires Méthodes d'analyses officielles. Tome I: Boissons alcoolisées, sucres, miels, ovo produits, produits diététiques, aliment surgelés, additifs alimentaires. Ed. AFNOR - Tour Europe. Cedex, pp 355- 406.

Al-Farsi, M., Moris, A. & Baron, M. (2007). Functional Proprieties of dates (*Phoenix dactylifera*)., *Acta Horticultrae* (736): 479-484.

Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., Shahidi, F. (2008). Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, caroténoids, and phenolics of three native fresh and sundrieddate (*Phoenix dactylifera* L.) Varieties grown in Oman. *J. Agric .Food .Chem.* 53: 7592- 7599.

Albert, L. (1998). La santé par les fruits. Ed. Veechi, Paris. 44-74 p.

Alhamed, Y. A. (2009). Adsorption kinetics and performance of packed bed adsorber for phenol removal using activated carbon from dates stones., *J .hazard .Mater. doi:* 10.1016/j.05.002.

Ali, K. T., Fine, N. C., Faraj, M. & Sarsam, N. H. (1956). The use of date products in the ration of the lactating dairy cow and the water buffalo., *Indian J. V et Sci* (26): 193–201.

Al-Ogaidi, H. K., Khalifa, S., Hadi, H. & Al-Nakash, S. (1985). Production of protein from date stone by *Aspergillus Oryzae*., *J. Water Resour. Res* 4(23): 197–206.

Al-Qarawi, A. A., Mousa, H. M., Ali, B. E. H., Rahman, H. A. & El-Mougy, S. A. (2004). Protective effect of extracts from dates (*Phoenix dactylifera* L.) on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats., *Int. J. Appl. Res. Vet. Med* 2(24): 176–180.

Al-Shahib, W. & Marshall, R. J. (2003). Fatty acid content of the date seeds from 14 varieties of date palm *Phoenix dactylifera L.*, *Int. J. Food Sci. Technol* (38): 709–712.

Al-Turki, S. M. (2008). Antioxydant proprieties of Date Palm (*Phoenix dactylifera L.*) cultivars. Département of Horticulture and landscape architecture.

Audigié, D., Dupont, G. & Zonszain, T. (1978). Manipulation d'analyse biochimique. Ed. Doin. Paris, pp: 27 – 74.

-B-

Banat, F., Al-Asheha, S. & Al-Makhadmeha, L. (2003). Evaluation of the use of raw and activated date pits as potential adsorbents for dye containing waters., *Process Biochemistry* 39 (2): 193-20.

Barreveld, W. H. (1993). Date palm products. FAO Agricultural Services Bulletin, pp:101.

Belguedj, M. (2001). Caractéristiques des cultivars de dattiers dans les palmeraies sud-Est Algériens. Ed. Dossier– Document – Débat, pp : 289.

Belguedj, M. (1996). Caractéristiques des cultivars de dattiers du Sud-Est du Sahara algérien. Vol I. Conception et réalisation : Filière "Cultures pérennes" de l'ITDAS, pp : 67.

Benchabane, A. (1996). Rapport de synthèse de l'atelier Technologie et qualité de la datte .in Options méditerranéennes. Série A. N° 28. Séminaires méditerranéens. Ed. IAM. Zaragoza.Spain, pp : 205-210.

Benchelah, A. C. et Maka, M. (2008). Les Dattes, intérêt et nutrition. *Phytothérapie (ethnobotanique)*. 6: 117 -121.

Bennamia, A. & Messaoudi, B. (2006). Contribution à l'étude de la composition des dattes « Deglet Nour » et « Ghars » dans le pédo-paysage de la cuvette de Ouargla, mémoire de diplôme d'études supérieur en biochimie, Ouargla, pp : 4-5-6.

Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Drira, N. & Attia, H. (2004a). Date seeds: Chemical composition and characteristic profiles of the lipid fraction., *Food Chem* (84): 577–584.

Bessas, A. Benmoussa, L. & Kerarma, M. (2008). Dosage biochimique des polyphenols dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Mémoire d'ingénieur en biologie. Université Djillali Liabes. Sidi belabbas. P.137.

Bouchelta, C. Mohamed, S. M. Odile, B. & Jean-pierre, B. (2008). Preparation and chracterization of activated carbon from date stones by physical activation with steam. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 82, 70-77

Boughouna, N. (1988). Essai de production de vinaigre à partir de déchets de dattes. Mémoire de Magister, INA. El Harrach, Alger, pp : 82.

Bouza, C et al. (2007). Unplanned extubation in orally intubated medical patients in the ICU: a prospective cohort study 13 (6): 315–316.

Boye, J., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E. & Rajamohamed S.H. (2010). *Food Res. Inter.*, 43 p: 537-546

Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *J. Analytical Biochemistry*. Vol 72, (2) .P: 248-254

Brink, M., Ramolemana, G. M. & Sibuga, K. P. (2006). *Vigna subterranea* (L.) Verdc.. Record from Protabase. Brink, M. & Belay, G. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands.

-C-

Chaira, N., Ferchichi, A., Mrabet, A. & Sghairoun, M. (2007). Chemical composition of the flesh and the pit of date palm fruit and radical scavenging activity of their extracts. *Pakistan J. Biol. Sci* (10): 2202–2207.

Costa, N. L., Magalhaes, J. A., Pereira, R. G. A. & Townsend, C. R. (2006). Effect of stocking rate on the productive performance of Morada Nova ewes grazing *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick., *REDVET*, 7 (8).

- D-

Dammak, I., Ben Abdallah, F., Boudaya, S., Besbes, S., Keskes, L., EL Gaied, A., Turki H., Attia, H. & Hentati, B. (2007). Date seed oil limit oxidative injuries induced by hydrogen peroxide in human skin organ., *Bio Factors* (29): 137-145.

Darleen, A., Demason, R., Sexton, M., Gor, M. A. N. & Reid, J. S. G. (1985). Structure and Biochemistry of Endosperm Breakdown in Date palm (*Phoenix dactylifera* L) Seeds., *Protoplasma* (126): 159-167.

Devshony, S., Eteshola, A. & Shani, A. (1992). Characteristics and some potential application of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seeds and seed oil., *J. Am. Oil Chem. Soc* (69): 595–597.

Djerbi, M. (1994). Précis de phoeniciculture. FAO, 192 p.

Djouab, A. (2007) .Préparation et incorporation dans la margarine d'un extrait de dattes des variétés sèches, Mémoire de Magister en Génie Alimentaire, Université M'Hamed Bougara Boumerdès, pp : 43-132.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem* (28) : 350–360.

-E-

El Nemr, A., Khaled, A., Abdelwahab, O. & El-Sikaily, A. (2007). Treatment of wastewater containing toxic chromium using new activated carbon developed from date palm seed., *J. Hazard. Mater. Doi* : 10.1016.

El-Shazly, K., Ibrahim, E. A., & Karam, H. A. (2009). Nutritional Value of Date Seeds for sheep. *J Anim Sci* 1963.22 p: 894-897.

Espiard, E. (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Techniqueset et Docu;entqtion Lqvoisier, Paris. pp : 147-155.

Estanove, P. (1990). Note technique : Valorisation de la datte. In Options méditerranéennes, série A, N°11. Systèmes agricoles oasiens. Ed. CIHEAM. pp : 301-318. FAO, 2003. Agro-statistics. Database. Rome.

-F-

Favier, J. C., Ireland-Ripert, J. & Feinberg, M. (1993). Répertoire général des aliments Tome 4. Table de composition des fruits exotiques: fruits tropicaux et fruits d'Afrique.

-G-

Garcia S, et al. (2002) A copper-responsive transcription factor, CRF1, mediates copper and cadmium resistance in *Yarrowia lipolytica*., *J Biol Chem* 277(40):37359-68.

Garry, P. (1999). les bactéries lactique., *Bisonull. Liaison CTSCCV* 9 (6): 423-430.

Geis, A., Kiefer, B. & Teuber, M. (1986). Proteolytic activities of lactic streptococci isolated from dairy starter cultures., *Chemie, Mikrobiologie Technologie der Lebensmittel* 10(3): 93-95.

Gilbert, D. & Pierre, M. (1988). Les enzymes, production et utilisation industrielles. Ed. Gauthier Villars, France, pp : 107.

Girgis, B. S. & El-Hendawy, A. A. (2002). Porosity development in activated carbons obtained from date pits under chemical activation with phosphoric acid., *Micropor. Mesopor. Mat* (52): 105–117.

Gualtieri M. & Rapaccini S.(1994). Date stones in broiler's feeding. In : Technologie de la datte. E.GRIDAO.Monpellier. 35 p.

Guiraud, J.P. (2003). Microbiologie alimentaire. Edition DUNOD Paris France. PP 431-652.

-H-

Haimour, N. M. & Emeish, S. (2006). Utilization of date stones for production of activated carbon uinh phosphoric acid., *Waste Management* (26): 651-660.

Hamada, J. S., Hashim, I. B. & Sharif, F. A. (2002), Analyse préliminaire analysis and potential uses of date pits de date en nourriture., *Nourriture Chem* (76) :135-7.

Hanachi, S., Khitri, D., Benkhalifa A. et Brac de Perrière, R.A. (1998). Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. 225 p.

Hussein, A. S. & Alhadrami, G. A. (2003). Effet of Enzyme Supplementation and diets containing Date pits on Growth and feed Utilization of Broiler Chicks., *Agricultira and Marine Science* 8(2): 67-71.

-I-

Ibrahim, A.M., H.M. Bishai & M.T. Khalil. (1999). Freshwater molluscs of Egypt. Egyptian Environmental Affairs Agency, National Biodiversity Unit (10): 145 pp.

-J-

Jaccot, B.et Campillo, B. (2003). Nutrition humaine. Ed. Masson, Paris. p 311

Jassim, S. A. A. & Naji, M. A. (2010). In vitro evaluation of the antiviral activity of an extract of date palm (*Phoenix dactylifera* L) pits on a pseudomonas phage., *Evid-Based Compl. Alt. Med* (7): 57–61.

-K-

Kishore, G.K., Pande, S., & Podile, A.R. (2005) Biological control of late leaf spot of Peanut (*Arachis hypogaea*) with chitinolytic bacteria. *Phytopathology* 95: 1157–65.

Kandler, O. & Weiss, N. (1986). Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, . Edited by P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe & J. G. Holt. Baltimore: Williams & Wilkins vol. 2, pp. 1209–1234

Khalifa, A. (1980). Effect of source of pollen on the physical and chemical quality of (Amhat) dat variety. *Date palm journal*, Vol. 2 (2). P (88-92).

Khanavia, M., Hajimahmoodi, M. Jahangiri, M., Reza Shams Ardekani, & M. Hadjiakhoondi, A. (2010). Comparison of antioxidant and Total Phenol Content of some Date Seed Varieties from Iran. *Iranian Journal Pharmaceutical Research*. 9(2).

-M-

Maatallah, A. (1970). Contribution à la Valorisation de la Datte Algérienne', Thèse Ing. INA, El Harrach, 103 p.

Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E. & Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the algerainripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*. 89. 411-420.

Martín-Cabrejas, M. A., Aguilera, Y., Benítez, V., Mollá, E., López-Andréu, F. J. & Esteban, R. M. (2006). Effect of industrial dehydration on the soluble carbohydrates and dietary fibre fractions in legumes., *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (54):7652–7657.

Masmoudi, N. (2000). Essai de production de biomasse "*Saccharomyces cerevisiae*" à partir des dattes "Ghars". Mémoire d'Ingénieur. Département d'agronomie. Batna, pp : 52.

Messaid, H. & Benazzou, A. (2008). Optimisation du processus d'immersion -réhydratation du système datte sèche -jus d'orange. Mémoire de magister. En technologie alimentaire Université M'hamed Bougara-Boumerdes.

Mossa, J. S., Hifnawy, M. S. & Mekkawi, A. G. (1986). Phytochemical and biological investigations on date seeds (*Phoenix dactylifera* L.) produced in Saudi Arabia., *Arab Gulf J. Sci. Res* (4): 495–507.

Munier, P. (1973). Le palmier dattier, techniques agricoles et productions tropicales .Ed maison neuve et larosse, paris, pp : 221.

-N-

Noui, Y. (2007). Caractérisation physico-chimique comparative des deux principaux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Mémoire de Magister. Option : Technologie Alimentaire, Université de Boumerdes, pp: 60.

-O-

Osman, M. F Ben zayed, A. A. & Alhadrami, G. A. (1999). Sulfuric acid treated date pits as diatary ingredients in tilapia oreochromis niloticus diets., *Bioresource Tzchnology* 620-627.

Ould el hadj, M. D., Hadj-Mahammed, M. & Zabeirou, H. (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla. *Courrier du Savoir – N°03.*, pp: 47-51.

Ould El Hadj, M. D., Sebihi, A. H. & Siboukeur, O. (2001). Qualité Hygiénique et Caractéristique Physico-Chimique du Vinaigre Traditionnel de Quelques Variétés de Dattes de la Cuvette de Ouargla., *Energ. Ren : Production et Valorisation-Biomasse* 87-92.

-R-

Rahman, M. S. & Al-Kharusi, N. (2004). Date coffee. Potential of date pits: functionality and health benefits., *Horizon* (35): 5-77.

Rahman, M. S., Kasapis, S., Al-Kharusi, N. S. Z., Al-Marhubi, I. M. & Khan, A. J. (2007). Composition characterization and thermal transition of date pits powders., *J. Food Eng* (80): 1–10.

Reynes, M., Bouabidi, H., Piombo, G. & Rirterrucci, A. M. (1994). Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région du Djerid en Tunisie., *Fruits* (49): 189-198.

-S-

Sabah, A. A. Jassim, A. Naja, A. (2007). In vitro Evaluation of the Activity of an Extract of Date Palm (Phoenix dactylifera, L.) Pits on a Pseudomons Phage, *ECAM*, p: 1-6.

Sawaya, W. N., Khalil, J. K. & Safi, W. J. (1984). Chemical composition and nutritional quality of date seeds., *J. Food Sci* (49): 617–619.

Sedra My, H., Lashermes, P., Trouslot, P., Combes, M. C. & Hamon, S. (2003). Identification and genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties from Morocco using RAPD markers., *Euphytica* (103): 75-82.

Siboukeur, O. (1997). Qualité nutritionnelle hygiénique et organoleptique du jus de datte. Mémoire de magister Université INA EL Harach – Algérie, pp: 106.

-T-

Touzi, A. (2005). Essai de la croissance de la levure *Saccharomyces cerevisiae* avec substitution de la source d'azote produit en Algérie. Mémoire d'ingénieur I.N.A.T.A. Constantine, pp: 90.

-w-

Wang, N. & Daun, J. K. (2006). Effects of variety and crude protein content on nutrients and anti-nutrients in lentils (*Lens culinaris*)., *Food Chem* 95 (3): 493–502

-Y-

Yahiaoui, K. (1998). Caractérisation physico-chimique et évolution du brunissement de la datte D-N au cours de la maturation. Mémoire de Magister. I.N.A. El-Harrach. Alger.66p.

Youssef, M. k. H. El-Geddawy, M. N. El-Rify+ & Ramadan, B. R. (1992). Study of amino acid, organic acid and free sugar composition of new valley dates and certain date products. *Acta Alimentaria*, 21 (3) : 325-335.

Youssif, O. M., Osman, M. F., Alhadrami, G. A. (1996). Evaluation of dates and date pits as dietary ingredients in tilapia (*Oreochromis aureus*) diets differing in protein sources., *Biores. Technol* (57): 81–85.

ANNEXE

Annexe 01:

Coloration de Gram:

- 1- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre
- 2- Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène
- 3- Couvrir le frottis par du cristal violet pendant 60 secondes
- 4- Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée
- 5- Couvrir de lugol pendant 60 secondes
- 6- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
- 7- Rincer immédiatement le frottis avec alcool pendant 30 secondes
- 8- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
- 9- Couvrir avec de la fuschine pendant 60 secondes
- 10- Laver à l'eau distillée pendant 10 secondes
- 11- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à un fort grossissement.

Les cellules Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres

Annexe 02:

La courbe d'étalonnage de glucose:

Mode opératoire : Cette méthode consiste à préparer, une gamme étalon à partir d'une solution de glucose à **0,01%**.

Les données sont résumées dans le **Tableau 1**

Volume de glucose à 0,01 % (ml)	0	0.4	0.8	1.2	1.6	2
Eau distillée (ml)	2	1.6	1.2	0.8	0.4	0
Concentration en (µg)	0	40	80	120	160	200
Densité optique	0	0,08	0,14	0,2	0,26	0,38

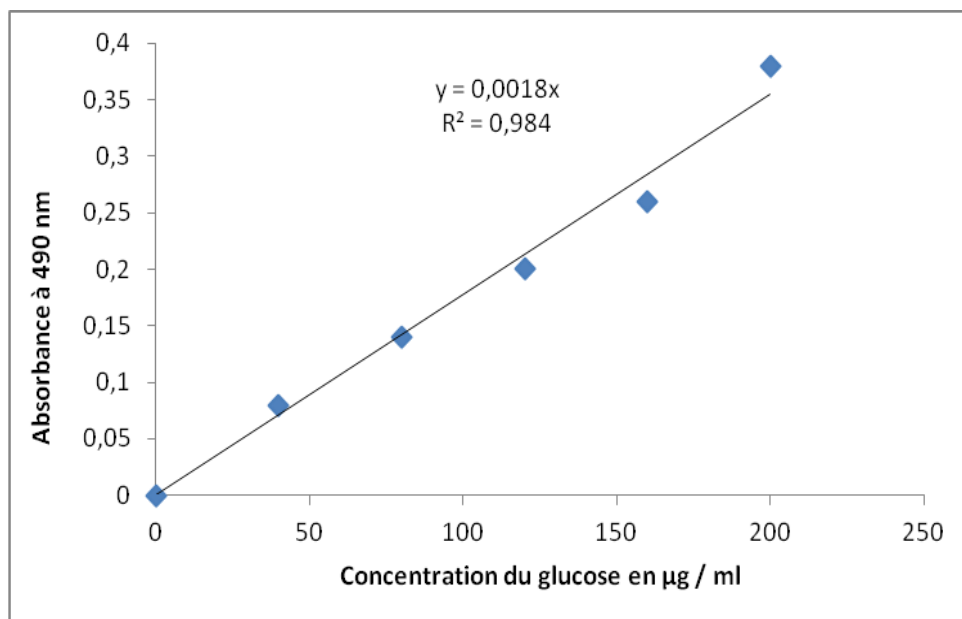


Fig. a. La courbe d'étalonnage de glucose.

Annexe 03:

La courbe d'étalonnage des protéines.

Réactif de Bradford

Bleu de comassie G250.....100 mg

Acide ortho phosphorique.....100 ml

Ethanol à 9550 ml

Cette solution est dissoute dans 1L distillée, ensuite filtrée dans un flacon sombre. Ce réactif peut être conservé pendant 1mois à + 4 °C à l'abri de la lumière.

La courbe étalonnage peut être élaborée par la préparation d'une solution mère de BSA à mg / ml, à partir de cette solution on prépare des dilutions de concentrations croissante (20, 40, 60, 80, 100,120, 140, 160, 180, 200µg / ml) représentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau : préparation de la courbe d'étalonnage de BSA

N° de tube	1	2	3	4	5	6	7
V.BSA (µl)	0	10	20	30	40	50	60
V. Eau distillée	100	90	80	70	60	50	40
Concentration BSA (mg/ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2
V.BSA(DO)(µl)	20	20	20	20	20	20	20
V. Réactif de Bradford (ml)	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Densité optique du BSA	0	0,06	0,141	0,194	0,265	0,329	0,338

Tracer la courbe d'étalonnage de la DO en fonction de la concentration en BSA (mg/ml).

Dans le cas de l'échantillon, on prélève toujours 20 µl

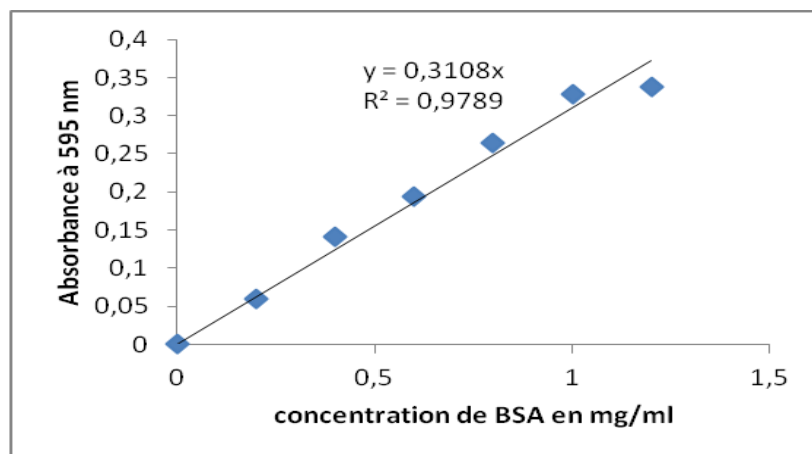


Fig. b. La courbe d'étalonnage des protéines.

Annexe 04:

Résultats statistique:

		Test t pour des Echantillons Indépendants (B12)										
		Note : Variables traitées comme des échantillons indépendants										
Groupe1 vs. Groupe2		Moyenne	Moyenne	valeur t	dl	p	N Actifs	N Actifs	Ec-Type	Ec-Type	Ratio F	p
		Groupe 1	Groupe 2				Groupe 1	Groupe 2	Groupe 1	Groupe 2	Variances	Variances
MRS vs.	PD	12,05833	11,14833	0,664989	34	0,510544	18	18	4,867100	3,165260	2,3644	0,084956
MRS vs.	ND	12,05833	7,20889	4,211570	34	0,000176	18	18	4,867100	0,420390	134,0402	0,000000
MRS vs.	NL	12,05833	8,63056	2,899036	34	0,006512	18	18	4,867100	1,214895	16,0496	0,000001

		Test t pour des Echantillons Indépendants (STAT FINAL 443)										
		Note : Variables traitées comme des échantillons indépendants										
Groupe1 vs. Groupe2		Moyenne	Moyenne	valeur t	dl	p	N Actifs	N Actifs	Ec-Type	Ec-Type	Ratio F	p
		Groupe 1	Groupe 2				Groupe 1	Groupe 2	Groupe 1	Groupe 2	Variances	Variances
MRS vs.	NL	10,76056	8,073889	3,934259	34	0,000391	18	18	2,257014	1,816587	1,543675	0,379607
MRS vs.	ND	10,76056	7,770000	4,979085	34	0,000018	18	18	2,257014	1,182947	3,640303	0,011008
MRS vs.	PD	10,76056	9,704444	1,472877	34	0,149982	18	18	2,257014	2,039732	1,224396	0,681129

		Test t pour des Echantillons Indépendants (STAT FINAL Plantarum)										
		Note : Variables traitées comme des échantillons indépendants										
Groupe1 vs. Groupe2		Moyenne	Moyenne	valeur t	dl	p	N Actifs	N Actifs	Ec-Type	Ec-Type	Ratio F	p
		Groupe 1	Groupe 2				Groupe 1	Groupe 2	Groupe 1	Groupe 2	Variances	Variances
MRS vs.	NL	9,616111	7,168333	4,150267	34	0,000210	18	18	2,392344	0,733479	10,63829	0,000012
MRS vs.	ND	9,616111	5,952778	5,939581	34	0,000001	18	18	2,392344	1,060143	5,09235	0,001635
MRS vs.	PD	9,616111	8,132222	1,999167	34	0,053634	18	18	2,392344	2,047833	1,36477	0,528363

Données : STAT FINAL Acidophiles12												
		Test t pour des Echantillons Indépendants (Feuille de données7)										
		Note : Variables traitées comme des échantillons indépendants										
Groupe1 vs. Groupe2		Moyenne	Moyenne	valeur t	dl	p	N Actifs	N Actifs	Ec-Type	Ec-Type	Ratio F	p
		Groupe 1	Groupe 2				Groupe 1	Groupe 2	Groupe 1	Groupe 2	Variances	Variances
MRS vs.	NL	9,502778	7,520000	3,425428	34	0,001620	18	18	2,255030	0,972553	5,37624	0,001175
MRS vs.	ND	9,502778	7,016111	4,483846	34	0,000079	18	18	2,255030	0,671540	11,27615	0,000008
MRS vs.	PD	9,502778	8,507778	1,659436	34	0,106226	18	18	2,255030	1,177383	3,66834	0,010569